

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



BÙI THANH THỦY

**ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CỦA PHƯƠNG
PHÁP GHÉP TỰ THÂN MẢNH XƯƠNG
SỌ BẢO QUẢN LẠNH SÂU TRÊN THỰC
NGHIỆM VÀ Ở NGƯỜI**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2015

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

BÙI THANH THỦY

**ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CỦA PHƯƠNG
PHÁP GHÉP TỰ THÂN MẢNH XƯƠNG
SỌ BẢO QUẢN LẠNH SÂU TRÊN THỰC
NGHIỆM VÀ Ở NGƯỜI**

Chuyên ngành: Mô phôi thai học

Mã số: 62720103

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS Nguyễn Khang Sơn

2. PGS.TS Nguyễn Thế Hào

HÀ NỘI - 2015

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Bùi Thanh Thủy, nghiên cứu sinh khóa 30 Trường Đại học Y Hà Nội, chuyên ngành Mô phôi thai học, xin cam đoan:

1. Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của Thầy Nguyễn Khang Sơn và Thầy Nguyễn Thế Hòa.
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.
3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về những cam kết này.

Hà Nội, ngày 30 tháng 12 năm 2014

Người viết cam đoan

Bùi Thanh Thủy

LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên cho phép tôi xin bày tỏ lòng tri ân sâu sắc tới PGS.TS Nguyễn Khang Sơn, người hướng dẫn khoa học, người thầy đã tận tình truyền đạt những kiến thức, kinh nghiệm quý báu và tạo mọi thuận lợi trong suốt quá trình học tập để tôi hoàn thành được luận án này.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến PGS.TS Nguyễn Thế Hào, người thầy đã luôn chỉ bảo, động viên, hết lòng giúp đỡ cho tôi trong quá trình thực hiện đề tài và hoàn thành luận án ngày hôm nay.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới GS.TS Trịnh Bình, PGS.TS. Nguyễn Thị Bình, những người thầy đầu tiên truyền cho tôi lòng yêu nghề, những kinh nghiệm quý báu trong học tập và nghiên cứu khoa học để tôi có được thành công ngày hôm nay.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành đến TS.Nguyễn Mạnh Hà, Trưởng Bộ môn Mô – Phôi thai học, Trường Đại học Y Hà Nội, người đã luôn tạo mọi điều kiện, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến PGS.TS Ngô Duy Thìn, xin chân thành cảm ơn các anh chị em giảng viên, kỹ thuật viên và y công Bộ môn Mô – Phôi thai học, Trường Đại học Y Hà Nội; các cán bộ viên chức khoa Hình thái, Bộ tư lệnh bảo vệ Lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh, những người đã tạo điều kiện, giúp đỡ, chia sẻ những kinh nghiệm quý báu để tôi thực hiện thực nghiệm và các kỹ thuật nghiên cứu để hoàn thành đề tài này.

Tôi xin chân thành cảm ơn các bác sĩ, y tá phòng khám Ngoại thần kinh, khoa Ngoại thần kinh, Bệnh viện Việt Đức Hà Nội đã nhiệt tình giúp đỡ, tạo thuận lợi để tôi thu thập số liệu bệnh nhân và hoàn thành đề tài.

Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành đến:

Ban Giám hiệu, Phòng Đào tạo Sau Đại học, Trường Đại học Y Hà Nội.

Ban Giám hiệu, các Phòng chức năng, Ban chủ nhiệm khoa Y học cơ sở và Bộ môn Mô – Phôi thai học, Trường Đại học Y Dược, Đại học Thái Nguyên đã luôn động viên, tạo điều kiện cho tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Xin được gửi lời cảm ơn đến các gia đình và bệnh nhân đã giúp đỡ tôi có được số liệu trong luận án này. Xin cảm ơn bạn bè, đồng nghiệp đã động viên, ủng hộ tôi rất nhiều trong quá trình học tập.

Cuối cùng, tôi xin ghi nhớ công ơn sinh thành, nuôi dưỡng và tình yêu thương của cha mẹ, cha mẹ chồng cùng sự ủng hộ, giúp đỡ, động viên của chồng, hai con và các anh chị em trong gia đình, những người đã luôn ở bên tôi, là chỗ dựa vững chắc để tôi yên tâm học tập và hoàn thành luận án.

Hà Nội, tháng năm 2015

NCS. Bùi Thanh Thủy

MỤC LỤC

| | |
|--|----|
| ĐẶT VẤN ĐỀ | 1 |
| Chương 1. TỔNG QUAN | 3 |
| 1.1. Đặc điểm giải phẫu, mô học xương vòm sọ | 3 |
| 1.1.1. Đặc điểm giải phẫu | 3 |
| 1.1.2. Cấu tạo mô học xương sọ | 3 |
| 1.2. Tái tạo sinh lý của xương vòm sọ | 6 |
| 1.2.1. Sự cốt hoá xương vòm sọ ở thời kỳ phôi thai | 7 |
| 1.2.2. Quá trình tái tạo sinh lý xương | 8 |
| 1.2.3. Quá trình liền xương gãy | 13 |
| 1.3. Lịch sử phát triển ghép xương sọ tự thân | 15 |
| 1.4. Vật liệu và phương pháp bảo quản để ghép xương sọ tự thân | 18 |
| 1.4.1. Vật liệu ghép xương sọ tự thân | 18 |
| 1.4.2. Phương pháp bảo quản mảnh xương sọ để ghép tự thân | 21 |
| 1.4.3. Phương pháp bảo quản lạnh sâu mảnh xương sọ có chiếu tia gamma | 23 |
| 1.5. Quá trình liền xương sau ghép mảnh xương sọ tự thân trên thế giới và ở Việt Nam | 28 |
| 1.5.1. Quá trình tái tạo hồi phục sau ghép xương tự thân | 28 |
| 1.5.2. Tình hình nghiên cứu sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu trên thế giới và ở Việt Nam | 31 |
| Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU | 36 |
| 2.1. Đối tượng nghiên cứu | 36 |
| 2.2. Vật liệu – phương tiện | 38 |
| 2.3. Phương pháp nghiên cứu | 38 |
| 2.3.1. Thực nghiệm ghép tự thân mảnh xương sọ thử bảo quản lạnh sâu | 38 |

| | |
|--|-----------|
| 2.3.2. Nghiên cứu hình thái các mảnh xương sọ người bảo quản lạnh sâu theo thời gian | 44 |
| 2.3.3. Nghiên cứu kết quả sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu trên người | 45 |
| 2.4. Địa điểm nghiên cứu | 49 |
| 2.5. Thời gian nghiên cứu | 50 |
| 2.6. Phương pháp xử lý số liệu | 50 |
| 2.7. Đạo đức trong nghiên cứu | 50 |
| Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU | 53 |
| 3.1. Kết quả nghiên cứu trên thực nghiệm | 53 |
| 3.1.1. Biểu hiện toàn thân của thỏ | 53 |
| 3.1.2. Đặc điểm đại thể và vi thể xương sọ thỏ ở các nhóm nghiên cứu | 53 |
| 3.1.3. Đặc điểm mảnh xương sọ thỏ dưới kính hiển vi điện tử quét | 62 |
| 3.2. Sự thay đổi cấu trúc hình thái của các mảnh xương sọ người bảo quản lạnh sâu theo thời gian | 71 |
| 3.2.1. Đặc điểm đại thể các mảnh xương sọ người theo thời gian bảo quản lạnh sâu. | 71 |
| 3.2.2. Đặc điểm vi thể các mảnh xương sọ người theo thời gian bảo quản lạnh sâu. | 72 |
| 3.3. Kết quả nghiên cứu trên người | 78 |
| 3.3.1. Một số đặc điểm của các bệnh nhân nghiên cứu | 78 |
| 3.3.2. Một số đặc điểm của các mảnh xương bảo quản lạnh sâu | 79 |
| 3.3.3. Thời gian và số lần theo dõi sau ghép tự thân các mảnh xương sọ người theo thời gian bảo quản lạnh sâu. | 81 |
| 3.3.4. Kết quả sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu. | 82 |
| Chương 4. BÀN LUẬN | 87 |
| 4.1. Kết quả thực nghiệm ghép xương sọ bảo quản lạnh sâu | 87 |

| | |
|--|-----|
| 4.1.1. Biểu hiện toàn thân và tại chỗ vết mổ ở các thời điểm theo dõi | 87 |
| 4.1.2. Sự thay đổi cấu trúc hình thái sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu chiếu tia gamma | 88 |
| 4.2. Đặc điểm cấu trúc hình thái các mảnh xương sọ người sau bảo quản lạnh sâu theo thời gian | 97 |
| 4.3. Bàn về kết quả sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu trên người. | 102 |
| 4.3.1. Về một số đặc điểm của bệnh nhân nghiên cứu | 102 |
| 4.3.2. Về một số đặc điểm của các mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu | 103 |
| 4.3.3. Về thời gian và số lần đến khám theo dõi sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu chiếu tia gamma | 105 |
| 4.3.4. Về kết quả sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu chiếu tia gamma. | 106 |
| 4.4. Những đóng góp mới của đề tài | 110 |
| KẾT LUẬN | 112 |
| KHUYẾN NGHỊ | 113 |
| HƯỚNG NGHIÊN CỨU TIẾP THEO | 113 |
| TÀI LIỆU THAM KHẢO | |
| DANH SÁCH BỆNH NHÂN | |
| PHỤ LỤC | |

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

- AATB: American Association of Tissue Banks/ Hiệp hội ngân hàng mô Hoa Kỳ
- APASTB: Asia Pacific Association of Surgical Tissue Banking/Hiệp hội ngân hàng mô ngoại khoa châu Á Thái Bình Dương
- ARCTS: American Red Cross Tissue Services/Tổ chức cung cấp dịch vụ về mô thuộc Hội chữ thập đỏ Hoa Kỳ
- BMP: Bone Morphogenetic Protein/Protein hình thái xương
- BQLS: Bảo quản lạnh sâu
- EATB: European Association of Tissue Banks/ Hiệp hội ngân hàng mô châu Âu
- FDGF: Platelet – Derived Growth Factor
- FGFs: Fibroblast Growth Factors
- GH: Growth hormone
- HVĐTQ: Kính hiển vi điện tử quét
- IGFs: Insulin – Like Growth Factor
- IL: Interleukin
- PTH: Parathyroid Hormone
- TGF – β : Transforming Growth factor – β
- TNF α : Tumor necrosis factors
- SEM: Scanning electron microscope

DANH MỤC HÌNH

| | | |
|------------|--|----|
| Hình 1.1. | Các loại tế bào xương | 4 |
| Hình 1.2. | Quá trình tạo xương ở thời kỳ phôi thai | 8 |
| Hình 2.1. | Vùng xương sọ sau khi khoan lỗ | 40 |
| Hình 2.2. | Ổ khuyết và mảnh xương sau khi tách khỏi hộp sọ thỏ | 41 |
| Hình 2.3. | Mảnh xương sọ thỏ được đặt vào ổ khuyết khi ghép tự thân và sau đóng da đầu. | 42 |
| Hình 2.4. | Sơ đồ mô hình nghiên cứu | 51 |
| Hình 2.5. | Sơ đồ quy trình xử lý, bảo quản lạnh sâu xương sọ | 52 |
| Hình 3.1. | Tình trạng thỏ sau lấy mảnh xương sọ thỏ bảo quản và ghép tự thân | 53 |
| Hình 3.2. | Cấu trúc vi thể bản xương sọ thỏ lô bình thường | 54 |
| Hình 3.3. | Cấu trúc vi thể bản xương sọ thỏ lô đối chứng | 55 |
| Hình 3.4. | Đại thể xương sọ thỏ lô thực nghiệm nhóm TN1 | 56 |
| Hình 3.5. | Vi thể xương sọ thỏ lô thực nghiệm nhóm TN1 | 57 |
| Hình 3.6. | Vi thể xương sọ thỏ lô thực nghiệm nhóm TN2 (H.E x250) | 58 |
| Hình 3.7. | Vi thể xương sọ thỏ lô thực nghiệm nhóm TN2 (H.E x500) | 59 |
| Hình 3.8. | Vi thể xương sọ thỏ lô thực nghiệm nhóm TN2 (H.E x500) | 59 |
| Hình 3.9. | Đại thể xương sọ thỏ ở lô thực nghiệm nhóm TN3 | 60 |
| Hình 3.10. | Vi thể xương sọ thỏ ở lô thực nghiệm nhóm TN3 | 61 |
| Hình 3.11. | Xương sọ thỏ lô bình thường dưới kính HVĐTQ (x150) | 62 |
| Hình 3.12. | Xương sọ thỏ lô bình thường dưới kính HVĐTQ (x500) | 63 |
| Hình 3.13. | Chất nền xương sọ thỏ dưới kính HVĐTQ | 64 |
| Hình 3.14. | Xương sọ thỏ ở lô thực nghiệm nhóm TN1 (HVĐTQ, x15) | 65 |
| Hình 3.15. | Xương sọ thỏ lô thực nghiệm nhóm TN1 dưới kính HVĐTQ | 66 |
| Hình 3.16. | Vùng ghép xương sọ thỏ ở lô thực nghiệm nhóm TN1 | |

| | |
|--|-----|
| (HVĐTQ, x15) | 67 |
| Hình 3.17. Hình ảnh vùng xương sọ thỏ bị phá hủy ở lô thực nghiệm | 68 |
| Hình 3.18. Các hạt tinh thể khoáng mới hình thành ở vùng cầu xương lô thực nghiệm nhóm TN2 dưới kính HVĐTQ | 69 |
| Hình 3.19. Vùng ghép xương sọ thỏ ở lô thực nghiệm nhóm TN3 dưới kính HVĐTQ | 70 |
| Hình 3.20. Vùng cầu xương sọ thỏ ở lô thực nghiệm nhóm TN3 | 70 |
| Hình 3.21. Vùng mảnh xương ghép bị phá hủy ở lô thực nghiệm nhóm TN3 dưới kính HVĐTQ | 71 |
| Hình 3.22. Mảnh xương sọ người được BQLS nhóm N2 | 72 |
| Hình 3.23. Mảnh xương sọ người được BQLS nhóm N3 | 72 |
| Hình 3.24. Cấu trúc vi thể xương sọ người nhóm N1 (H.E x100) | 73 |
| Hình 3.25. Cấu trúc vi thể xương sọ người nhóm N1 (H.E x250) | 74 |
| Hình 3.26. Xương sọ người BQLS nhóm N2 (H.E x100) | 75 |
| Hình 3.27. Xương sọ người BQLS nhóm N2 (H.E x250) | 75 |
| Hình 3.28. Xương sọ người BQLS nhóm N2 (H.E x500) | 76 |
| Hình 3.29. Xương sọ người BQLS nhóm N2 (H.E x100) | 77 |
| Hình 3.30. Xương sọ người BQLS nhóm N3 (H.E x500) | 77 |
| Hình 3.31. Mảnh xương ghép tự thân ở vùng thái dương – đỉnh của bệnh nhân | 84 |
| Hình 3.32. Ổ khuyết và mảnh xương sọ ghép tự thân sau 12 tháng ở vùng trán bệnh nhân | 84 |
| Hình 4.1. Vi thể xương vòm sọ chó trước và sau chiếu tia gamma | 99 |
| Hình 4.2. Sợi collagen xương sọ chó trước và sau chiếu tia gamma | 100 |

DANH MỤC BẢNG

| | | |
|------------|--|----|
| Bảng 2.1: | Các mức độ đánh giá sự vững chắc của mảnh xương sau ghép | 48 |
| Bảng 2.2: | Các mức độ đánh giá thẩm mỹ sau ghép | 49 |
| Bảng 3.1: | Phân bố tuổi của bệnh nhân nghiên cứu | 78 |
| Bảng 3.2: | Giới tính của bệnh nhân nghiên cứu | 78 |
| Bảng 3.3: | Thời gian từ khi bảo quản đến khi ghép lại xương | 79 |
| Bảng 3.4: | Kích thước mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu | 79 |
| Bảng 3.5: | Tình trạng mảnh xương sọ sau bảo quản lạnh sâu | 80 |
| Bảng 3.6: | Vị trí ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu | 80 |
| Bảng 3.7: | Thời gian theo dõi sau ghép | 81 |
| Bảng 3.8: | Số lần đến khám theo dõi của bệnh nhân sau ghép tự thân | 81 |
| Bảng 3.9: | Biểu hiện thần kinh trước và sau ghép tự thân | 82 |
| Bảng 3.10: | Tình trạng vùng ghép | 82 |
| Bảng 3.11: | Đặc điểm mảnh xương ghép trên phim X quang sọ | 83 |
| Bảng 3.12: | Kết quả sự vững chắc của mảnh xương ghép với xương chủ | 85 |
| Bảng 3.13: | Kết quả thẩm mỹ sau ghép tự thân mảnh xương sọ | 85 |
| Bảng 3.14: | Kết quả sự hài lòng của bệnh nhân | 86 |

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ghép xương ngày càng phổ biến trên thế giới, tại Mỹ có hàng triệu đơn vị xương bảo quản theo qui trình của Hiệp hội ngân hàng mô Hoa Kỳ đã được phân phối để ghép cho các bệnh nhân [1],[2]. Ở Việt Nam, nhu cầu ghép xương ngày càng tăng ở các lĩnh vực phẫu thuật thần kinh, phẫu thuật tạo hình...[3],[4].

Hộp sọ có chức năng bảo vệ não và có vai trò quan trọng về thẩm mỹ. Khuyết sọ là mất sự toàn vẹn của hộp sọ, có thể do nhiều nguyên nhân, nhưng thường gặp sau phẫu thuật mở hộp sọ để can thiệp thương tổn bên trong do chấn thương hoặc các bệnh lý ngoại khoa của não. Tại vị trí khuyết vòm sọ, não chỉ được che phủ bởi da và một lớp mô mỏng dưới da, do đó ảnh hưởng khả năng bảo vệ não và gây đau đầu, suy nhược thần kinh... Khuyết sọ còn ảnh hưởng thẩm mỹ, làm bệnh nhân lo âu, mất tự tin trong cuộc sống, giảm khả năng lao động và hoà nhập xã hội. Phẫu thuật tái thiết khuyết sọ nhằm tái tạo sự toàn vẹn hộp sọ để bảo vệ não, dự phòng và điều trị hội chứng khuyết sọ, khôi phục thẩm mỹ, sự tự tin, hoà nhập cuộc sống của bệnh nhân [5]. Nhiều năm qua, ở Việt Nam, tỷ lệ nạn nhân chấn thương sọ não do tai nạn giao thông thường ở mức rất cao, trong đó rất nhiều trường hợp phẫu thuật mở hộp sọ là những người trẻ, đang ở độ tuổi lao động, do đó nhu cầu điều trị khuyết sọ ngày càng nhiều [6],[7],[8],[9].

Vật liệu và phương pháp phẫu thuật ảnh hưởng quan trọng đến thành công của việc tái thiết khuyết sọ. Nhiều loại vật liệu đã được nghiên cứu nhưng không có vật liệu nào là duy nhất tối ưu, việc tiếp tục nghiên cứu tìm ra các phương pháp hiệu quả về kinh tế và công nghệ để ghép xương sọ luôn là việc làm hết sức cần thiết. Cho đến nay, các nhà phẫu thuật thần kinh vẫn thường ưu tiên lựa chọn ghép tự thân mảnh xương sọ do vật liệu này có

những ưu điểm như: sẵn có, rẻ tiền, tránh được sự thải loại mảnh ghép và sự lây nhiễm các bệnh... [10],[11],[12],[13],[14],[15],[16].

Trong thời gian chờ được ghép lại, mảnh xương sọ phải được bảo quản tạm thời. Có nhiều phương pháp bảo quản như: vùi dưới da bụng, bảo quản đông khô..., nhưng các phương pháp này lại có những hạn chế như: dễ nhiễm trùng, tiêu xương, bệnh nhân phải chịu hai vết mổ hoặc kỹ thuật phức tạp, chỉ sử dụng được cho những khuyết tổn nhỏ. Phương pháp được sử dụng nhiều hiện nay là bảo quản lạnh sâu [17],[18],[19],[20],[21],[22],[23].

Trên thế giới và ở Việt Nam đã có những nghiên cứu đánh giá ghép tự thân xương sọ bảo quản lạnh sâu, nhưng vấn đề các nhà khoa học và lâm sàng quan tâm là số phận, diễn biến quá trình liền sau ghép mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu ở mức vi thể và siêu vi thể, thì đến nay vẫn chưa có câu trả lời đầy đủ, Việt Nam chưa có nghiên cứu nào về vấn đề này. Do đó nghiên cứu được thực hiện để góp phần cung cấp thêm những thông tin mới cho chuyên ngành mô học, cũng như giúp cho các nhà lâm sàng có thêm cơ sở thông tin khi lựa chọn vật liệu tái thiết hộp sọ nhằm nâng cao hiệu quả điều trị cho bệnh nhân là cần thiết. Tuy nhiên, việc nghiên cứu diễn biến mô học quá trình liền xương không thực hiện được trên người vì lý do đạo đức trong nghiên cứu y học nên phải tiến hành trên thực nghiệm. Vì vậy chúng tôi thực hiện đề tài gồm các mục tiêu sau:

- 1. Nghiên cứu quá trình liền xương sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu trên thử thực nghiệm.***
- 2. Nghiên cứu sự biến đổi cấu trúc hình thái của các mảnh xương sọ người được bảo quản lạnh sâu theo thời gian.***
- 3. Đánh giá hiệu quả ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu ở bệnh nhân chấn thương sọ não.***

Chương 1

TỔNG QUAN

1.1. Đặc điểm giải phẫu, mô học xương vòm sọ

1.1.1. Đặc điểm giải phẫu

Mặt trên của hộp sọ là vòm sọ, gồm: xương trán, hai xương đỉnh, một phần xương thái dương và phần gian đỉnh xương chẩm. Xương trán nằm ở phía trước hộp sọ, thường được mở để giải áp hộp sọ và có tính thẩm mỹ cao nhất. Xương đỉnh gồm hai xương tạo nên phần trên vòm sọ, xương đỉnh được tóc che phủ nên khi xương bị khuyết thì ít ảnh hưởng đến thẩm mỹ nhưng ảnh hưởng nhiều đến chức năng của vỏ não. Xương thái dương cũng gồm hai xương của thành bên hộp sọ, phần hay được tạo hình của xương thái dương là phần trai. Xương chẩm nằm ở phía sau dưới hộp sọ, chỉ một phần nhỏ tham gia cấu tạo vòm sọ, đây là xương ít bị thương tổn, nếu có khuyết tổn cũng ít ảnh hưởng về mặt thẩm mỹ do có tóc che phủ, do đó nhu cầu tạo hình xương chẩm không nhiều như các vùng khác [24].

1.1.2. Cấu tạo mô học xương vòm sọ

Xương vòm sọ gồm: hai bản xương đặc thuộc loại xương cốt mạc được gọi là bản ngoài và bản trong, nằm ở mặt ngoài và mặt trong tấm xương sọ, giữa hai bản xương là lớp xương Havers xếp. Phía mặt ngoài của bản ngoài xương vòm sọ là màng liên kết, lót mặt trong bản trong là màng cứng [25]. Giống như mô xương nói chung, mô xương vòm sọ gồm có:

- *Chất nền xương sọ*: gồm có chất nền vô cơ và chất nền hữu cơ.

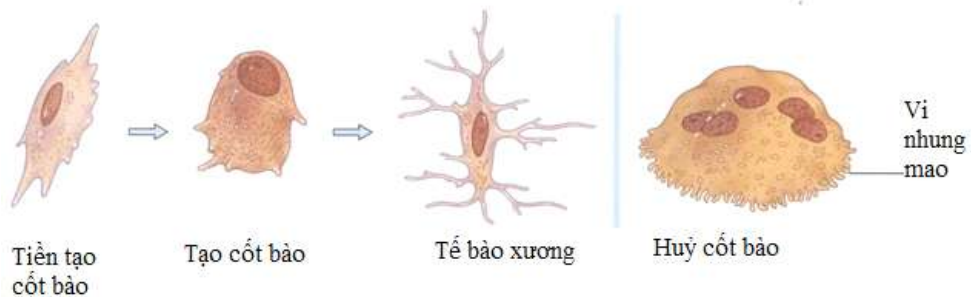
Chất nền vô cơ gồm các muối Ca^{+2} , K^{+} , Mg^{+2} ..., trong đó chủ yếu là muối calci dưới dạng tinh thể hydroxyapatit $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$, ngoài ra còn có muối natri dưới dạng phosphat, cacbonat hay citrat...[25],[26].

Chất nền hữu cơ gồm những phức hợp protein như glycoprotein là những glycosaminoglycan kết hợp với protein. Ngoài ra, còn có một số

protein liên kết với các phân tử carbohydrat và một số protein khác như: osteonectin có ảnh hưởng đến tăng trưởng tạo cốt bào; osteocalci là những phân tử protein đặc biệt không collagen được sản xuất từ tạo cốt bào giữ vai trò quan trọng trong quá trình calci hoá của xương và cố định các hydroxyapatit vào các sợi collagen, sự liên kết này làm cho xương trở nên cứng rắn [25],[26].

- *Sợi liên kết*: Sợi collagen chiếm tới 95% phân hữu cơ, vùi trong chất nền mô xương, chủ yếu là collagen type I, một lượng nhỏ typ III, IV và FACIT collagen (gồm: collagen typ IX, XII, XIV, XIX, XX và XI, thuộc gia đình Fibril –Associated Collagens with Interrupted Triple Helices - nhóm collagen đường kính nhỏ, có thể xác định ở các giai đoạn nhất định của sự hình thành xương), sợi liên kết là thành phần chính đảm bảo sức bền cơ học của xương [25],[26].

- *Các tế bào xương*: Có 4 loại



Hình 1.1. Các loại tế bào xương

[Nguồn từ John Wiley & Sons, Inc]

+ *Tiền tạo cốt bào (osteoprogenitor cells)*: Là những tế bào kém biệt hoá, thường xuất hiện trên mặt xương, lớp trong của màng xương. Bào tương tế bào nhạt màu, nhân hình trứng. Trong quá trình tạo xương, tiền tạo cốt bào gián phân và biệt hóa để trở thành tạo cốt bào [25],[26].

+ Tạo cốt bào (osteoblast): là những tế bào hình đa diện hoặc hình lăng trụ, có nhánh bào tương nối với nhau hoặc nối với tế bào sợi nằm trong tủy xương. Tạo cốt bào xuất hiện ở nơi cần tạo xương, thường chúng xếp thành một hàng trên mặt các bề xương đang hình thành tạo ra nền protein, tổng hợp collagen và gián tiếp tham gia làm lắng đọng các muối khoáng trên nền đó. Ngoài ra, tạo cốt bào sản xuất các yếu tố điều chỉnh tham gia quá trình tái tạo xương, đó là: dòng protein tạo hình xương (Bone Morphogenetic Protein - BMP), yếu tố tăng cường chuyển dạng β (Transforming Growth factor – β , TGF – β), yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi ưa kiềm (bFGF), yếu tố tăng trưởng nguồn gốc tiểu cầu (PDGF). Tạo cốt bào cũng có vai trò trong sự hủy xương [25],[26].

+ Tế bào xương (osteocyte): thân tế bào nằm trong ổ xương, các nhánh bào tương nằm trong vi quản xương nối với các nhánh bào tương của các tế bào bên cạnh. Tế bào xương giữ vai trò quan trọng trong sự trao đổi canxi giữa xương và dịch ngoại bào do tiết ra osteocalci. Các tế bào xương có nguồn gốc từ tạo cốt bào, không có khả năng sinh sản, chúng hoạt động như những bộ phận nhận cảm của xương để cảm nhận và khởi động quá trình tái tạo xương [25],[26].

+ Hủy cốt bào (osteoclast): là tế bào chính tham gia vào quá trình hủy xương, nguồn gốc từ tủy xương theo máu tới mô xương. Hủy cốt bào có kích thước lớn (80 μm), nhiều nhân (50 – 60 nhân), nhân hình cầu, bào tương có nhiều lysosom chứa enzym để tiêu hủy các sợi collagen của khuôn hữu cơ và tiết các acid làm hoà tan muối calci. Hủy cốt bào có các vết lõm siêu vi, các vi nhung mao ăn sâu vào chất căn bản để giúp tế bào gắn chặt vào bề mặt xương đã được canxi hoá và tạo ra các khoảng Howship do hoạt động hủy xương tạo thành [25],[26],[27],[28].

Ở những nơi cần phá huỷ xương, huỷ cốt bào xuất hiện để huỷ muối khoáng, tiêu huỷ nền protein chất căn bản, giải phóng các sản phẩm chuyển hoá và dịch ngoại bào xung quanh khu vực tiêu xương, vận chuyển vào hệ tuần hoàn. Hoạt động huỷ xương có thể được kích thích bởi các yếu tố như Parathyroid Hormone (PTH), interleukine – 1 (IL-1), yếu tố tăng trưởng α , 1,25 – dihydroxyvitamin D₃. Việc ức chế các huỷ cốt bào có thể do: calcitonin, gamma interferon, các yếu tố tăng trưởng chuyển dạng (osteoprotegerin). Sự biến mất của huỷ cốt bào khỏi vùng xương đang tái tạo là sự chết theo chương trình ở thời điểm kết thúc giai đoạn huỷ xương trong quá trình tái tạo và có sự thay đổi hình dạng như nhân bị cô đặc, bào tương mất các vi nhung mao và các vết lõm siêu vi, tế bào tách khỏi bề mặt xương đã được khoáng hoá [27],[28].

+ *Tủy xương*: là loại tủy đỏ nằm trong hốc tủy ở vùng xương xốp, nhiều mao mạch kiểu xoang, được cung cấp và dẫn lưu bởi một số lượng lớn động mạch, tĩnh mạch ở mặt trong và ngoài của xương sọ [25].

+ *Màng xương sọ*: là màng liên kết, có nhiều mao mạch máu. Màng xương cũng có khả năng sinh xương do có nhiều tiền tạo cốt bào, nhưng được ghi nhận là khả năng tạo xương yếu hơn so với ở xương dài [25],[26].

1.2. Tái tạo sinh lý của xương vòm sọ

Sự tạo xương (cốt hoá) diễn ra ở các thời kỳ: phôi thai, sau khi trẻ ra đời, trong quá trình sống của con người, ngay cả khi xương bị tổn thương.

Có hai kiểu cốt hoá là: cốt hoá trong màng (cốt hoá trực tiếp) và cốt hoá trên mô hình sụn (cốt hoá gián tiếp). Ở cả hai kiểu cốt hoá này đều xuất hiện xương lưới (xương nguyên phát) và sẽ được thay thế bởi xương lá (xương thứ phát) trong quá trình tạo xương. Ở xương lưới, các bó sợi collagen trong chất nền có kích thước không đều nhau, không sắp xếp theo hướng nhất định, thành phần muối khoáng thấp, tỷ lệ tế bào xương cao. Xương Havers đặc và

Havers xếp đều có cấu trúc lá xương, chất nền tạo các lá xương nằm sát nhau, trong mỗi lá xương, các sợi collagen xếp song song nhau nhưng khác hướng với các sợi collagen của lá xương bên cạnh [25],[26],[27].

1.2.1. Sự cốt hoá vòm sọ ở thời kỳ phôi thai

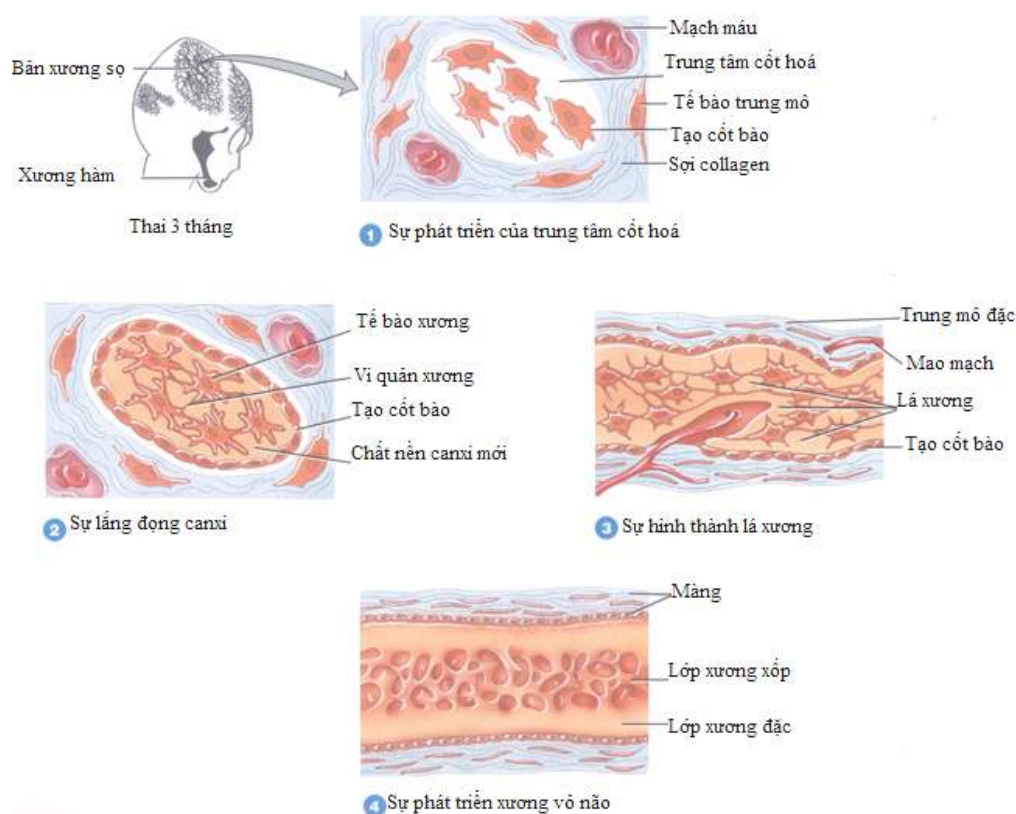
Trong thời kỳ phôi thai, xương vòm sọ được tạo thành từ mô liên kết nguyên thủy, theo cách cốt hoá trực tiếp, các hiện tượng xảy ra gồm:

- Xuất hiện các trung tâm cốt hoá và các lá xương đầu tiên: Các tế bào trung mô sinh sản, hình thành một số trung tâm cốt hoá. Ở mỗi trung tâm cốt hoá, các sợi collagen xuất hiện đẩy các tế bào trung mô xa nhau, các tế bào này biệt hoá thành tạo cốt bào. Chất căn bản đặc lại nhiễm osseomucoid cùng với các sợi collagen tạo thành mô dạng xương. Sau đó các sợi collagen trương lên, muối vôi và muối khoáng khác lắng đọng trên đó làm cho xương trở nên cứng. Các tạo cốt bào dần bị vùi trong chất căn bản nhiễm muối vôi biến thành tế bào xương, mô dạng xương trở thành mô xương. Từ trung tâm cốt hoá, những bè xương toả ra các phía theo hướng nan hoa, các bè xương mới nối với nhau làm cho màng liên kết của vòm sọ biến thành một màng xương. Khoảng cách giữa các bè xương lúc đầu rộng, nhiều mô liên kết và mạch máu, sau đó dần hẹp lại, lá xương đầu tiên được hình thành.

- Mô liên kết ở mặt ngoài của lá xương đầu tiên trở thành màng xương. Lớp trong của màng xương tiếp tục tạo các lá xương tiếp theo và chồng lên nhau. Mặt trong của lá xương trong cùng cũng có mô liên kết dính vào và trở thành màng cứng bọc ngoài bộ não.

- Việc đắp thêm các lá xương làm xương sọ dày lên. Xương vòm sọ dần phát triển theo chiều rộng bằng sự cốt hoá lan dần từ vùng trung tâm ra mọi phía. Khi trẻ được sinh ra, vòm sọ cấu tạo bởi mô xương đặc, sự cốt hoá lan tới vùng ranh giới giữa các xương. Sau khi trẻ ra đời, quá trình tạo xương tiếp tục lan rộng làm cho những màng liên kết giữa các trung tâm tạo xương

chưa bị cốt hoá (thóp) trở thành xương thật sự. Màng xương tiếp tục đắp các lá xương làm cho xương dày hơn. Khoảng cách giữa các tấm xương vòm sọ (lớp giữa của xương vòm sọ) bị phá huỷ tạo ra các hốc thông nối với nhau chứa tuỷ tạo huyết và ngăn cách nhau bằng những vách xương. Do có quá trình đắp thêm các lá xương từ màng xương, sự phá huỷ của lớp trong, nên hộp sọ được phát triển để chứa não bộ. Bình thường, hộp sọ tiếp tục phát triển cho đến khi trẻ 8 tuổi và tiếp tục dày lên cho đến khi 20 tuổi. Độ dày các vùng của xương vòm sọ có sự khác nhau, trung bình khoảng 5 milimet, ở vùng đỉnh dày nhất; bản trong xương mỏng hơn bản ngoài [25].



Hình 1.2. Quá trình tạo xương sọ ở thời kỳ phôi thai.

[Nguồn từ John Wiley & Sons, Inc]

1.2.2. Quá trình tái tạo sinh lý xương

Xương là tổ chức sống, thường xuyên có sự đổi mới và xây dựng lại. Quá trình tái tạo xương là một quá trình phức tạp, chịu sự ảnh hưởng của

nhiều yếu tố như: chuyên hoá, dinh dưỡng, nội tiết, tập luyện... Ở độ tuổi đang phát triển, hoạt động của tạo cốt bào mạnh hơn huỷ cốt bào, dưới tác động của các yếu tố tăng trưởng quá trình xây dựng xương diễn ra, xương mới được hình thành ở vị trí khác nơi huỷ xương, giúp cho xương phát triển. Ở người trưởng thành, xương đặc và xương xốp được thay đổi liên tục bởi quá trình xây dựng và tái tạo. Xương đặc chiếm khoảng 20% diện tích xương, trong đó mỗi năm khoảng 3% được đổi mới. Xương xốp chiếm khoảng 80% diện tích và khoảng 25% được đổi mới hàng năm [25],[26],[27].

- *Diễn biến tái tạo sinh lý xương*: Quá trình tái tạo xương trải qua các hiện tượng: thoái hoá, phục hồi và sửa chữa. Quá trình này lặp đi lặp lại liên tục và xuất hiện đồng bộ ở nhiều vị trí trên xương, có thể chia quá trình này thành 4 giai đoạn: giai đoạn tiêu xương, giai đoạn tái tạo, giai đoạn hình thành xương và giai đoạn nghỉ. Ở bất kỳ thời điểm nào cũng có khoảng 10% xương được tái tạo lại và 90% xương còn lại ở giai đoạn nghỉ. Thời gian để thực hiện hết một chu kỳ tái tạo xương khoảng 6 tháng, giai đoạn tiêu xương kéo dài 10-14 ngày, giai đoạn hình thành xương khoảng 150 ngày.

Giai đoạn tiêu xương được bắt đầu bằng sự thu hút các huỷ cốt bào tập trung đến vị trí được hoạt hoá trên bề mặt xương và tạo nên ổ tiêu xương. Trong quá trình này, các huỷ cốt bào gắn chặt vào bề mặt xương, làm tiêu xương bằng cách tiết ra acid hydrochloric và các enzym phân huỷ protein lên bề mặt xương, nhờ đó làm tiêu huỷ collagen và các protein khác của khuôn xương. Sau khi kết thúc phá huỷ xương các huỷ cốt bào trở nên bất hoạt, đó là tín hiệu để bắt đầu giai đoạn tạo xương [26],[27],[28].

Giai đoạn tái tạo xương được bắt đầu bằng sự thu hút các tạo cốt bào đến tập trung ở các ổ tiêu xương trên bề mặt xương, xảy ra khi có các tác nhân kích thích như: mảnh xương ghép, các tế bào sinh xương, hoặc ở trong môi trường thuận lợi. Các tạo cốt bào tập trung thành từng đám xếp theo hình

khôì để tổng hợp, tích tụ và hướng các phân tử protein vào khuôn xương và sau đó khoáng hoá để hình thành xương mới [26],[27],[28].

Quá trình huỷ xương và tạo xương liên tục diễn ra, gắn liền chặt chẽ với nhau, được giữ cân bằng ở tuổi trưởng thành cho đến 30 - 40 tuổi, sau đó cùng với sự lão hoá dần của cơ thể theo thời gian, hoạt động của các tạo cốt bào sẽ giảm dần và bị lấn át bởi sự tăng hoạt động của các huỷ cốt bào [26].

- *Các yếu tố tham gia điều hoà tái tạo xương* [25],[26],[27].

Những kích thích cơ học và những vùng xương bị tổn thương là những nơi quá trình tái tạo xương sẽ diễn ra. Quá trình điều hoà tái tạo xương được điều chỉnh bởi hệ thống hormon và các yếu tố hoạt động tại chỗ như các tế bào xương, các yếu tố phát triển... Sản phẩm cuối cùng của quá trình này là duy trì khuôn xương với thành phần hữu cơ chính là collagen đã được khoáng hoá và kết quả là xương được tái tạo, đổi mới.

PTH: là hormon làm tăng giải phóng canxi từ xương vào máu do đó tác động tới sự biệt hoá và hoạt động của tế bào xương, tạo cốt bào, huỷ cốt bào.

Growth hormone (GH): là hormon gây kích thích sụn và xương phát triển do làm tăng lắng đọng protein, tăng tốc độ sinh sản của tế bào sụn thành tế bào xương.

Hormon tuyến giáp (thyroid): rất cần thiết để chuyển mô sụn thành mô xương và làm tăng huỷ xương. Calcitonin: ảnh hưởng đến huỷ cốt bào gián tiếp qua việc kích thích AMPc (cyclic adenosine monophosphate).

Insulin: tác động lên tạo cốt bào, kích thích tổng hợp chất nền xương.

Dihydroxy vitamin D3: có vai trò tăng hấp thụ Ca^{+2} ở ruột, xương thông qua sự tăng tổng hợp osteocalci vì vậy cần thiết cho sự trưởng thành và calci hoá của xương.

Glucocorticoid: gây ra sự biệt hoá các tế bào dòng tạo cốt bào, nhưng cũng ảnh hưởng lâu dài là gây ức chế tạo xương. Các hormon sinh dục như estrogen và androgen cần cho sự trưởng thành của mô xương.

Các yếu tố điều chỉnh tại chỗ:

- Yếu tố tăng trưởng giống insulin (IGFs): bản chất là những polypeptid có trọng lượng phân tử 7600 dalton. IGF – 1 và IGF – 2 được tổng hợp từ nhiều tổ chức trong đó có xương, được lưu hành trong hệ tuần hoàn và hoạt động sinh học tương tự nhau. Ở xương, IGF – 1 tập trung ít hơn nhưng có tác dụng sinh học mạnh gấp 4 -7 lần so với IGF – 2, IGF hoạt động như những chất xúc tác và có tác dụng mạnh hơn IGF được tổng hợp từ nơi khác đưa đến. IGF – 1 trực tiếp điều chỉnh chức năng của tạo cốt bào, làm tăng sự sao chép của collagen typ I và làm giảm sự sao chép của enzym tiêu protein chất nền (Matrix metalloproteinase MMP - 13) cần thiết để tiêu huỷ collagen, do đó làm giảm thoái biến collagen xương, duy trì khuôn xương và khối lượng xương. Sự tổng hợp IGF - 1 của xương được điều chỉnh bởi các yếu tố tăng trưởng và các hormon, sự tổng hợp IGF-2 chỉ chịu sự điều chỉnh của các yếu tố tăng trưởng [29],[30].

- TGF- β : có ba loại là TGF – β 1, TGF – β 2, TGF – β 3, được tổng hợp từ xương và các tổ chức khác. Đó là những polypeptid có trọng lượng phân tử mỗi loại là 25000 dalton. Các TGF – β có tác dụng sinh học tương đương nhau, làm tăng số lượng tạo cốt bào nhờ việc kích thích sự sao chép của các tiền tạo cốt bào và tác động kích thích trực tiếp lên việc tổng hợp collagen của xương. Tổng hợp collagen xương được điều chỉnh bởi TGF – β thông qua nhiều cơ chế, trong đó có sự gia tăng số lượng tế bào có năng lực làm bộc lộ kiểu hình của các tế bào tạo xương và tác động trực tiếp lên chức năng của tạo cốt bào. TGF – β còn làm giảm huỷ xương do làm giảm khả năng nhân lên của

các huỷ cốt bào. TGF - β làm triệt tiêu sự huỷ xương, khởi xướng sự tạo xương của quá trình tái tạo xương [29],[30].

- BMPs: là gia đình protein thuộc TGF – β , BMPs có vai trò trong sự di cư, phân chia, biệt hoá và chết tự nhiên của tế bào, chức năng tùy thuộc nồng độ của BMPs, loại tế bào và mô. Cho đến nay, có khoảng 20 protein khác nhau thuộc BMPs được phát hiện và nhiều sản phẩm chứa BMPs được chấp nhận ứng dụng rộng rãi trong điều trị lâm sàng.

BMPs xuất hiện ở các giai đoạn khác nhau của tái tạo xương và có vai trò kích thích quá trình tạo xương, biệt hoá tế bào, tăng cường quá trình cốt hoá và điều khiển quá trình sản xuất chất căn bản xương. BMP1 điều khiển quá trình sản xuất chất căn bản xương. BMP3 khởi động quá trình biệt hoá từ tế bào trung mô thành tế bào xương và cùng có tác dụng giống BMP8 là điều khiển quá trình sinh xương. BMP2, BMP7, BMP9 thúc đẩy quá trình cốt hoá tại vùng mô tổn thương, trong đó: BMP2 kích thích quá trình tạo can xương, tạo sụn tại vùng tổn thương như sự di cư các tế bào trung mô, sinh sụn, khởi động các protein có vai trò trong hàn gắn thương tổn, biệt hoá tế bào trung mô thành tế bào xương, BMP7 xuất hiện nhiều ở vùng can xương điều khiển quá trình cốt hoá và kích thích các tế bào xương trưởng thành, BMP9 thúc đẩy quá trình liền xương... Con đường dẫn truyền BMPs bị ức chế bởi các chất đối kháng như Noggin, Chordin, Cerberus, Follistatin, các chất này tăng ở tổn thương xương không liền. BMP4 liên quan đến sự tạo can xương và kích thích di cư của tế bào đơn nhân trong máu. BMP5,6 cũng điều khiển quá trình cốt hoá và đóng vai trò trong quá trình trưởng thành của tế bào sụn [29],[30],[31],[32],[33].

- FGFs: bản chất là những polypeptid có trọng lượng phân tử mỗi loại khoảng 1700 dalton, được tổng hợp từ xương và các tổ chức khác. FGFs có tác dụng kích thích tế bào xương nhân lên và tổng hợp collagen xương. FGF

base có hiệu lực mạnh hơn FGF acid. FGF base ức chế sao chép collagen typ I trong các tạo cốt bào. Tác dụng kích thích của các FGFs lên tổ chức tân tạo có liên quan đến sự nhân lên của các tế bào xương gợi ý rằng chúng có vai trò quan trọng trong quá trình sửa chữa và làm lành tổ chức xương. FGFs làm tăng MMP -13 do đó làm thoái biến collagen xương, đồng thời làm tăng số lượng tiền tạo cốt bào để khởi đầu cho quá trình tạo xương [27],[29],[30].

- FDGF: bản chất là polypeptid có trọng lượng phân tử 30000 dalton, được phân lập từ tiểu cầu và được xem là yếu tố quan trọng để khởi đầu quá trình làm lành vết thương. FDGF tác dụng tới sự nhân lên của tế bào, kích thích xương tổng hợp collagen, làm tăng lượng huỷ cốt bào và MMP -13 [29].

- Các cytokin: gồm các interleukin như IL - 1, IL - 4, IL - 6, IL-11, dòng các yếu tố kích thích (CSF) và các yếu tố hoại tử u (TNF α). Các yếu tố này có ảnh hưởng quan trọng đến quá trình tái tạo xương và kích thích sự huỷ xương bằng cách tăng số lượng huỷ cốt bào [27],[29],[30],[34].

- Yếu tố tăng trưởng nội mô (Vascular endothelial growth factors - VEGF): là yếu tố tăng trưởng mạch máu đóng vai trò quan trọng trong việc làm lành nơi xương tổn thương [31],[32].

1.2.3. Quá trình liền xương gãy

Khi xương bị gãy, diễn biến quá trình liền xương là một quá trình phức tạp, liên quan nhiều yếu tố, từ mức phân tử, tế bào tới vùng tổn thương và toàn bộ cơ thể. Về mặt mô học, quá trình liền xương gãy thường diễn ra theo bốn giai đoạn: viêm, tạo can xương, sửa chữa can xương và hồi phục hình thái xương [25],[27].

- *Giai đoạn viêm*: Xuất hiện ngay sau khi xương gãy, kéo dài trong khoảng 3 tuần, đỉnh điểm là ngày thứ 3 tới ngày thứ 5 sau chấn thương. Lực tác động làm gãy xương sẽ đồng thời làm tổn thương cả mạch máu ở màng xương và tủy xương dẫn tới hoại tử các tế bào tại ổ gãy, các tế bào này sẽ giải

phóng các yếu tố hoạt hóa thành mạch gây tăng quá trình giãn mạch và thâm thấu thành mạch, do đó tăng lưu lượng máu tới ổ gãy. Trên nền của cục máu đông hình thành từ các tế bào viêm, các nguyên bào sợi xuất hiện tạo ra collagen dần thay thế cục máu đông bằng tổ chức hạt [25],[27].

- *Giai đoạn tạo can xương:*

+ Hình thành can xương mềm: diễn ra trong 1- 3 tuần đầu, giai đoạn này nhiều mạch máu tân tạo được tạo ra bởi các tế bào gốc tủy xương. Các tế bào trung mô xâm nhập vào vùng tổn thương và biệt hóa tùy thuộc vào điều kiện tại chỗ như: nồng độ oxy tổ chức, sức căng giãn và các yếu tố kích thích phát triển tại chỗ. Sức căng giãn tại chỗ sẽ hoạt hóa tế bào gốc sinh các nguyên bào sợi. Ở những nơi có nồng độ ôxy thấp và căng giãn thường xuyên, các tế bào gốc sẽ tạo các nguyên bào sụn (chondrocyte), sau đó các can sụn sẽ tạo cầu nối giữa hai đầu xương gãy, cũng chính các can sụn này sẽ làm giảm độ căng giãn và dẫn tới sự liền xương. Tiền tạo cốt bào sẽ tăng sinh nhanh chóng ở môi trường giàu ôxy và ít bị căng giãn cơ học, những vùng này tạo nên can xương cứng trực tiếp. Can xương mềm được tạo ra nhờ sự biến đổi từ tổ chức hạt sang tổ chức canxi hoá tạm thời, bao gồm các tạo cốt bào và nguyên bào sụn cùng hệ thống các sợi collagen, các chất gian bào dạng xương và sụn. Sự khoáng hóa can xương mềm xuất hiện đầu tiên ở chỗ tiếp giáp giữa các đầu xương gãy, tuần tự từ đầu này sang đầu kia của ổ gãy cho đến khi hai đầu xương gãy được nối liền nhau. Can xương ở giai đoạn này rất mềm và dễ gãy [26],[27].

+ Hình thành can xương cứng: can xương mềm tiếp tục phát triển, các tế bào sụn cùng hệ thống sợi collagen có sự lắng đọng canxi tạo môi trường cho các tế bào gốc đi vào biến đổi thành các nguyên bào xương, các tế bào này biến đổi sụn đã khoáng hóa thành các bè xương cứng sắp xếp dọc theo

các vi quản. Sự cốt hoá tạo thành các bè xương cứng đảm bảo nối liền ổ gãy vững chắc [26],[27].

- *Giai đoạn sửa chữa can xương*: quá trình này hồi phục cấu trúc mô học cho xương. Dưới sự tác động của các lực cơ học, tổ chức can xương tại đây có sự thay đổi về hình thể để thích hợp với chức năng của xương. Sự sửa chữa được thực hiện bởi các đơn vị tái tạo xương (bone modelizing unit - BMU) gồm có các hủy cốt bào, tạo cốt bào và diễn ra theo một trình tự được lặp đi lặp lại [26],[27].

- *Giai đoạn hồi phục hình thái xương*: Giai đoạn này kéo dài một đến nhiều năm, ở người lớn không thể hồi phục như hình thể ban đầu [26],[27].

1.3.Lịch sử phát triển ghép xương sọ tự thân

Từ thời tiền sử đồ đá, việc tái tạo hộp sọ đã từng được thực hiện, những nghiên cứu khảo cổ đã cho thấy ở một số quần thể Nam Thái Bình Dương người ta đã sử dụng vỏ dừa để sửa chữa lỗ khuyết sọ, thậm chí người Peru ở thời tiền sử còn dùng những tấm vàng để tạo hình hộp sọ [13],[35],[36]. Đến thế kỷ 16, các nhà phẫu thuật Pháp trong chiến tranh thế giới thứ nhất cũng lại đề cập đến việc sử dụng những tấm vàng để tái tạo sọ [13],[37],[38],[39].

Năm 1668, ca ghép xương sọ đầu tiên được tiến hành nhưng là một trường hợp ghép xương dị loài, nhiều tác giả đã ghi nhận Van Meekren đã sử dụng xương chó để sửa chữa khiếm khuyết sọ cho một người đàn ông Nga [13],[14],[35],[36],[37].

Năm 1821, phương pháp ghép xương tự thân được thực hiện đầu tiên bởi Von Walther. Vào năm 1861, Léopold Ollier cũng cho thấy ghép xương tự thân là khả thi và công nhận rằng mảnh xương không có màng xương vẫn có thể sống và phát triển trong một môi trường thích hợp [13]. Cho tới năm 1867, Léopold Ollier đã nhấn mạnh đến vai trò của màng xương trong việc tái tạo xương [14]. William Macewen (1885) đã sử dụng mảnh xương vòm sọ

của bệnh nhân để tạo hình khuyết sọ cho chính những bệnh nhân đó. Năm 1890, Muller W phát triển thêm thành kỹ thuật nắp trượt (sliding flap) bằng cách chỉ sử dụng bản ngoài của mảnh xương vòm sọ để tạo hình muện sau phẫu thuật. Người đầu tiên sử dụng bản ngoài không có màng xương để tạo hình ổ khuyết là Sohr. Năm 1893, Barth A công bố một bài báo về cấy ghép xương. Tác giả Konig F cũng nỗ lực thực hiện ghép xương và có những đóng góp quan trọng trong kỹ thuật tái tạo hộp sọ bằng sử dụng xương tự thân. Sau đó, việc sử dụng xương tự thân để ghép sọ đã trở nên phổ biến ở giai đoạn đầu thế kỷ 20 [13],[35],[36],[37].

Ở Việt Nam, từ thập kỷ 60, phương pháp ghép sọ tự thân đã được nhiều nhà phẫu thuật thần kinh thực hiện. Năm 1978, Phạm Gia Triệu, Nguyễn Văn Kính và Nguyễn Huy Phan đã báo cáo 118 trường hợp vá sọ bằng sụn sườn tự thân. Năm 1995, Đặng Đình Nam cũng đã báo cáo 53 trường hợp sửa chữa khuyết sọ bằng xương mào chậu tự thân. Năm 1990, Võ Tấn Sơn và cộng sự đã sử dụng vật liệu là mảnh xương sọ tự thân bảo quản dưới da bụng để điều trị cho bệnh nhân [trích dẫn theo 6]. Nghiên cứu của Nguyễn Công Tô và cộng sự (2009) cho thấy kết quả tốt sau phẫu thuật tạo hình khuyết vòm sọ lớn sau mổ giải phóng chèn ép não do chấn thương bằng xương sọ tự thân bảo quản lạnh sâu [40]. Ngoài ra, nhiều nghiên cứu khác sử dụng mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu để ghép lại cho bệnh nhân khuyết sọ và đã đạt những kết quả khả quan [9],[41],[42],[43].

Bên cạnh việc sử dụng xương tự thân, các nhà phẫu thuật thần kinh sử dụng kim loại như nhôm, hợp kim, nhựa cứng, xi măng... để che những khiếm khuyết ở sọ [13],[34],[35],[36].

Năm 1940, methyl methacrylate được khám phá và được sử dụng chủ yếu trong lĩnh vực phẫu thuật hàm mặt, sau đó được giới thiệu là vật liệu sửa chữa khuyết sọ. Năm 1943, Gurdjian E.S, Webster J.F và Brown J.C đã dùng

bột acrylic để tạo hình sọ, những năm sau đó methyl methacrylate được ứng dụng ngày càng nhiều hơn [13]. Polymethyl – methacrylate đầu tiên được sử dụng trên động vật, sau đó được sử dụng trên người và được dùng rộng rãi từ sau năm 1954 [13],[14],[34],[35]. Vật liệu tổ hợp carbon composite được sử dụng trong việc tạo hình hộp sọ tại Liên Xô ở thời điểm trước những năm 1980, sau đó một số tác giả như: Trần Hành, Phan Văn An, Nguyễn Công Tô... cũng đã nghiên cứu, ứng dụng composite carbon để thực hiện phẫu thuật các trường hợp khuyết tổn lớn hộp sọ và đã đạt được những kết quả thành công nhất định [44],[45],[46],[47].

Như vậy, từ cuối thế kỷ 19 đến nay, các nhà phẫu thuật thần kinh có thể có nhiều lựa chọn phương pháp tái tạo hộp sọ, các vật liệu được sử dụng như xương hoặc các vật liệu khác như: kim loại, các vật liệu sinh học thiên nhiên (nhựa cây, san hô, xà cừ, ngà voi), vật liệu tổng hợp nhân tạo (gốm sứ, thủy tinh sinh học, ximăng ...) để thay thế trong các trường hợp không có xương hoặc không thể dùng xương để tái tạo hộp sọ, nhằm đáp ứng được nhu cầu của bệnh nhân [48],[49],[50],[51],[52],[53],[54]. Trong đó, việc sử dụng xương tự thân là rất phổ biến, theo nghiên cứu của Komiya.K và cộng sự (2003), Hiệp hội chỉnh hình khảo sát qua 5 năm trên toàn nước Nhật có tổng số 92.984 ca ghép xương, trong đó ghép xương tự thân chiếm 69%, ghép xương đồng loại chiếm 3% và thay thế xương bằng vật liệu tổng hợp chiếm 28% [55]. Ở Việt Nam, xương tự thân cũng vẫn là loại vật liệu được sử dụng nhiều nhất và ghép xương tự thân là phương pháp phổ biến trong tái tạo khuyết sọ; ghép xương đồng loại ít khả thi vì nguồn xương hiến tặng rất hiếm bởi phong tục tập quán; ghép xương dị loài cũng chưa từng được sử dụng; đối với ghép vật liệu khác thay thế xương cũng được áp dụng nhưng vẫn có nhiều bất lợi như: đắt, không thuận lợi trong quá trình phẫu thuật hoặc thăm khám sau khi ghép...

1.4. Vật liệu và phương pháp bảo quản để ghép xương sọ tự thân

Ghép xương tự thân thường đạt hiệu quả cao và nhanh nhất trong việc tái tạo xương vì có sự tương hợp sinh học hoàn hảo, không có nguy cơ thải hồi mảnh ghép. Ghép xương tự thân được đánh giá là tiêu chuẩn vàng trong bất kỳ trường hợp ghép xương nào, đây là phương pháp được sử dụng nhiều nhất [56],[57],[58],[59],[60]. Theo một nghiên cứu so sánh kết quả tái tạo khuyết tật sọ với xương tự thân và vật liệu alloplastic đã được tiến hành trên 22 bệnh nhân nam, trong đó có 11 bệnh nhân được ghép xương tự thân, 6 bệnh nhân được ghép lưới titan và 5 bệnh nhân được ghép với tấm polymethylmethacrylate. Sau 18 đến 24 tháng, kết quả không có nhiễm trùng hậu phẫu hoặc các biến chứng ở các bệnh nhân được phẫu thuật với ghép xương tự thân, các đường viền của hộp sọ đã được cải thiện; 01 trường hợp nhiễm trùng thứ cấp trong số bệnh nhân tái tạo lại với tấm polymethylmethacrylate; 01 bệnh nhân nhiễm trùng ở 02 bệnh nhân sau tái thiết sọ với titan. Từ kết quả nghiên cứu cho thấy ghép xương tự thân đạt kết quả tốt hơn về miễn dịch, đặc tính cơ sinh học [61].

Tuy nhiên, trong những trường hợp mảnh xương ghép không dùng lại được thì vẫn phải dùng vật liệu khác thay thế xương.

1.4.1. Vật liệu ghép xương sọ tự thân

Trong phương pháp ghép xương tự thân để tái tạo hộp sọ, việc lựa chọn sử dụng vật liệu như thế nào để phù hợp với bệnh nhân rất quan trọng. Vật liệu dùng ghép tạo hình khuyết sọ đòi hỏi nhiều đặc điểm riêng, không giống như các vật liệu dùng trong chấn thương chỉnh hình. Ngoài yêu cầu như: không có đào thải về mặt sinh học, đảm bảo độ vững chắc, cần phải đảm bảo tốt được chức năng bảo vệ não tức là vật liệu ghép phải có các đặc tính cơ - lý càng gần giống xương sọ càng tốt...

Vật liệu xương tự thân trong phẫu thuật ghép tự thân: Đó là những mảnh xương được lấy từ một phần khác của chính cơ thể bệnh nhân để ghép vào nơi thiếu xương. Xương tự thân là loại vật liệu tốt vì là thành phần vốn có của cơ thể bệnh nhân [31],[32],[62]. Các mảnh xương tự thân có thể đáp ứng được hầu hết các tính năng chung cần có ở các vật liệu ghép sọ được nhiều tác giả thống nhất [14],[32],[62] đó là phải:

- Phù hợp với khuyết tổn sọ não, đạt được độ kín hộp sọ.
- Có khả năng chống nhiễm trùng (để tiết trùng).
- Có tính phù hợp mô và tương thích sinh học.
- Dẫn nhiệt thấp.
- Thấu xạ, không từ tính.
- Có độ bền, không bị ion hoá và ăn mòn.
- Dễ tạo hình và có tính thẩm mỹ.
- Ít tổn kém.
- Sẵn có để sử dụng.

Để phục vụ cho việc ghép xương tự thân tái tạo hộp sọ, người ta có thể sử dụng: xương sọ, xương chậu, xương sườn, xương bả vai, xương ức, xương chày. Mỗi loại xương có những thuận lợi và hạn chế nhất định [14],[31],[58].

+ Xương sọ: là vật liệu lý tưởng nhất trong phẫu thuật tái tạo khuyết sọ. Ưu điểm là: xương sọ tự thân có độ cong và phù hợp với hình thái khuyết tổn nhất, có thể sống và hoà nhập vào chủ thể ghép, không dẫn nhiệt và không giãn nở, bền chắc khi được kết hợp, không bị phản ứng, có tính thẩm mỹ cao, khả năng bảo vệ và tính chất sinh học tương đương xương sọ xung quanh, rẻ tiền, luôn sẵn có, không phải phẫu thuật lấy xương ở vùng khác do đó bệnh nhân không phải chịu nhiều vết mổ [14],[31],[58],[63].

+ Xương chậu: có thể cung cấp mảnh ghép kích thước rộng, có kết quả tốt ở vùng trán hốc mắt, những ổ khuyết nhỏ dưới 30 cm², việc tân tạo mạch

máu nhanh và hấp thụ nhanh hơn, có sự tương đồng với các đường viền của hộp sọ do có độ cong nhất định. Đặng Đình Nam (1995) đã sử dụng mảnh ghép từ xương chày ở 53 bệnh nhân, kết quả tốt với các trường hợp ổ khuyết sọ kích thước nhỏ dưới 30cm^2 [trích theo 8]. Tuy nhiên, xương chày có nhược điểm là: dễ có biến chứng khi lấy xương như xuất huyết, thủng ruột, tổn thương thần kinh [31].

+ Xương sườn: phương pháp lấy xương sườn để tái tạo hộp sọ được phổ biến rộng rãi vào đầu thế kỷ 20. Mảnh xương sườn ghép thường mỏng, cung cấp xương cứng và xương xốp, hỗ trợ tốt cho việc tái tạo xương sọ, mảnh ghép xương sườn cũng có thể được sử dụng như một nguồn xương sụn để sửa chữa khuyết sọ rộng. Tuy nhiên, xương sườn mềm nên gây khó khăn khi ghép và việc sử dụng mảnh ghép này để phẫu thuật tạo hình vùng trán có thể đem lại kết quả không cao về mặt thẩm mỹ, mặt khác dễ xảy ra các biến chứng trong và sau phẫu thuật như biến dạng ngực, có vấn đề về hô hấp [14],[31],[62].

+ Xương bả vai: là một lựa chọn tốt trong ghép xương tự thân, nhưng ít được sử dụng do khó khăn trong việc lấy xương và thường có tỷ lệ biến chứng cao [14],[31],[57].

+ Xương ức: có ưu điểm là việc tân tạo mạch máu nhanh hơn, hấp thụ nhanh hơn. Tuy nhiên, việc lấy xương ức ghép sọ không được sử dụng rộng rãi do việc lấy xương khó khăn, phức tạp và kích thước xương ức có thể không đủ so với ổ khuyết sọ [14],[31],[57].

+ Xương chày: để tái thiết thẩm mỹ hộp sọ cho bệnh nhân, người ta có thể sử dụng xương chày [14]. Hiện nay, xương chày hiếm khi được sử dụng vì việc lấy xương khó khăn và gây đau đớn cho bệnh nhân, mặt khác lượng xương thu được nhỏ, ít thích hợp với hình dạng sọ, đặc biệt việc tạo đường

viên sọ đối với xương chày cũng không dễ dàng và dễ gây gãy xương chày ở những vùng đã lấy xương đi [14],[57].

Nhìn chung, vật liệu xương tự thân để tái tạo khuyết tổn hộp sọ đa dạng. Mỗi loại vật liệu cũng đều có những thuận lợi và có những mặt hạn chế. Không có vật liệu nào tối ưu cho mọi trường hợp. Việc quyết định lựa chọn loại vật liệu phù hợp sẽ là yếu tố quan trọng đóng góp vào thành công của việc tái tạo khuyết sọ. Về lý thuyết và theo quan điểm của các nhà lâm sàng, các mảnh xương sọ để ghép tự thân là loại vật liệu đáp ứng đầy đủ nhất về các tiêu chí cần có ở các vật liệu ghép sọ hiện nay, tránh cho bệnh nhân phải phẫu thuật lấy xương ở vùng khác.

Phương pháp ghép tự thân điều trị khuyết sọ là sử dụng mảnh xương sọ của chính bệnh nhân để tạo hình hộp sọ cho chính họ, tuy nhiên mảnh xương này không thể sử dụng được ngay mà phải chờ cho đến khi tình trạng bệnh nhân tốt lên, thông thường phải hàng tháng, thậm chí hàng năm, do vậy phải bảo quản được mảnh xương trong thời gian chờ đợi ghép lại.

1.4.2. Phương pháp bảo quản mảnh xương sọ để ghép tự thân

Từ những năm cuối thế kỷ 18 đến đầu thế kỷ 20 cho đến nay, đã có nhiều phương pháp bảo quản xương được áp dụng, tuy nhiên vẫn chưa có một phương pháp nào đạt tối ưu. Tùy theo điều kiện, mảnh xương có thể được bảo quản theo phương pháp khác nhau:

- Phương pháp bảo quản bằng hoá chất: người ta đã sử dụng mật ong bảo quản xương để ghép đồng loại [64]. Mật ong có tác dụng sát khuẩn tốt và kín không khí, nhưng đây chỉ là phương pháp bảo quản trong thời gian ngắn, chất lượng mô bảo quản không cao.

- Phương pháp hấp nhiệt: Phương pháp bảo quản này làm chết và hủy hoại tế bào, làm tiêu hủy các protein có trong xương, do đó xương bảo quản mất hết tác dụng sinh xương và thường bị đào thải [trích theo 8].

- Phương pháp bảo quản xương dưới da đầu, da bụng: Đầu thế kỷ 20 chưa có ngân hàng bảo quản mô, người đầu tiên đề xuất vùi mảnh xương sọ trong mô mỡ dưới da bụng để lưu giữ mảnh xương là Kreider C.D (1920), các tác giả: Stula R.T (1984), Tsukagohi T, Satoh K và Hosaka Y (1998) cũng đã đề cập thực hiện phương pháp bảo quản này [13],[14],[65]. Bảo quản xương sọ dưới da đầu cũng đã được thực hiện bởi Pasaoglu.A và cộng sự (1996) [66]. Năm 2011, Morina A và cộng sự cũng vẫn sử dụng phương pháp bảo quản dưới da bụng [67]. Còn ở Việt Nam, phương pháp bảo quản mảnh xương dưới da bụng đã được sử dụng từ cuối thập niên 90 tại khoa Ngoại thần kinh bệnh viện Chợ Rẫy [trích theo 45].

Tuy nhiên, các tác giả đều thống nhất rằng bên cạnh khả năng bảo quản mảnh xương tạm thời, phương pháp bảo quản này có nhược điểm chung là: dễ tiêu xương, nguy cơ nhiễm trùng và bệnh nhân phải chịu hai vết mổ... Hiện nay, phương pháp bảo quản vùi mảnh xương sọ dưới da đầu hoặc dưới da bụng là phương pháp ít được áp dụng, còn được dùng ở những nơi chưa có trung tâm bảo quản mô.

- Phương pháp khử khoáng: là phương pháp loại bỏ canxi trong xương. Sau khi thực hiện tạo hình hộp sọ cho 42 bệnh nhân khuyết sọ bẩm sinh và chấn thương, Moss SD và cộng sự (1995) cho rằng cần thảo luận thêm về chất liệu bảo quản theo phương pháp này [68].

- Phương pháp bảo quản đông khô: Ưu điểm của phương pháp này là sau khi đông khô, tính kháng nguyên giảm đáng kể, dễ vận chuyển do bảo quản mẫu ở nhiệt độ thường. Tuy nhiên, phương pháp bảo quản đông khô xương có nhược điểm là: không giữ được tế bào sống, ảnh hưởng nhiều đến tính cơ học của xương, chi phí cao do kỹ thuật phức tạp, chỉ áp dụng được cho các mô ghép có kích thước tương đối nhỏ và thường được sử dụng để

ghép đồng loại. Phương pháp này cũng ít được sử dụng bảo quản xương sọ vì thời gian cần bảo quản xương sọ thường cũng không quá dài ngày [2],[19].

- Phương pháp bảo quản lạnh sâu: Odom GL và cộng sự (1952), Abbott KH (1953) đã thông báo sử dụng thành công mảnh xương sọ được bảo quản lạnh sâu ở nhiệt độ -70°C trong việc ghép tự thân tạo hình hộp sọ [trích theo 8]. Trong các phương pháp bảo quản xương để ghép tự thân, phương pháp bảo quản lạnh sâu có nhiều ưu điểm như: có thể bảo quản lâu dài, không làm biến tính và hao mòn xương, có thể chủ động ghép lại mảnh xương, chi phí bảo quản hợp lý, nên được sử dụng rộng rãi trên thế giới [2],[11],[19].

Cơ chế bảo quản lạnh sâu là sử dụng nhiệt độ siêu lạnh (dưới -40°C , -80°C , có thể bảo quản trong nitơ lỏng -196°C) để bảo tồn các đặc tính sinh học của xương. Việc hạ thấp nhiệt độ của mô xương bằng phương pháp lạnh sâu nhằm gây ức chế tạm thời hoạt tính của các enzym mà không gây biến tính đáng kể protein của mô [2],[19].

Nguyên tắc bảo quản lạnh sâu là giữ cho mô không bị phân huỷ trong một thời gian dài nhưng sau thời gian bảo quản lạnh sâu, mẫu mô xương phải đạt các tiêu chuẩn: Vô trùng, không gây biến đổi đáng kể các đặc tính sinh học của xương, bảo tồn tính chịu lực đối với xương, giảm tối đa phản ứng miễn dịch, chi phí rẻ [2],[19].

Để đảm bảo tính vô trùng, người ta có thể xử lý bằng hoá chất hoặc chiếu xạ. Phương pháp khử trùng bằng ethylen oxide có nhược điểm để lại trong mảnh ghép một dư lượng hóa chất có thể gây viêm mạn tính và làm thất bại phẫu thuật ghép. Do vậy ngày nay nhiều ngân hàng bảo quản mô sử dụng chiếu tia gamma để khử trùng mô ghép [2],[19].

1.4.3. Phương pháp bảo quản lạnh sâu mảnh xương sọ chiếu tia gamma

Phương pháp bảo quản lạnh sâu mảnh xương sọ là phương pháp đã được sử dụng ở trên thế giới và ở Việt Nam đã được ứng dụng trên 10 năm.

Từ năm 2002 đến nay, trên cơ sở quy trình của Hiệp hội Ngân hàng mô châu Á – Thái Bình Dương, labo Bảo quản Mô – Bộ môn Mô - Phôi, Trường Đại học Y Hà Nội (nay là Trung tâm Hỗ trợ sinh sản và Công nghệ mô ghép – Bệnh viện Đại học Y Hà Nội) đã bảo quản các mẫu xương sọ bằng máy lạnh cơ học, nhiệt độ duy trì từ -70°C đến -85°C , có chiếu tia gamma để đảm bảo tính vô trùng của mảnh xương sọ đến khi ghép lại [19].

Theo báo cáo của Quách Thị Yên, Ngô Duy Thìn (2012): từ tháng 2/2002 đến 12/2010, labo Bảo quản mô – Bộ môn Mô - Phôi, Trường Đại học Y Hà Nội có 3587 mẫu xương sọ được bảo quản, trong đó ghép lại 2217 mẫu chiếm 61,8%, chủ yếu thời gian bảo quản là 3 – 6 tháng chiếm 73,6%, 38 bệnh viện ở khu vực phía Bắc, số mẫu và số bệnh viện gửi xương sọ để bảo quản lạnh sâu tăng qua các năm, bệnh viện Việt Đức có số mẫu gửi nhiều nhất chiếm 53,2% [6],[7].

Ngoài ra, tại các bệnh viện địa phương cũng triển khai bảo quản mô xương sọ để ghép tự thân, tuy nhiên việc khử trùng mảnh xương sọ có khác nhau, nhiều nơi không chiếu xạ mà chỉ xử lý qua dung dịch có kháng sinh, nhiệt độ bảo quản cũng có sự khác nhau -30°C đến -37°C [8],[9],[41],[42].

Từ khi mảnh xương sọ được thu nhận để bảo quản đến khi được ghép lại, quy trình bảo quản lạnh sâu có chiếu tia gamma bao gồm các bước: thu nhận mô, xử lý mô, đóng gói và bảo quản mô, chiếu xạ và rã đông [2],[19].

**Các yếu tố tác động tới mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu có chiếu tia gamma*

Mục đích bảo quản xương là để ghép lại, nên tiêu chuẩn tối ưu sau khi được bảo quản là các sản phẩm không bị mất đi những đặc tính sinh học vốn có của nó. Vì vậy vấn đề được nhiều nhà khoa học quan tâm trong quá trình bảo quản lạnh sâu mảnh xương sọ có chiếu tia gamma là: các yếu tố như nhiệt

độ, thời gian bảo quản, tế bào mô chết do chiếu xạ... sẽ ảnh hưởng như thế nào đến chất lượng các mảnh xương sọ bảo quản?

Nhiệt độ lý tưởng bảo quản là ngăn chặn được sự phân giải protein, lipid và giảm miễn dịch do đông lạnh [69],[70]. Nhiệt độ bảo quản mô như thế nào là phù hợp đã được thảo luận nhiều trên thế giới, thực tế cho thấy nhiệt độ bảo quản ở các ngân hàng mô có sự khác nhau, từ -20°C đến -196°C . Theo AATB, nhiệt độ bảo quản lạnh sâu mô được đặt ở mức -80°C . Tiêu chuẩn chung của EAMST cũng không có thoả thuận quốc tế về nhiệt độ bảo quản cụ thể, do đó nhiệt độ bảo quản lạnh sâu ở các ngân hàng mô ở châu Âu cũng rất khác nhau: EATB khuyến cáo bảo quản mô ở nhiệt độ -40°C đến -80°C , trong khi đó Hiệp hội y tế của Đức đề nghị nhiệt độ bảo quản là -70°C [2],[71].

Thời gian bảo quản xương phụ thuộc vào nhiệt độ bảo quản, theo Hiệp hội ngân hàng mô châu Âu và Hoa Kỳ: Nhiệt độ từ 4°C đến -10°C mô có thể được bảo quản dưới 14 ngày tuần, ở nhiệt độ -18°C đến -40°C có thể bảo quản mô xương được 6 tháng, từ -40°C đến -80°C có thể bảo quản được 5 năm. Bảo quản -196°C (bảo quản trong nitơ lỏng): mô có thể được bảo quản vô thời hạn vì hầu hết các enzym ngừng hoạt động nhưng chi phí bảo quản rất tốn kém [2].

Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản tới tính chất cơ học của xương đã được nghiên cứu và cho thấy: xương được bảo quản lạnh sâu từ 2 đến 5 năm cũng không có những bất lợi lên các tính năng cơ - sinh học của mô xương [2],[19]. Theo Tomford W.W, nhiệt độ lạnh sâu dùng bảo quản tạm thời mô xương có thể duy trì trong khoảng -80°C , ở mức nhiệt độ này các enzym cũng hầu như không hoạt động hoặc hoạt động rất ít, do đó mô xương có thể được bảo quản trong 5 năm và chi phí bảo quản thấp hơn so với bảo quản ở nhiệt độ -196°C [2],[69],[70],[72].

Trong số những nguyên tắc xử lý và bảo quản mô xương ghép, tính vô trùng là nguyên tắc quan trọng hàng đầu [6],[20],[69],[70],[73]. Nguyễn Thị Thuý Hằng (2007) nghiên cứu khảo sát tình trạng nhiễm khuẩn của 410 mảnh xương sọ trước bảo quản lạnh sâu gửi tại labo Bảo quản Mô – Bộ môn Mô - Phôi, Trường Đại học Y Hà Nội từ 2002 – 2005, kết quả cho thấy: trước bảo quản có 4,9% trường hợp cấy khuẩn dương tính, một số yếu tố liên quan như bệnh lý xương, tình trạng đóng gói, vận chuyển và xử lý mảnh mô [20]. Qua đó thấy rằng mặc dù mô xương ghép có thể được kiểm soát, tuân thủ các nguyên tắc vô trùng trong quá trình thu hoạch và xử lý mô, song việc khử khuẩn mô ghép gần như bắt buộc vì thực tế không thể kiểm soát được toàn bộ các bước của qui trình, tính vô trùng của mô ghép được đảm bảo chủ yếu dựa vào kiểm tra sau khi khử trùng.

Chiếu xạ bằng tia gamma là phương pháp vật lý diệt khuẩn phổ biến nhất hiện nay trong qui trình xử lý, bảo quản lạnh sâu mô xương ở các ngân hàng mô [2],[19],[57],[58]. Hầu hết các sản phẩm mô ghép cũng như các vật liệu sinh học thay thế mô đều được khử trùng bằng tia gamma vì nó có ưu điểm: loại trừ được mầm bệnh có trong mô, không phá huỷ mô ở liều phù hợp và có thể giảm đáng kể tính kháng nguyên của mô. Tia gamma có hiệu ứng giết tế bào do đứt gãy DNA và hiệu ứng này có thể xảy ra ở liều bức xạ tương đối thấp, sự giảm tính sinh miễn dịch sau chiếu xạ cũng do nguyên nhân giết các tế bào [69],[70],[74],[75].

Tuy có tác dụng khử trùng tốt nhưng ở liều bức xạ cao hơn, tia gamma cũng có hiệu ứng biến tính thành phần chất nền, thông qua tác dụng lên các phân tử chất nền, tia bức xạ cũng gây ra các ảnh hưởng bất lợi đến tính chất của mô ghép. Tuy nhiên, điều này không ảnh hưởng đến các đặc tính vật lý của mô ghép (do thành phần chất căn bản quyết định), các đặc tính này chỉ thay đổi khi quy trình xử lý tác động lên thành phần chất căn bản trước khi

ghép hoặc do chất căn bản bị các tế bào sống tác động lên (sau khi ghép). Lê Thị Hồng Nhung (2006) đã nghiên cứu thực nghiệm lựa chọn liều chiếu tia gamma khử trùng cho mảnh xương sọ chó bảo quản lạnh sâu, kết quả tia gamma với liều 10,15, 25 kGy không gây biến đổi cấu trúc mô nền của xương vòm sọ chó bảo quản ở nhiệt độ -70°C [76]. Theo nghiên cứu của các tác giả Ngô Duy Thìn và Lê Thị Hồng Nhung (2012), độ bền cơ học của mảnh xương sau chiếu xạ tia gamma phụ thuộc vào liều chiếu, với liều tia gamma 20 – 25 kGy thì sự thay đổi độ bền cơ học ở trong giới hạn chấp nhận được [77].

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng liều chiếu càng cao sự phá hủy mô càng lớn, làm giảm các đặc tính vật lý cần thiết của mảnh ghép, liều 50kGy có thể làm giảm 30% độ bền cơ học của mô xương. Như vậy, liều chiếu tia gamma an toàn và hiệu quả phải là liều thấp nhất có tác dụng khử khuẩn, theo tiêu chuẩn của AATB là 25 – 30 kGy, một số ngân hàng dùng liều 10 – 15 kGy [58],[69],[70]. Liều chiếu xạ thường dùng ở các ngân hàng mô các nước theo tiêu chuẩn của Hiệp hội ngân hàng mô Châu Á – Thái Bình Dương là 25kGy, liều chiếu tia gamma được sử dụng tại labo Bảo quản mô – Bộ môn Mô - Phôi, Trường Đại học Y Hà Nội là 25kGy [19],[20],[76],[77]. Tuy nhiên, nếu không chú trọng và đảm bảo vô trùng dựa trên quản trị chất lượng toàn bộ quy trình thì các vi khuẩn gây nhiễm trùng cơ hội có thể phát triển trong sản phẩm trước chiếu xạ, sẽ tạo lượng lớn độc tố trong sản phẩm sau chiếu xạ, ảnh hưởng tới mô ghép.

Hai yếu tố thể hiện vai trò của một mô ghép xương: thứ nhất là kích thích sự tạo thành xương mới xâm nhập và thay thế dần mảnh ghép, thứ hai là tạo ra khung chịu lực hay phục hồi sự liên tục của một xương bị khuyết trước đó. Trên thực tế thì mảnh xương chết có thể đáp ứng được cả hai yêu cầu về sinh học và vật lý nói trên. Tuy nhiên, để đáp ứng hai yêu cầu trên thì mảnh xương ghép phải được áp sát trở lại vùng cung cấp máu của vật chủ, nghĩa là

phải hạn chế tối đa hiện tượng tiêu xương trong quá trình bảo quản và phải cố định mảnh ghép tốt và vững chắc, ngoài ra còn có vai trò của nhiệt độ bảo quản, thời gian... Như vậy, việc lựa chọn phương pháp và thực hiện nghiêm ngặt quy trình bảo quản mảnh xương sọ có đóng góp quan trọng vào sự thành công khi ghép tự thân trên lâm sàng.

1.5. Quá trình liền xương sau ghép tự thân mảnh xương sọ trên thế giới và ở Việt Nam.

1.5.1. Quá trình tái tạo hồi phục sau ghép xương tự thân

Hiện nay, việc ghép xương trong điều trị đã phổ biến trên thế giới và ở Việt Nam, để lấp đầy ổ khuyết trong các phẫu thuật phục hồi các khuyết hồng xương do các nguyên nhân như: chấn thương, mổ u... người ta có thể sử dụng ghép xương tự thân [78],[79],[80],[81],[82],[83]. Cũng giống quá trình liền xương gãy, quá trình liền xương sau ghép là một quá trình diễn biến phức tạp. Việc hiểu biết một cách sâu sắc và đầy đủ về quá trình tái tạo, liền xương và liền mảnh ghép là vô cùng quan trọng trong ứng dụng lâm sàng, giúp các bác sỹ phẫu thuật điều trị có những quyết định lựa chọn vật liệu, những điều chỉnh phù hợp để đem lại kết quả tối ưu cho bệnh nhân.

Trong quá trình liền xương, sự xâm nhập là quá trình xương chủ liền vào xương ghép, mô xương chủ xâm lấn vào xương ghép và dần dần thay thế nó [1]. Quá trình thay thế gồm: sự sinh xương mới và hủy xương ghép. Sự hủy xương được thực hiện là nhờ các hủy cốt bào. Sự sinh xương mới do các tạo cốt bào tổng hợp các thành phần chất nền và gây lắng đọng muối canxi lên đó tạo thành chất căn bản xương [25]. Quá trình sinh xương mới được thực hiện dọc theo các đường hầm Howship do hủy cốt bào tạo thành khi hủy xương, hoặc các khoảng trống của tuỷ xương và ống Havers sẵn có trong xương ghép, vì vậy quá trình trên được gọi là “thay thế bò trườn” [13]. Hai

tác động chính trong quá trình tạo xương mới thay thế xương ghép là kích tạo xương và dẫn tạo xương [1],[31],[36],[59].

Kích tạo xương (osteoinduction): là quá trình biệt hoá các tế bào trung mô thành các tế bào xương như: huỷ cốt bào, tạo cốt bào và nguyên bào sụn dưới tác dụng của các cytokin, các protein tạo hình xương có trong chất nền của xương ghép [1],[27],[28],[29],[30].

Dẫn tạo xương (osteoconduction): là quá trình di cư các tế bào đầu dòng xương từ mô xương chủ vào các khoảng trống của mảnh ghép. Quá trình này thường xảy ra thụ động, phụ thuộc vào cấu trúc xốp của mảnh ghép, cung cấp dinh dưỡng của xương chủ tại nền ghép và sự tiếp xúc của mảnh ghép vào nền ghép [1],[36].

Trong kích tạo xương hay dẫn tạo xương, nguồn gốc quần thể tạo cốt bào mới hình thành đều xuất phát từ nền ghép. Do đó nguyên tắc cơ bản trong kỹ thuật ghép xương là mô xương ghép phải được cố định chặt chẽ và có tiếp xúc tốt với nền ghép của mô xương chủ. Mô xương mới hình thành sẽ được tái cấu trúc và tự nắn chỉnh thông qua các quá trình huỷ xương và sinh xương thứ cấp. Sau thời gian dài, hình thái xương dần hài hoà với tổng các lực cơ học tác động lên xương [25],[26].

Các nhà nghiên cứu, trong đó có Bauer TW và Muschler GF(2000) đã tổng hợp quá trình xâm nhập mô ghép gồm các hiện tượng là: Hình thành khối máu tụ, giải phóng các yếu tố tại chỗ; Viêm và phát triển các mô sợi kết nối vùng liền kề mô ghép; Mạch máu xâm nhập vùng ghép; Tái hấp thu; Hình thành xương mới, kết hợp xương ghép và xung quanh, tu sửa [31],[32],[84],[85].

- *Diễn biến quá trình tái tạo sau ghép xương tự thân*

Đối với mô ghép xương tự thân, sự tái tạo hồi phục thường diễn biến thuận lợi vì không bị cản trở của hàng rào miễn dịch. Quá trình này có thể

chia làm hai bước cơ bản: thứ nhất là sự kết hợp giữa các cạnh của mảnh ghép vào các cạnh của xương chủ, thứ hai là tu sửa và hấp thu dần dần vật liệu ghép, đồng thời thay thế nó bằng xương mới [31],[85]. Mô ghép xương xốp và mô ghép xương đặc không có sự khác biệt trong giai đoạn sớm, sự khác nhau giữa chúng chỉ thể hiện ở trong giai đoạn sau 2 tuần.

Đầu tiên, các cục máu đông hình thành sẽ ngăn chặn sự mất máu từ nền ghép, đồng thời làm mất nguồn nuôi mảnh ghép, dẫn đến hoại tử dần dần, ngoại trừ một số tế bào ở ngoại vi mảnh ghép có thể sống sót nhờ dinh dưỡng qua thẩm thấu. Tuần đầu tiên, xung quanh mảnh ghép tập trung nhiều tế bào lympho, tương bào, huỷ cốt bào. Một lớp mô sợi mỏng hình thành qua mảnh ghép chứa các bạch cầu đa nhân, đơn nhân. Tuần thứ hai, quá trình viêm nói trên giảm mạnh, số lượng mô sợi tăng lên cùng với nhiều huỷ cốt bào. Các đại thực bào xâm nhập vào các mảnh ghép theo các ống Havers và dần dần tiêu hoá các mảnh tế bào xương bị hoại tử trong các ống xương. Một số vi mạch đã có thể được tân tạo và xâm nhập mảnh ghép trong giai đoạn này, mô ghép tự thân bắt đầu có sự khác biệt về tốc độ khôi phục các mạch máu, tốc độ huỷ xương ghép, sinh xương mới và thay thế xương ghép [26],[28],[31],[85].

Trong xương xốp, mạch máu tân tạo xâm nhập khá nhanh vào các hốc trống của tuỷ xương bị thoái biến. Ở xương đặc, mạch máu xâm nhập chậm hơn, dọc theo các ống Havers có sẵn. Mạch máu tân tạo mang theo một số tế bào trung mô sau này có thể được kích thích, biệt hoá thành các tiền tạo cốt bào, sau đó là tạo cốt bào và huỷ cốt bào. Như vậy, ở xương xốp, sự khôi phục mạch máu xảy ra nhanh hơn xương đặc.

Ở xương xốp, trong các khoảng trống do tuỷ xương hoại tử để lại được các mạch máu tân tạo xâm nhập, quá trình sinh xương mới sẽ được khởi phát trước. Các tạo cốt bào tạo ra chất căn bản xương, hình thành các lá xương mới lát lên vách của các hốc tuỷ cũ. Xương ghép hoại tử trở thành khu vực lõi bị

bao bọc kín bởi xương mới. Một vài tháng sau, các huỷ cốt bào tăng dần hoạt tính và dần tiếp cận tiêu huỷ lõi xương bị hoại tử. Trong các hốc trống xuất hiện các tế bào tuỷ xương mới. Toàn bộ mảnh ghép xương xấp tự thân có thể được thay thế sau vài tháng đến một năm, đầu tiên xảy ra sự gia tăng độ cứng chắc của xương ghép sau đó giảm dần về bình thường.

Trong mô ghép xương đặc, quá trình thay thế được bắt đầu bằng sự huỷ xương. Ngay tuần thứ hai sau khi ghép xương tự thân, hoạt tính huỷ cốt bào đã tăng đáng kể và đạt đến cực đại sau khoảng 6 tuần. Hoạt tính huỷ cốt bào sau đó giảm dần nhưng vẫn còn cao hơn bình thường trong khoảng một năm. Sự huỷ xương bắt đầu ở vùng ngoại vi mảnh ghép, sau đó xâm nhập cả vào vùng trung tâm, quá trình huỷ xương diễn ra dọc theo các ống Havers và Volkmann cũ. Sau khoảng 12 tuần, quá trình sinh xương mới được khởi phát. Độ cứng chắc của mảnh ghép hồi phục tới mức đối chứng sau khoảng 1 năm. Trên phim X quang, thường thấy độ đậm của xương ghép giảm trong vòng 6 tháng đầu, sau đó dần khôi phục tới mức bình thường trong khoảng 2 năm. Do vậy, người ta đánh giá thời gian hồi phục vào khoảng 2 năm. Đặc điểm khác biệt của xương đặc so với xương xấp trong ghép xương tự thân là xương đặc có thể hoà đồng với xương chủ mà không thay thế hết, thậm chí sau nhiều năm [trích dẫn theo 8].

1.5.2. Tình hình nghiên cứu sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu.

Trên thế giới, phương pháp ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu đã được nhiều nơi thực hiện, đa số nghiên cứu đánh giá kết quả trên lâm sàng [79],[80],[81],[89],[90].

Crotti –FM và cộng sự (1979) nghiên cứu bản chất của sự tạo xương và bảo quản ở nhiệt độ -30°C , cho rằng: xương sọ được bảo quản lạnh sâu là tình trạng lý tưởng trước khi được ghép lại, thành công sau ghép lại là 13/15 bệnh

nhân [82]. Cũng trong năm 1979, Prolo DJ và cộng sự đã thông báo kết quả nghiên cứu ghép xương sọ tươi, xương sọ bảo quản lạnh sâu -20°C trong bacitracin, thời gian lưu trữ từ 1 – 35 tháng và có quan sát dưới kính hiển vi huỳnh quang và chụp X quang, kết quả là: 48/53 bệnh nhân được đánh giá ghép thành công chiếm 90,6%, phương pháp bảo quản lạnh mô không gây độc tế bào, xương sọ ghép là chất liệu lý tưởng để tạo hình hộp sọ, có sự hủy xương và bồi đắp dần [86].

Osawa M và cộng sự (1990) sau thời gian theo dõi trung bình một năm ở 27 trường hợp ghép xương sọ bảo quản lạnh sâu, kết quả cho thấy không có biến chứng nghiêm trọng, thoả mãn về thẩm mỹ, có 01 trường hợp phải loại bỏ xương vì áp xe ngoài màng cứng và tác giả cũng cho rằng khử trùng là một phương pháp đơn giản, không làm tăng nguy cơ biến chứng sau phẫu thuật [83]. Robotti.E (1992), nhận xét rằng việc sử dụng xương sọ tự thân bảo quản lạnh là phương pháp dễ dàng và hiệu quả [trích dẫn theo 8]. Asano Y (1993) đã phẫu thuật cho 110 bệnh nhân khuyết sọ bằng xương sọ bảo quản lạnh sâu, ông cũng cho rằng đây là phương pháp đơn giản, rẻ tiền và ít biến chứng [81].

Fuminori Ozaki (1994) đã báo cáo 206 trường hợp được phẫu thuật tạo hình hộp sọ bằng ghép tự thân các mảnh xương bảo quản đông lạnh ở nhiệt độ -20°C , kết quả là 198 trường hợp an toàn chiếm 96%, có 8 trường hợp tiêu xương sau ghép [87].

Năm 2002, Nagayama K và nhóm tác giả ở Nhật Bản đã nghiên cứu 206 bệnh nhân được ghép xương sọ bảo quản ở -16°C sau khi xử lý đơn giản ngâm xương trong 200mg Amikacine. Kết quả cho thấy: nhiễm trùng phải loại bỏ xương chiếm tỷ lệ 3,88% [88].

Iwama T, Yamada J và cộng sự (2003) đánh giá qua 37 bệnh nhân được ghép xương sọ bảo quản lạnh sâu -35°C và 12 bệnh nhân có xương bảo quản ở -84°C , thời gian bảo quản trung bình 50,6 ngày, sau đó theo dõi xương bằng

chụp X quang và đánh giá lâm sàng, thẩm mỹ, thời gian theo dõi 14 – 147 tháng. Kết quả: 95,9% không có biến chứng trong thời gian tiếp theo, đạt về lâm sàng và thẩm mỹ, yếu tố quan trọng nhất cho thành công là sự tiếp giáp giữa mảnh xương và mép ổ khuyết [89].

Grant GA và cộng sự (2004) nghiên cứu sử dụng xương tự thân để tái tạo khuyết sọ sau phẫu thuật giải áp ở 40 trẻ em và thanh thiếu niên có độ tuổi từ 4 tháng đến 19 tuổi, diện tích ổ khuyết khoảng 14 - 147cm². Trong số đó, 50% có triệu chứng tiêu xương, tỷ lệ này có sự tương quan đáng kể với diện tích ổ khuyết, tuy nhiên các tác giả cũng cho rằng cần được đánh giá lại với số lượng mẫu cao hơn [90].

Theo thông báo của Bhaskar.IP và cộng sự (2011) khi nghiên cứu khảo sát trên diện rộng tại các trung tâm phẫu thuật thần kinh trên toàn nước Úc cho thấy sự khác biệt về việc thực hiện bảo quản mảnh xương sọ, điều đó có thể là yếu tố liên quan đến tỷ lệ biến chứng cao, tình trạng nhiễm trùng và tái hấp thu xương. Cũng theo một thông báo khác của tác giả này và các cộng sự vào tháng 11/2011 cho thấy: tỷ lệ nhiễm trùng cao và tái hấp thu xương ở bệnh nhân tái tạo hộp sọ với nắp sọ bảo quản lạnh có liên quan đến việc bảo quản, trong đó nhóm tác giả cho rằng việc bảo quản lạnh -30°C trong hơn 6 tháng là không đảm bảo yêu cầu, cần tiếp tục nghiên cứu các tác động của điều kiện bảo quản, nghiên cứu lâm sàng và cơ bản nhằm mô tả đặc điểm tác động của thực tiễn quản lý mảnh xương sọ với điều kiện bảo quản lạnh sâu trên những đặc tính sinh học và y sinh của hộp sọ [23].

Ở Việt Nam, những trung tâm ứng dụng bảo quản lạnh sâu mô xương sọ phục vụ lâm sàng ghép tự thân để điều trị khuyết sọ đã có một số kết quả đáng khích lệ [8],[9],[40],[41],[42].

Báo cáo kết quả phẫu thuật tạo hình vòm sọ bằng xương sọ tự thân bảo quản lạnh sâu của Nguyễn Kim Chung (2000) đã cho thấy: Thời gian từ khi

mở sọ đến khi đặt lại xương sọ bảo quản là $14 \pm 5,8$ tuần, theo dõi bệnh nhân ghép lại xương bảo quản sau 6 tháng có hiện tượng nhiễm trùng là 9,3% và tiêu xương chiếm 0,9% [9].

Năm 2002, Bệnh viện Đa khoa Đà Nẵng đã áp dụng bảo quản nắp sọ bằng đông lạnh ở nhiệt độ -37°C sau khi xử lý đơn giản bằng nước muối sinh lý và Gentamycine, Nguyễn Ngọc Bá và cộng sự tái tạo 75 trường hợp khuyết sọ trong đó 3 trường hợp phải loại bỏ mảnh xương vì nhiễm trùng [41].

Nhóm bác sĩ của Bệnh viện đa khoa trung tâm An Giang đã phẫu thuật tạo hình khuyết vòm sọ bằng mảnh ghép tự thân bảo quản lạnh sâu ở -33°C cho 200 bệnh nhân từ 3/2005 – 2/2006, kết quả cho thấy chỉ có 5 bệnh nhân có biến chứng [42].

Trần Thanh Bảo (2007) cũng đã tiến hành ghép mảnh xương sọ xử lý đơn giản bằng nước muối sinh lý và Gentamycine, bảo quản ở nhiệt độ -37°C sau 8-12 tuần cho 102 bệnh nhân. Kết quả tốt sau 3 tháng đạt 97,9% và sau 1 năm đạt 93,76% [8].

Các tác giả Nguyễn Công Tô, Nguyễn Đình Hưng và Quách Văn Kiên (2009) cũng đánh giá cao hiệu quả của phương pháp bảo quản lạnh sâu mảnh xương sọ để ghép tự thân trong phẫu thuật tạo hình khuyết vòm sọ lớn sau mổ giải phóng chèn ép não do chấn thương, tỷ lệ thành công sau ghép lại xương đạt 91,2%, thời gian theo dõi sau ghép giới hạn trong năm đầu tiên [40].

Một số các nghiên cứu thực nghiệm khác đã phát hiện khả năng tái tạo xương khi ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu trên động vật. Nghiên cứu thực nghiệm ghép tự thân mảnh xương sọ chó sau bảo quản đông lạnh ở -70°C , kết quả cho thấy: tại khu vực khiếm khuyết xương dù giảm số lượng tế bào tạo xương nhưng vẫn có khả năng tái tạo xương [91]. Reuther.T và cộng sự (2010) đã nghiên cứu trên cừ để so sánh ghép xương tươi, xương bảo quản lạnh sâu và sự tương thích của chúng. Kết quả cho thấy thành công

của sự tương thích xương sau ghép, bảo quản lạnh sâu giữ được các tế bào tiềm năng tạo xương [92]. Theo kết quả so sánh phương pháp bảo quản lạnh sâu -80°C và lưu trữ dưới da mảnh xương sọ trên mô hình chuột của nhóm tác giả từ các trường đại học ở New York cho rằng: mảnh xương sau bảo quản 10 ngày khi được ghép lại, sự hợp nhất xương còn hạn chế [93].

Như vậy, tùy theo điều kiện ở từng nơi, có sự khác nhau trong việc lựa chọn nhiệt độ bảo quản lạnh sâu mảnh xương sọ ở các trung tâm bảo quản trên thế giới và ở Việt Nam. Tuy các nghiên cứu trên lâm sàng cho thấy một phần nhu cầu ghép xương sọ tự thân đã được đáp ứng, nhưng hiệu quả của phương pháp này chưa được đánh giá hết. Ở Việt Nam, cũng có rất ít nghiên cứu đánh giá khả năng liền xương sau khi bệnh nhân ra viện một thời gian dài thông qua độ vững chắc mảnh ghép, thẩm mỹ, cũng như sự hài lòng, hoà nhập cuộc sống của bệnh nhân sau ghép mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu.

Trên thực nghiệm những công bố về quá trình liền sau ghép tự thân xương sọ bảo quản lạnh sâu để tái tạo khuyết sọ là không nhiều, kết quả nghiên cứu trên chó và chuột được đánh giá là vùng khiếm khuyết xương sau ghép có khả năng tương thích và tạo xương, quá trình liền ở mô xương ghép tự thân có nhiều thuận lợi, các yếu tố cần thiết quá trình tái tạo xương là bộ khung (giàn giáo), mạch máu nuôi dưỡng, sự xuất hiện các tế bào và các protein, tuy nhiên diễn biến quá trình liền xương này như thế nào, số phận mảnh xương ghép có được thay thế bằng xương mới hay không thì vẫn chưa rõ ràng? Quá trình liền sau ghép xương sọ bảo quản lạnh sâu có chiếu tia gamma ở động vật khác và trên người diễn biến ra sao, hiện cũng chưa có câu trả lời, trong khi đây là vấn đề nhiều nhà khoa học, đặc biệt các nhà lâm sàng quan tâm vì nó ảnh hưởng đến quyết định lựa chọn vật liệu, phương pháp ghép phù hợp nhằm đem lại lợi ích cho bệnh nhân. Chính vì thế chúng tôi định hướng đến nghiên cứu này mong góp phần giải quyết những vấn đề trên.

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

* **Mục tiêu 1:** Gồm 25 thỏ. Tiêu chuẩn:

- Thỏ đực, khoẻ mạnh, 3 tháng tuổi
- Trọng lượng mỗi thỏ từ 1,8 – 2 kg
- Trung tâm nghiên cứu dê và thỏ Sơn Tây cung cấp.
- Thỏ được nuôi dưỡng theo chế độ thí nghiệm

* **Mục tiêu 2:** Gồm 15 mẫu xương sọ người.

Tiêu chuẩn:

- Các mẫu xương đều của các bệnh nhân chấn thương sọ não có mở hộp sọ, có tiền sử khoẻ mạnh, không mắc các bệnh mãn tính.
- Các mảnh xương sọ của các bệnh nhân này đều được lấy ra, vận chuyển đến labo Bảo quản Mô – Bộ môn Mô - Phôi, Trường Đại học Y Hà Nội theo đúng quy trình của labo.
- 5 mẫu xương sọ mới được chuyển đến labo và chưa được xử lý bảo quản lạnh sâu là những mảnh xương vỡ nhỏ.
- 5 mẫu xương sọ đã được gửi xử lý, bảo quản lạnh sâu dưới 5 năm (4 năm 8 tháng)
- 5 mẫu xương sọ đã được gửi xử lý, bảo quản lạnh sâu trên 5 năm (6 năm).
- Tất cả các mẫu xương này đã được xác định không thể ghép lại do bệnh nhân tử vong hoặc gia đình không đến lấy lại.
- Đã được sự đồng ý cho phép sử dụng xương để phục vụ nghiên cứu khoa học của người nhà bệnh nhân, trưởng labo Bảo quản Mô - Bộ môn Mô - Phôi, Trường Đại học Y Hà Nội.

* **Mục tiêu 3:** Gồm 30 bệnh nhân được hẹn khám lại. Đây là những bệnh nhân có mảnh xương sọ gửi bảo quản lạnh sâu tại labo Bảo quản Mô – Bộ môn Mô - Phôi, Trường Đại học Y Hà Nội và được ghép tự thân tại khoa Phẫu thuật thần kinh Bệnh viện Việt Đức Hà Nội trong thời gian từ năm 2011 đến năm 2012. Việc phẫu thuật lấy mảnh xương sọ và ghép tự thân mảnh xương sọ đã bảo quản lạnh sâu được thực hiện bởi các bác sĩ chuyên khoa, theo quy trình tại phòng mổ.

- *Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân:*

+ Bệnh nhân bị chấn thương sọ não phải mở hộp sọ và được ghép tự thân tại Bệnh viện Việt Đức Hà Nội.

Đặc điểm mảnh xương sọ: 01mảnh, không bị vỡ, không bị rạn nứt.

Mảnh xương được đóng gói, vận chuyển đúng qui trình, gửi bảo quản lạnh sâu tại labo Bảo quản Mô – Bộ môn Mô - Phôi, Trường Đại học Y Hà Nội.

+ Không phân biệt giới tính

+ Độ tuổi: từ 18 đến 60.

+ Bệnh nhân có địa chỉ, số điện thoại để liên lạc hoặc gửi thư hẹn lịch khám lại nhằm thu thập thông tin theo dõi sau ghép.

+ Bệnh nhân hoặc người nhà được giải thích và đồng ý tham gia nghiên cứu.

- *Tiêu chuẩn loại trừ bệnh nhân:*

+ Bệnh nhân mắc các bệnh mãn tính có thể ảnh hưởng đến quá trình liền xương: đái đường, lao, HIV...

+ Bệnh nhân chưa có chỉ định ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu.

- + Bệnh nhân không có chỉ định ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu và được chỉ định sử dụng các vật liệu khác thay thế (titan, gốm sứ, vật liệu composite cacbon...).
- + Bệnh nhân hoặc người nhà không đồng ý tham gia nghiên cứu

2.2. Vật liệu – Phương tiện

- Chuồng nuôi thỏ đảm bảo mỗi thỏ/chuồng
- Thức ăn của thỏ theo tiêu chuẩn phòng thí nghiệm
- Bộ dụng cụ phẫu tích vô khuẩn
- Máy khoan tay, máy khoan điện Marathon SDE – H37L và bộ mũi khoan dùng khoan xương sọ thỏ
- Găng tay vô khuẩn, kim chỉ khâu da.
- Nước muối sinh lý, betadin, cồn 70⁰C
- Thuốc thiopental, adrenalin, kháng sinh...
- Săng vô khuẩn, nhãn ghi ký hiệu lô và nhóm thực nghiệm
- Túi vô khuẩn 3 lớp, bông, băng, gạc...
- Tủ lạnh, tủ lạnh sâu – 85⁰C.
- Kính hiển vi quang học Olympus CH20, Nhật Bản
- Kính hiển vi điện tử quét JSM – 5410 LV của hãng Jeol Nhật Bản.
- Bệnh án theo dõi bệnh nhân.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thực nghiệm ghép tự thân mảnh xương sọ thỏ bảo quản lạnh sâu

- *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu thực nghiệm mô tả
- *Phân lô thực nghiệm:* 25 thỏ được chia thành 03 lô.
 - + Lô thứ nhất (Lô thỏ bình thường, ký hiệu BT): có 5 thỏ.
Sau khi được cắt khỏi hộp sọ, các mảnh xương sọ thỏ được cố định, làm tiêu bản để xem xét cấu trúc ở các mức độ vi thể và siêu vi thể.
 - + Lô thứ hai (Lô đối chứng, ký hiệu ĐC): gồm 5 thỏ.

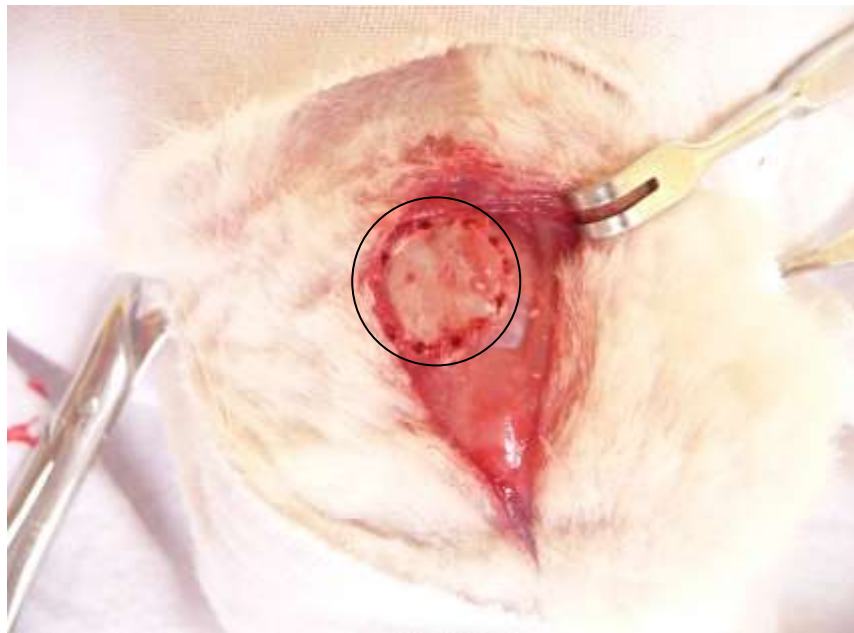
- Các mảnh xương sau khi được lấy từ hộp sọ thỏ thì được xử lý, khử trùng bằng tia gamma liều 25kGy và bảo quản lạnh sâu ở nhiệt độ -85°C theo đúng qui trình.
 - Thời gian bảo quản lạnh sâu là 4 tuần.
 - Sau đó, các mảnh xương sọ bảo quản được làm tiêu bản để xem xét cấu trúc ở các mức độ vi thể và siêu vi thể.
- + Lô thứ ba (Lô thực nghiệm, ký hiệu TN): gồm 15 thỏ.
- Các mảnh xương sọ của các con thỏ này ngay sau khi được cắt từ hộp sọ sẽ được xử lý, khử trùng bằng tia gamma liều 25kGy và bảo quản lạnh sâu -85°C theo đúng qui trình.
 - Bảo quản lạnh sâu các mảnh xương sọ này trong 4 tuần.
 - Ghép tự thân các mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu cho mỗi thỏ.
 - Ngay sau ghép lại xương sọ, chia 15 thỏ ở lô này thành 3 nhóm để theo dõi theo thứ tự thời gian: 4, 8, 16 tuần sau ghép. Số tuần theo dõi sau ghép tự thân dựa trên sự tham khảo các nghiên cứu trên thế giới [94],[95],[96],[97],[98],[99],[100],[101].
 - Cuối mỗi thời điểm theo dõi 4 tuần (nhóm TN1), 8 tuần (nhóm TN2), 16 tuần (nhóm TN3), lấy các mẫu xương sọ thỏ ở nhóm tương ứng để làm tiêu bản vi thể, siêu vi thể nhằm đánh giá quá trình liền xương về mặt hình thái mô học theo các khoảng thời gian sau ghép lại xương sọ.
- *Các kỹ thuật nghiên cứu*
- + Kỹ thuật gây mê thỏ: sử dụng thuốc thiopental với liều lượng là 25mg/kg cân nặng thỏ.
 - * Cách pha thuốc thiopental:
Hòa tan 1000mg thiopental trong lọ bằng 10ml nước cất.
Lấy ra 0,25ml dung dịch hòa tan và 0,75ml nước cất.

Kết quả được 25mg thiopental trong 1ml dung dịch thuốc gây mê cho thỏ.

* Cách tiêm: Sát khuẩn, tiêm vào tĩnh mạch rìa tai thỏ.

+ Kỹ thuật khoan lấy xương sọ thỏ:

- Làm sạch, sát khuẩn
- Rạch da đầu khoảng 3 cm
- Bộc lộ xương vùng đỉnh trái của thỏ
- Định hình, đo kích thước mảnh xương sọ: mảnh xương sọ hình tròn với đường kính 1cm, diện tích 1cm^2 .
- Chọn mũi khoan và khoan lỗ theo hình dạng, kích thước đã định.
- Tách mảnh xương sọ
- Cầm máu
- Khâu da che phủ ổ khuyết xương
- Sát khuẩn



Hình 2.1. Vùng xương sọ thỏ sau khi khoan lỗ (vùng khoanh tròn)



Hình 2.2. Ổ khuyết và mảnh xương (1cm^2) sau khi tách khỏi hộp sọ thỏ

- + Quy trình thu nhận, xử lý, bảo quản xương sọ: thực hiện theo quy trình bảo quản lạnh sâu mảnh xương sọ tại labo Bảo quản Mô – Bộ môn Mô – Phôi, Trường Đại học Y Hà Nội. Các bước gồm:
 - Cấy khuẩn để đánh giá tình trạng vô khuẩn đầu vào.
 - Xử lý mảnh xương sọ trong điều kiện vô trùng:
 - ✧ Cắt lọc cân cơ
 - ✧ Rửa sạch mảnh xương sọ trong nước muối sinh lý lạnh vô trùng đến khi nước trong.
 - Đóng gói mảnh xương sọ trong ba lớp vật liệu vô trùng, từ trong ra ngoài là:
 - ✧ Túi vải vô trùng
 - ✧ Túi polyethylen (PE) mỏng vô trùng hàn kín miệng túi, trong có chứa nhãn mã số thông tin mảnh xương.
 - ✧ Túi PE dày bao ngoài.
 - Bảo quản trong tủ lạnh sâu ở nhiệt độ -85°C .
 - Khử khuẩn bằng chiếu tia gamma liều 25kGy từ nguồn Co – 60 trong điều kiện nhiệt độ -65°C bằng đá băng CO_2 .
- + Kỹ thuật ghép lại mảnh xương sọ thỏ:

- Kiểm tra vi khuẩn lần hai sau chiếu xạ
- Rạch da theo vết mổ cũ
- Bóc tách lớp da đầu
- Bộc lộ bờ ổ khuyết sọ
- Đặt mảnh xương sọ đã rửa đông vào ổ khuyết
- Cố định, đóng da đầu
- Sát khuẩn



Hình 2.3. Mảnh xương sọ thỏ (vùng mũi tên) được đặt vào ổ khuyết khi ghép tự thân (A) và hình ảnh sau đóng da đầu (B)

+ Kỹ thuật vi thể:

- Số lượng, kích thước và vị trí lấy mẫu xương sọ:
 - ✧ Mỗi thỏ được lấy một mảnh xương, kích thước 0,5 cm x 0,5cm
 - ✧ Vị trí lấy xương: vùng đỉnh trái.
- Đối với lô thực nghiệm (ghép lại xương bảo quản), mẫu xương được lấy đảm bảo gồm có ba phần: phần xương hộp sọ, phần nối giữa mảnh xương bảo quản và xương hộp sọ, phần mảnh xương bảo quản được ghép lại.
- Các bước kỹ thuật:
 - ✧ Cố định mẫu và khử canxi bằng dung dịch acid Tricloacetic
 - ✧ Chạy nước, tẩy cặn, ngâm nên

- ✧ Đúc block
- ✧ Cắt lát mỏng 4 - 5 μ m
- ✧ Nhuộm Hematoxylin – Eosin (H.E)
- ✧ Lên kính
- ✧ Quan sát và chụp ảnh vi thể bằng kính hiển vi quang học.

+ Kỹ thuật siêu vi:

- Lấy mẫu xương nhóm chứng và mẫu xương sọ vùng ranh giới mảnh ghép trong các nhóm thực nghiệm
- Các bước kỹ thuật:
 - ✧ Pha mẫu xương: các mẫu xương có kích thước 0,5cm x 0,5cm (để sự khử các chất hữu cơ trong mẫu xương được đồng đều).
 - ✧ Khử chất hữu cơ trong các mẫu xương bằng dung dịch natri hypoclorit 5% x 3-5 ngày (sử dụng 25 -30 ml dung dịch natri hypoclorit 5% cho một gam xương).
 - ✧ Rửa mẫu dưới vòi nước chảy 24 giờ.
 - ✧ Khử nước trong các mẫu bằng cồn có nồng độ tăng dần theo qui trình:
 - ✓ Cồn 50⁰ x 5 phút/lần x 1 lần
 - ✓ Cồn 70⁰ x 20 phút/lần x 1 lần
 - ✓ Cồn 85⁰ x 20 phút/lần x 1 lần
 - ✓ Cồn 96⁰ x 20 phút/lần x 1 lần
 - ✓ Cồn 100⁰ x 20 phút/lần x 2 lần.
 - ✧ Khử cồn trong các mẫu xương bằng ether theo qui trình:
 - ✓ Cồn 100⁰ + ether nguyên chất (1/1) x 20 phút/lần x 1 lần.
 - ✓ Ether nguyên chất x 20 phút/lần x 1 lần.
 - ✧ Làm khô mẫu trong không khí.
 - ✧ Mạ phủ mẫu bằng máy JFC-1200

✧ Nghiên cứu mẫu trên kính hiển vi điện tử quét JSM - 5410LV.

- *Chỉ tiêu nghiên cứu:*

- + Đánh giá tình trạng toàn thân
- + Đánh giá tình trạng đại thể:
 - Những thay đổi tổ chức xung quanh
 - Tình trạng nhiễm trùng
 - Sự tái ghép ở các nhóm thử thực nghiệm.
- + Hình ảnh vi thể mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu sau ghép lại và tại vùng tiếp ráp mảnh xương ghép với xương chủ của các nhóm thử ở các thời gian theo dõi, qua đó đánh giá:
 - Khả năng hoà nhập mô
 - Sự hình thành các mạch máu tân tạo
 - Can xơ – sụn, các tế bào viêm, tế bào tạo xương, huỷ xương...
- + Hình ảnh khoáng hoá bề mặt của mảnh xương sọ thử bảo quản lạnh sâu ở các lô thực nghiệm so với lô bình thường, lô đối chứng dưới kính hiển vi điện tử quét pha khoáng.

2.3.2. Nghiên cứu hình thái các mảnh xương sọ người bảo quản lạnh sâu theo thời gian

- *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu mô tả phân tích
- *Phân nhóm nghiên cứu:* 3 nhóm.
 - + Nhóm 1(Ký hiệu N1): gồm 5 mẫu xương sọ người, mới được chuyển đến labo theo đúng quy trình và chưa được bảo quản lạnh sâu.
 - + Nhóm 2 (Ký hiệu N2): gồm 5 mẫu xương sọ người đã được xử lý, bảo quản lạnh sâu với thời gian 4 năm 8 tháng (dưới 5 năm).
 - + Nhóm 3 (Ký hiệu N3): gồm 5 mẫu xương sọ người đã được xử lý, bảo quản lạnh sâu với thời gian 6 năm (trên 5 năm).
- *Kỹ thuật mô học*

- + Mỗi mảnh xương sọ được cưa lấy một mẫu kích thước 0,5cm x0,5cm để làm tiêu bản vi thể.
- + Các bước kỹ thuật:
 - Cố định và khử can xi các mẫu xương sọ
 - Chạy nước, tẩy cồn, ngâm nén
 - Đúc block
 - Cắt lát mỏng 4- 5 μ m
 - Nhuộm Hematoxylin – Eosin (H.E).
 - Lên kính
 - Quan sát tiêu bản và chụp ảnh dưới kính hiển vi quang học.

- *Chỉ tiêu nghiên cứu*

- + Đặc điểm cấu trúc đại thể, vi thể của các mảnh xương sọ người không bảo quản lạnh sâu.
- + Sự thay đổi cấu trúc đại thể, vi thể của các mảnh xương sọ người sau khi bảo quản lạnh sâu với thời gian: 4 năm 8 tháng và 6 năm.

2.3.3. Nghiên cứu kết quả sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu trên người

- *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu mô tả phân tích
- *Cỡ mẫu:* Chủ đích 30 bệnh nhân theo tiêu chuẩn nghiên cứu
- *Kỹ thuật chọn mẫu:* Chọn mẫu thuận tiện theo thời gian.
- *Nội dung nghiên cứu:*
 - + Một số đặc điểm bệnh nhân nghiên cứu và vị trí ổ khuyết xương sọ
 - + Một số đặc điểm mảnh xương sọ và thời gian bảo quản lạnh sâu
 - + Thời gian theo dõi sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu
 - + Kết quả sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu có chiếu tia gamma liều 25kGy:

- Đặc điểm hình thái vùng ghép và khả năng bảo vệ não sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu.
 - Độ vững chắc vùng ghép xương sọ tự thân
 - Thẩm mỹ sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu
 - Sự hài lòng sau ghép lại xương sọ ở các đối tượng nghiên cứu.
- *Kỹ thuật thu thập số liệu:*
- + Bước 1: Lựa chọn bệnh nhân đủ tiêu chuẩn nghiên cứu thông qua thông tin trên hồ sơ lưu tại labo Bảo quản Mô – Bộ môn Mô - Phôi, Trường Đại học Y Hà Nội
 - + Bước 2: Đối chiếu thông tin bệnh nhân đã được chọn từ nơi bảo quản xương với thông tin trên hồ sơ lưu bệnh nhân điều trị khuyết sọ tại khoa Phẫu thuật thần kinh - Bệnh viện Việt Đức Hà Nội để xác định đúng bệnh nhân theo tiêu chuẩn nghiên cứu, ngày bệnh nhân ra viện để xác định thời gian hẹn khám lại cho bệnh nhân.
 Thời gian xác định để hẹn bệnh nhân hẹn khám lần thứ nhất là 6-12 tháng sau khi ra viện, lần 2 là 12 tháng sau, lần 3: 6 tháng sau lần 2, thời gian theo dõi tối đa là 30 tháng.
 - + Bước 3: Liên hệ, giải thích để bệnh nhân hoặc người nhà bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu.
 - + Bước 4: Lập bệnh án bệnh nhân gửi xương bảo quản lạnh sâu và theo dõi sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu (theo mẫu bệnh án nghiên cứu)
 - + Bước 5: Hẹn ngày để bệnh nhân đến khám tại phòng khám Ngoại thần kinh của Bệnh viện Việt Đức Hà Nội.
 - + Bước 6: Tổ chức khám cho bệnh nhân
 - Phỏng vấn trực tiếp bệnh nhân (theo mẫu)

- Khám lâm sàng: thực hiện cùng bác sĩ chuyên khoa phẫu thuật thần kinh Bệnh viện Việt Đức.
- Chụp X quang do các cán bộ chuyên khoa X quang đảm nhiệm.
- Đọc phim X quang
- + Bước 7: Khi bệnh nhân không đến khám lại, thu thập thông tin (theo mẫu bệnh án nghiên cứu) qua điện thoại, thư để đánh giá tình trạng bệnh nhân và sự hài lòng.
- *Nội dung thông tin thu thập:*
 - + Tuổi
 - + Giới
 - + Vị trí khuyết xương sọ
 - + Thời gian bảo quản xương
 - + Kích thước mảnh xương bảo quản
 - + Tình trạng mảnh xương sọ sau bảo quản lạnh sâu
 - + Thời gian theo dõi sau ghép lại
 - + Tình trạng khám lâm sàng ở thời điểm khám lại
 - Đánh giá toàn trạng:
 - ✧ Trạng thái tỉnh táo hay hôn mê
 - ✧ Các chỉ số: Mạch, nhiệt độ, huyết áp
 - Hội chứng khuyết sọ
 - ✧ Tình trạng đau đầu (so với trước khi ghép tự thân)
 - ✧ Co giật, động kinh
 - ✧ Hay quên, mệt mỏi, kích thích
 - Tại vết mổ và vùng ghép mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu
 - ✧ Tình trạng sẹo: phẳng, lõm
 - ✧ Vùng xương ghép: Lõm khuyết hay phẳng hay hỗn hợp
 - ✧ Rò dịch nhiễm khuẩn

- ✧ Mảnh xương sọ di động, bập bênh.
- X quang:
 - ✧ Độ đậm xương ghép so với xương chủ
 - ✧ Khoảng trống tiếp ráp xương chủ và xương ghép.
 - ✧ Biểu hiện khác: liền xương, khuyết xương...
- + Tiêu chí đánh giá lâm sàng:
 - Hiện tượng tiêu xương:
 - ✧ Nhìn thấy các vết lõm vùng ghép xương sọ
 - ✧ Sờ thấy vùng ghép xương sọ và ranh giới thấy có nơi mật độ mềm so với các vùng xung quanh.
 - ✧ Trên phim X quang: thấy hình ảnh giảm đậm độ ở xương ghép so với xương chủ và hoặc thiếu hụt xương so với lần khám trước.
 - Độ vững chắc của mảnh xương ghép: Chúng tôi chia theo ba mức độ là: tốt, đạt, không đạt.

Bảng 2.1. Các mức độ đánh giá sự vững chắc của mảnh xương sau ghép

| Mức độ | Đặc điểm vùng ghép |
|-----------|---|
| Tốt | <ul style="list-style-type: none"> - Khoảng ranh giới mảnh ghép và xương chủ hẹp (0,5 cm – dưới 1cm) trên phim X quang - Mảnh xương ghép không di lệch, không bập bênh. |
| Đạt | <ul style="list-style-type: none"> - Ranh giới mảnh ghép và xương chủ rộng (từ 1cm – 2cm) trên phim X quang. - Mảnh xương ghép không di lệch, không bập bênh. |
| Không đạt | <ul style="list-style-type: none"> - Ranh giới mảnh ghép và xương chủ rộng (trên 2cm) trên phim X quang. - Có di lệch, bập bênh mảnh xương ghép |

- Đánh giá chức năng bảo vệ não: thông qua kết quả tình trạng vết mổ và mảnh ghép, hiện tượng tiêu xương và hội chứng khuyết sọ.

- Đánh giá về thẩm mỹ: thông qua tình trạng sẹo vùng ghép phẳng hay lõm hay lồi, các biến chứng khác sau ghép lại như: nhiễm khuẩn, rò dịch...

Bảng 2.2. Các mức độ đánh giá thẩm mỹ sau ghép

| Mức độ | Đặc điểm vùng ghép |
|-----------|--|
| Tốt | <ul style="list-style-type: none"> - Sẹo phẳng, vùng ghép không khuyết lõm - Không rò dịch - Mảnh xương ghép không có sự di lệch, bấp bênh. |
| Đạt | <ul style="list-style-type: none"> - Vùng ghép lõm, có thể phát hiện mặc dù có tóc che. - Không rò dịch - Mảnh xương ghép không có sự di lệch, bấp bênh |
| Không đạt | <ul style="list-style-type: none"> - Vùng ghép lõm sâu, ổ khuyết xương lớn, dễ phát hiện - Có rò dịch - Có sự di lệch, bấp bênh xương ghép |

- Đánh giá sự hài lòng sau ghép: chúng tôi chia các mức độ cụ thể như sau:
 - ✧ Rất hài lòng: Bệnh nhân hoàn toàn thoải mái, tự tin lao động, hòa nhập cuộc sống như bình thường.
 - ✧ Hài lòng: Bệnh nhân lao động và hòa nhập cuộc sống nhưng còn chưa thoải mái.
 - ✧ Không hài lòng: Bệnh nhân lo lắng, không tự tin, có tâm lý muốn thay bằng vật liệu khác.
 - ✧ Không ý kiến.

2.4. Địa điểm nghiên cứu

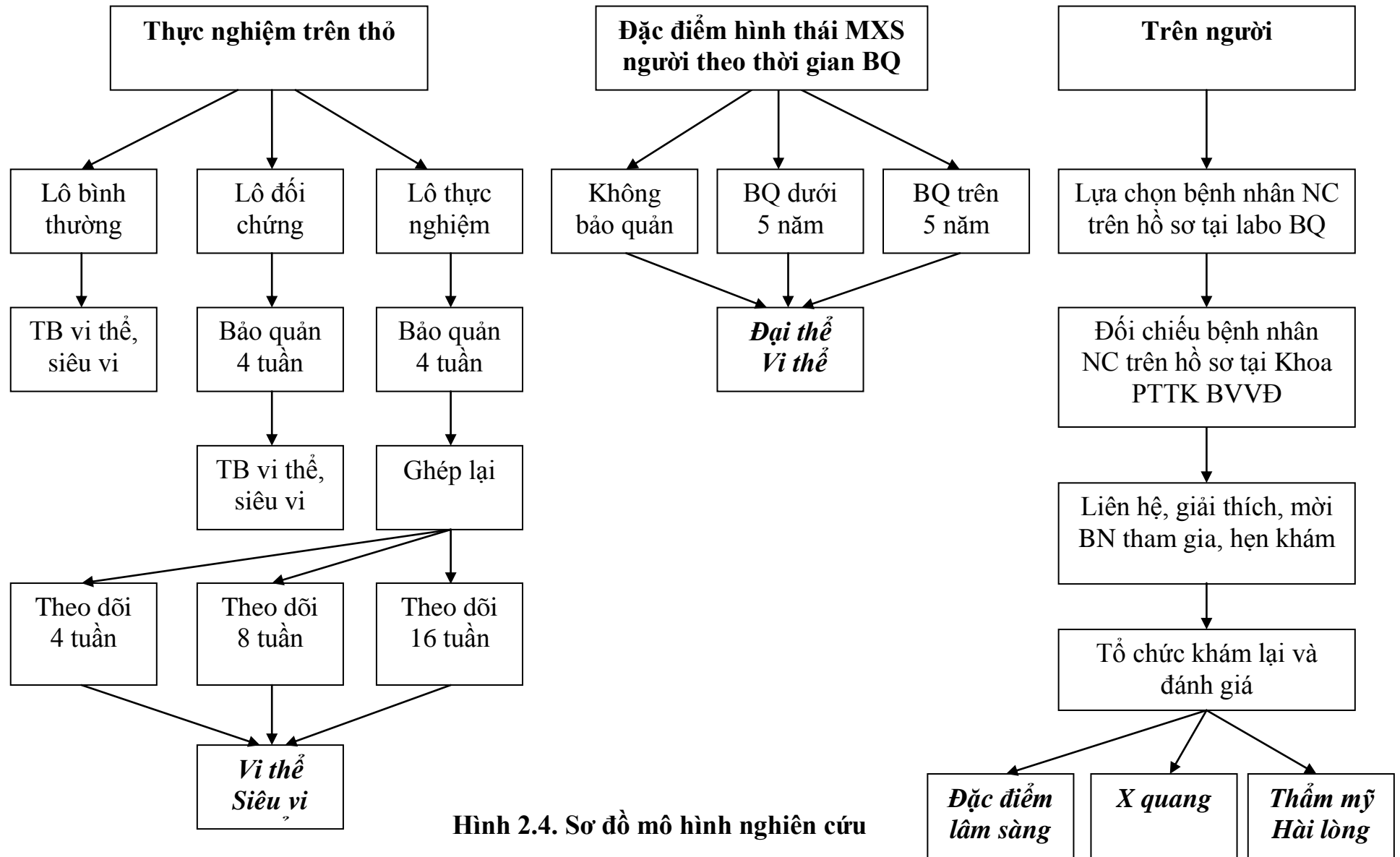
- Bộ môn Mô - Phôi, Trường Đại học Y Hà Nội
- Khoa phẫu thuật thần kinh Bệnh viện Việt Đức Hà Nội.
- Khoa Hình thái - Viện 69 Bộ tư lệnh Bảo vệ Lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh

2.5. Thời gian nghiên cứu: từ tháng 01/2012 đến tháng 6/2014.

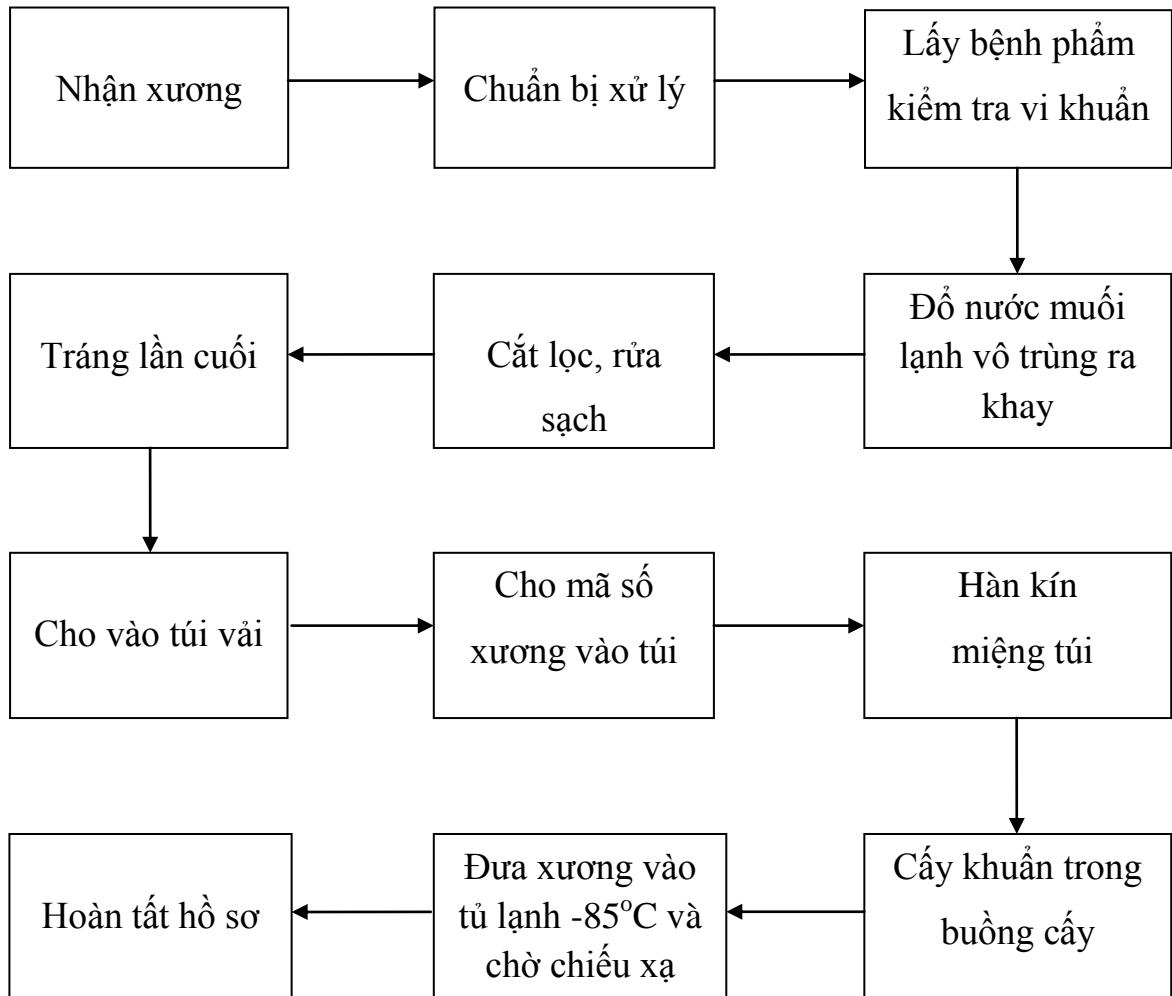
2.6. Phương pháp xử lý số liệu: Số liệu được nhập bằng phần mềm Epidata 2.0. Phân tích số liệu bằng các thuật toán thống kê y học trên phần mềm STATA 10.0 để tính tần số, tỷ lệ phần trăm với các biến định tính; tính trung bình, độ lệch chuẩn với các biến định lượng.

2.7. Đạo đức trong nghiên cứu

- Các mảnh xương sọ người dùng để nghiên cứu phải được sự đồng ý của bệnh nhân và, hoặc người nhà, trưởng labo bảo quản, bác sĩ chuyên khoa phẫu thuật thần kinh.
- Các số liệu thu thập được từ kết quả nghiên cứu chỉ nhằm phục vụ mục đích nghiên cứu khoa học, không nhằm mục đích nào khác.
- Các bệnh nhân nghiên cứu được giải thích rõ ràng về mục đích của nghiên cứu và những lợi ích khi tham gia nghiên cứu.
 - + Những lợi ích của bệnh nhân khi tham gia nghiên cứu:
 - ✧ Bệnh nhân được thăm khám lâm sàng để kiểm tra tình trạng toàn thân và tại chỗ vết mổ sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu.
 - ✧ Bệnh nhân và người nhà bệnh nhân sẽ được thông báo các thông tin liên quan đến tình trạng sức khỏe sau mỗi lần khám lại, được tư vấn xử trí sớm khi phát hiện các biến chứng.
 - + Việc khám kiểm tra sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu không gây ra những tai biến rủi ro cho bệnh nhân tham gia nghiên cứu.
- Sự tham gia của bệnh nhân là hoàn toàn tự nguyện, bệnh nhân có thể tự rút lui khỏi nghiên cứu nếu muốn.



Hình 2.4. Sơ đồ mô hình nghiên cứu



Hình 2.5. Sơ đồ quy trình xử lý, bảo quản lạnh sâu xương sọ

Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu trên thực nghiệm

3.1.1. Biểu hiện toàn thân của thỏ

Sau khi được lấy mảnh xương sọ, các thỏ tỉnh táo, không có biểu hiện nhiễm trùng toàn thân, tại chỗ vết mổ khô, lõm nhẹ, không chảy dịch, thỏ ăn uống bình thường.

Trong 4 tuần chờ ghép lại mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu, các thỏ tăng cân, vùng khuyết xương sờ thấy mềm, lõm nhẹ, sọ da đầu khô, lông mọc che kín vết mổ.

Sau khi được ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu, thỏ ở các nhóm đều khoẻ mạnh, tăng cân, vết mổ khô, sờ vùng ghép bằng phẳng không còn vết lõm, không có di lệch mảnh xương ghép, da đầu liền tốt sau 1 tuần.



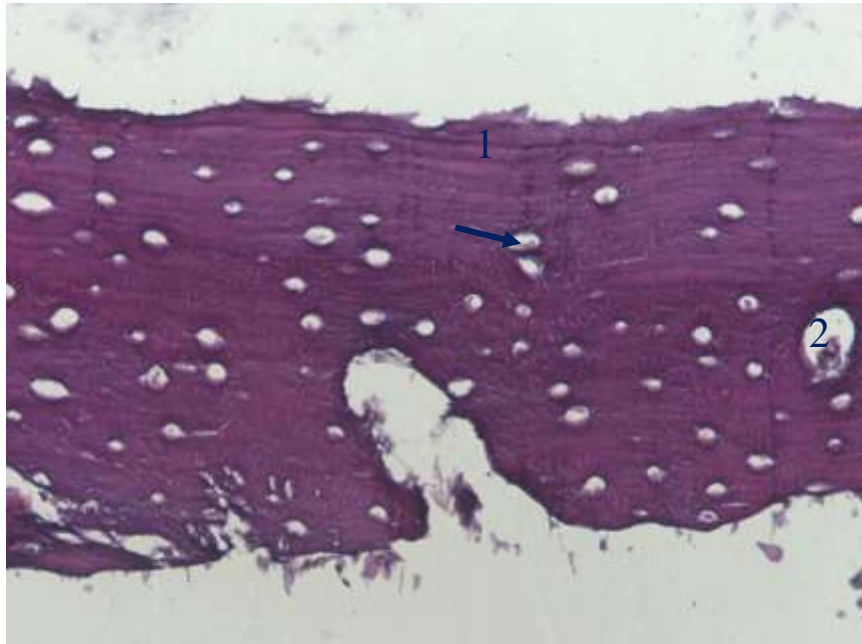
Hình 3.1. Tình trạng thỏ sau lấy mảnh xương sọ bảo quản và ghép tự thân

3.1.2. Đặc điểm đại thể và vi thể xương sọ thỏ ở các nhóm nghiên cứu

3.1.2.1. Lô bình thường và lô đối chứng

Mảnh xương sọ thỏ khi vừa được lấy khỏi hộp sọ để bảo quản lạnh sâu có hình tròn, đường kính 1cm, màu hồng tươi.

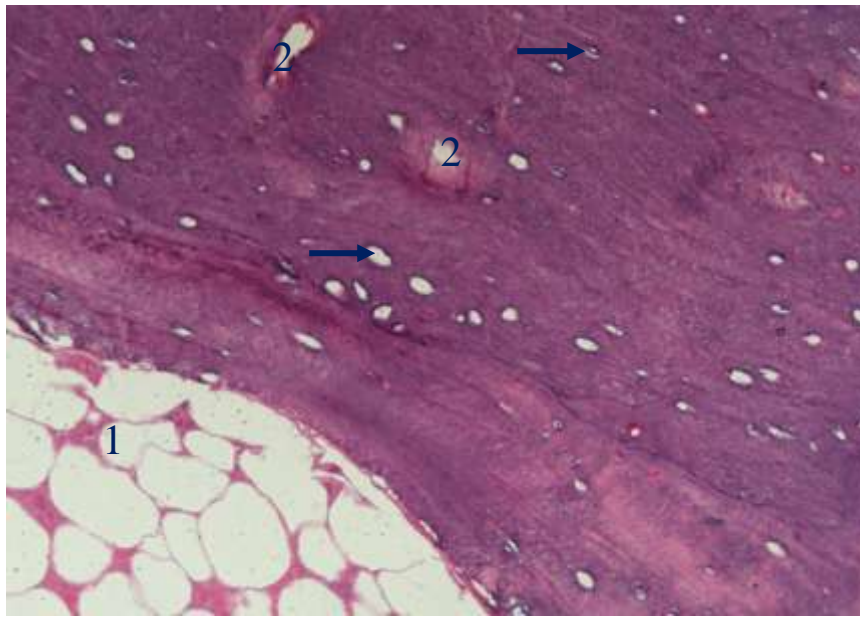
Dưới kính hiển vi quang học, xương sụn được cấu tạo bởi hai bản xương đặc, giữa hai bản xương là các vách xương xen kẽ những hốc chứa tuỷ xương kích thước không đều. Bản xương được tạo bởi lớp mỏng gồm những lá xương có xu hướng song song màng xương, trên đó có các ổ xương chứa tế bào xương. Sát phía hốc tuỷ có một số hệ thống xương Havers (Hình 3.2)



Hình 3.2. Cấu trúc vi thể bản xương sụn lô bình thường (H.E x500)

1. Các lá xương song song; 2. Ống Havers; →: Ổ xương chứa tế bào

Ở lô đối chứng, các mảnh xương sụn được bảo quản lạnh sâu có chiếu tia gamma liều 25 kGy thì có màu sắc nhạt hơn, không còn tổ chức phần mềm, máu tụ. Cấu tạo vi thể mảnh xương sụn đã bảo quản cũng gần tương tự như lô bình thường nhưng các ổ xương sáng hơn, nhiều ổ xương chúng tôi không quan sát thấy tế bào xương, một số ít ổ xương còn tế bào nhưng nhân teo nhỏ, sẫm màu (Hình 3.3).



Hình 3.3. Cấu trúc vi thể bản xương sọ thỏ lô đối chứng (H.E x500)

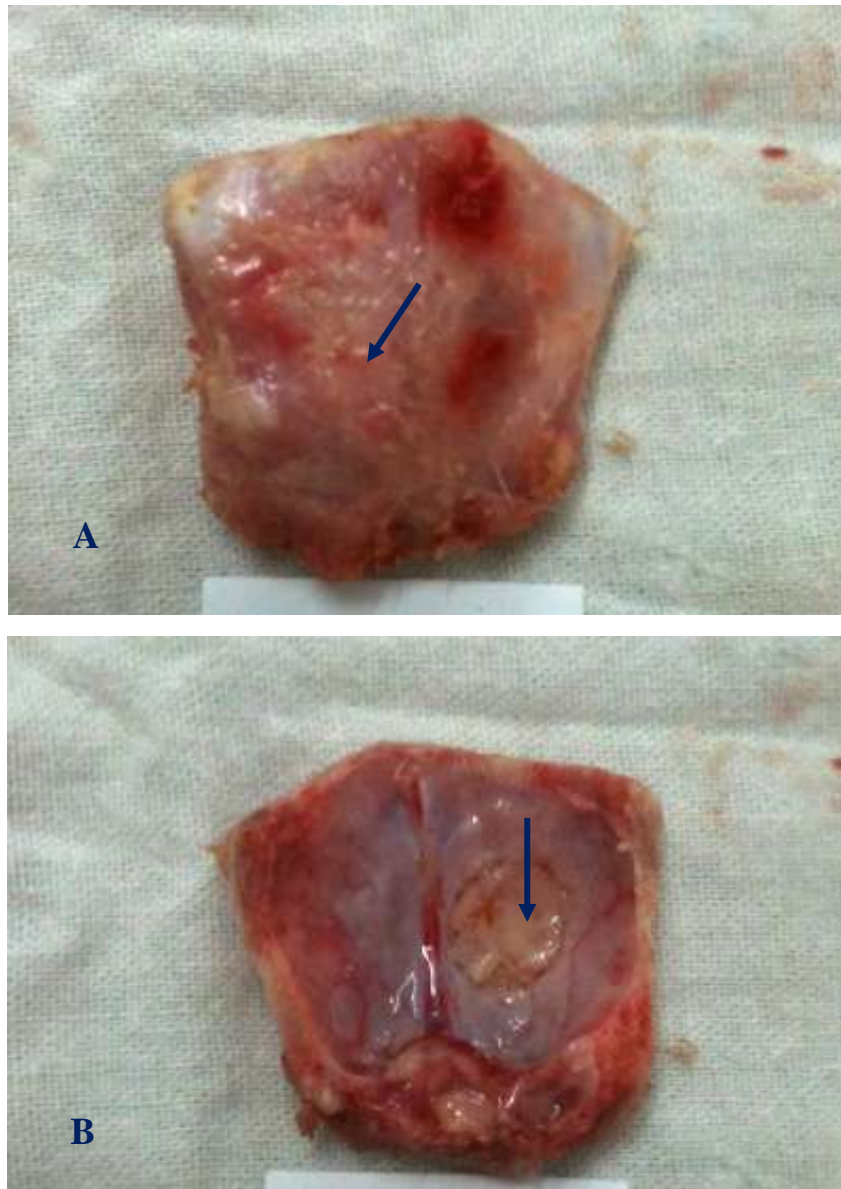
1.Vùng hốc tủy; 2. Ống Havers; —→: Ô xương

3.1.2.2.Lô thực nghiệm

* *Đặc điểm xương sọ thỏ sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu nhóm 4 tuần (nhóm TN1)*

Sau khi bộc lộ da, kết quả quan sát trên hộp sọ các thỏ bằng mắt thường thấy: ở vùng xương ghép có màu đỏ sẫm hơn xương xung quanh. Ranh giới giữa xương chủ, xương ghép rõ ràng và được gắn kết bởi mô liên kết nhưng chưa vững chắc (Hình 3.4-A).

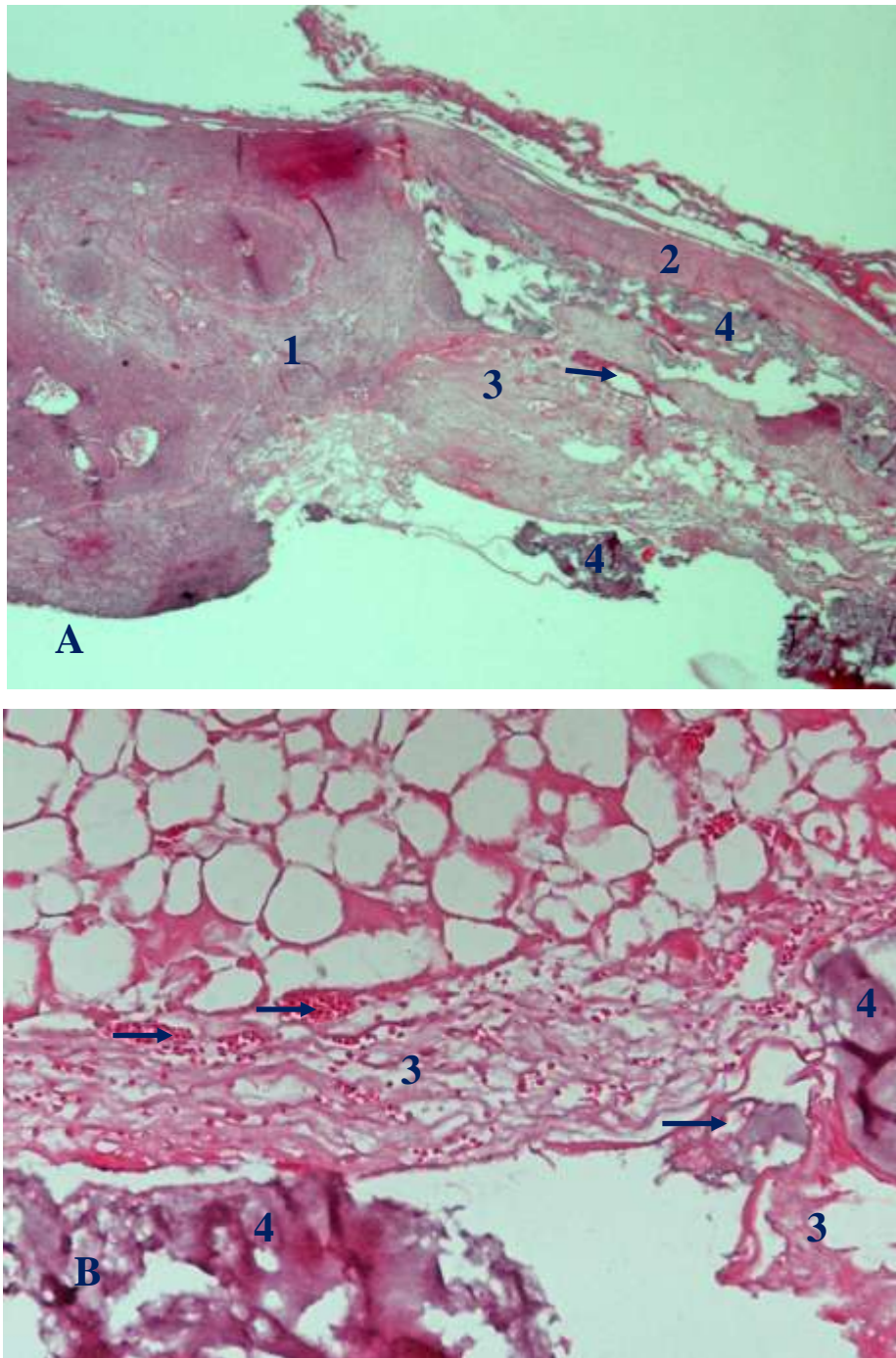
Khi bộc lộ màng liên kết, mặt ngoài mảnh xương ghép có màu vàng, khá bằng phẳng, mật độ mềm; mặt trong của mảnh xương ghép hơi lõm so với bề mặt xương lành, có những ổ khuyết nhỏ, sự gắn kết với xương chủ còn lỏng lẻo (Hình 3.4-B).



Hình 3.4. Đại thể xương sọ thỏ lô thực nghiệm nhóm TN1

(A): Mặt ngoài; (B): Mặt trong; **→** : Mảnh xương ghép

Hình ảnh dưới kính hiển vi quang học cho thấy màng liên kết phủ mặt ngoài vùng xương ghép có hiện tượng phản ứng dày lên. Có sự xuất hiện của các tế bào viêm như tương bào, bạch cầu. Mô liên kết – mạch tân tạo do tổ chức liên kết và mạch máu tăng sinh, xâm nhập vào vùng ranh giới giữa xương lành và xương ghép, xen kẽ với các mảnh xương ghép tồn tại dưới dạng các mảnh nhỏ (Hình 3.5).



Hình 3.5. Vi thể xương sọ thỏ lô thực nghiệm nhóm TN1 (H.E)

A. Độ phóng đại x100 lần

B. Độ phóng đại x250 lần

1. Vùng xương chủ;

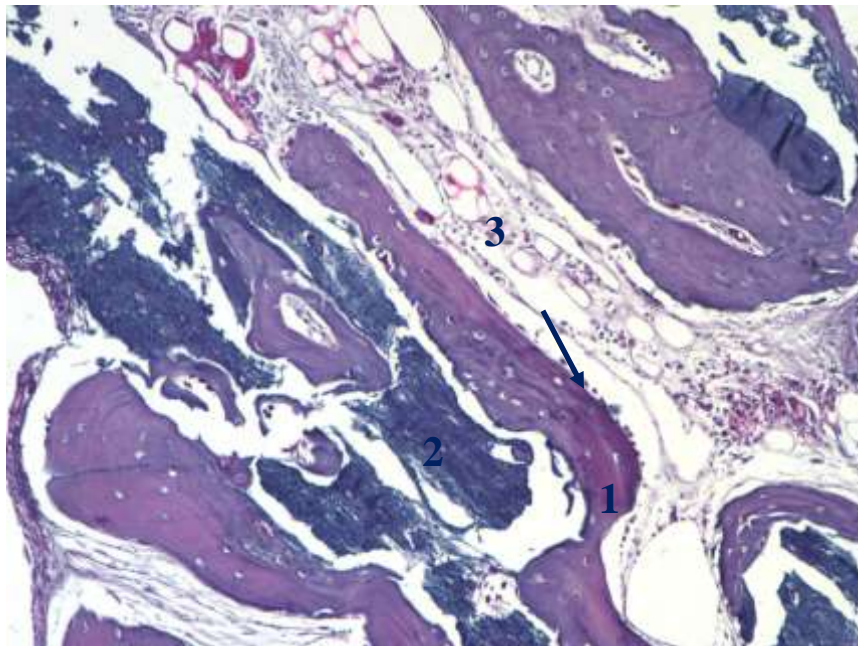
2. Màng liên kết phản ứng dày lên;

3. Mô liên kết – mạch; 4. Mảnh xương ghép; —>: Mạch máu tân tạo

* *Đặc điểm xương sọ thỏ sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu nhóm 8 tuần (nhóm TN2)*

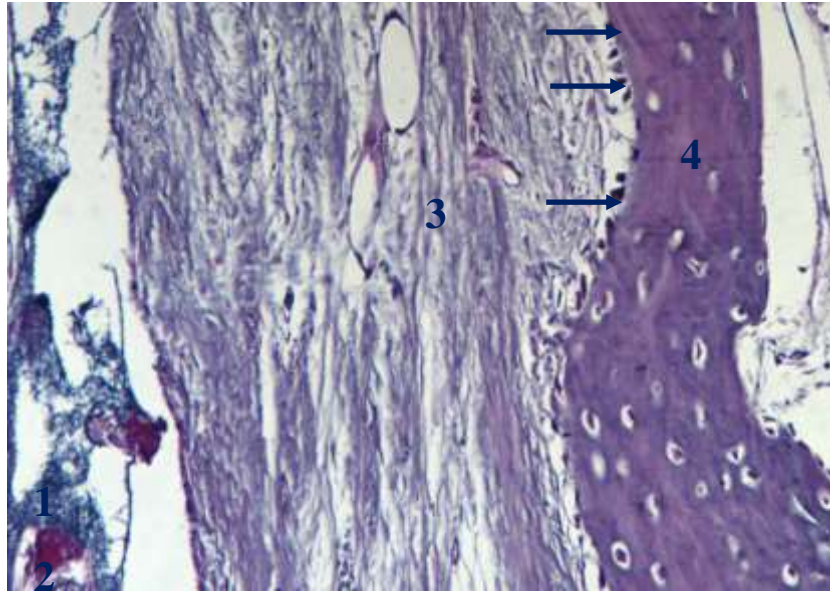
Sau 8 tuần ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu, mặt ngoài vùng xương ghép sẫm màu hơn xung quanh, ranh giới xương lành và xương ghép khá rõ; mặt trong mảnh xương ghép màu vàng nhạt, bờ mảnh xương ghép hơi lõm so với mặt trong xương, bề mặt sần sùi.

Khi quan sát hình ảnh trên các tiêu bản vi thể, chúng tôi thấy có hiện tượng tạo xương mới trùm lên các phần xương ghép cũ và đan xen trên nền mô liên kết xâm nhập vào trung tâm. Các mô liên kết và mạch máu tân tạo xâm nhập vào mảnh ghép. Tạo cốt bào tạo thành dãy sát bề mặt lá xương. Các mô liên kết có xu hướng tạo các hốc tủy chứa tủy tạo huyết và tế bào mỡ (Hình 3.6, hình 3.7).



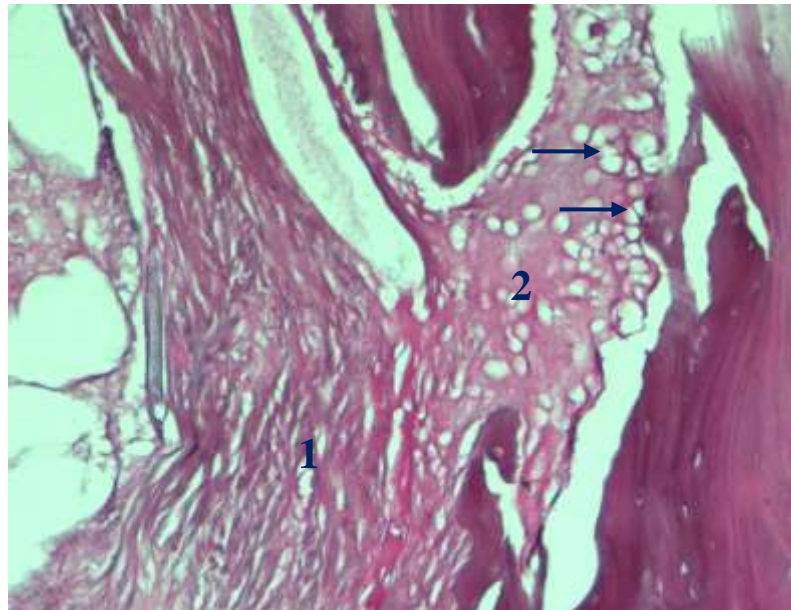
Hình 3.6. Vi thể xương sọ thỏ lô thực nghiệm nhóm TN2 (H.E x250)

- 1.Xương mới; 2. Mảnh xương ghép;
3.Mô liên kết – mạch xâm nhập; → Dãy tạo cốt bào.



Hình 3.7. Vi thể xương sọ thỏ lô thực nghiệm nhóm TN2 (H.E x500)

1. Mảnh xương ghép; 2. Hủy cốt bào
3. Mô liên kết – mạch; 4. Xương mới; —→ Tạo cốt bào.



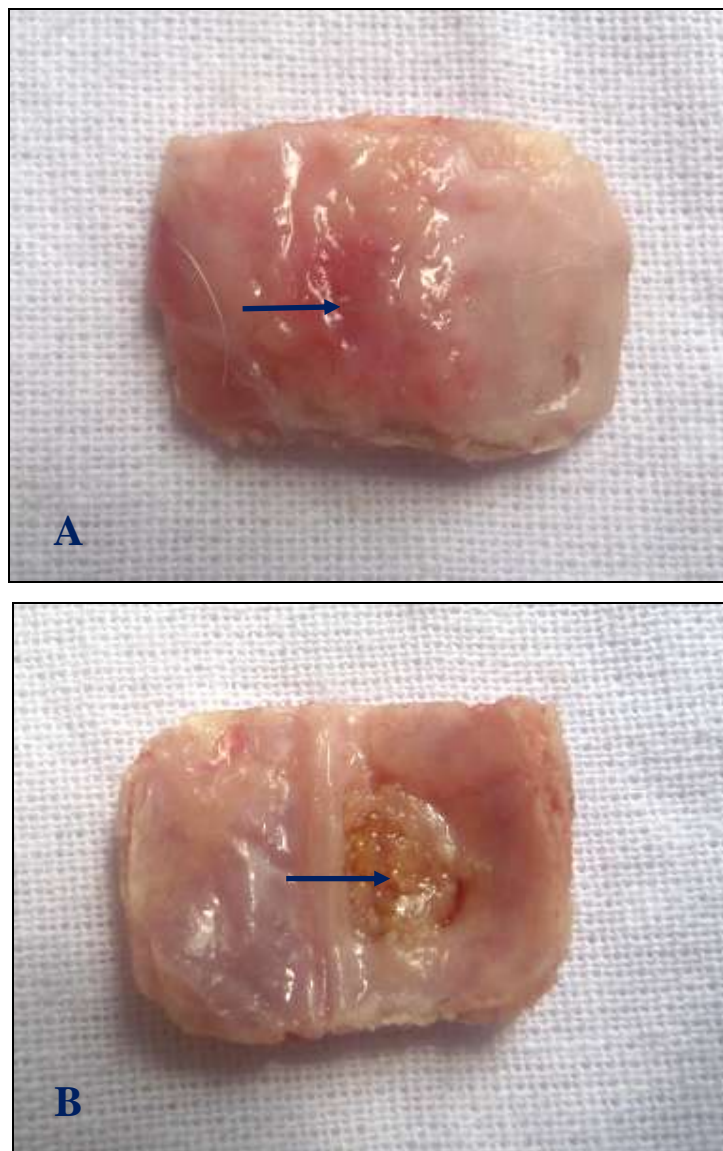
Hình 3.8. Vi thể xương sọ thỏ lô thực nghiệm nhóm TN2 (H.E x500)

1. Mô liên kết – mạch; 2. Vùng xương đang hình thành;
—→ : Tế bào hình cầu sáng màu dạng nguyên bào sụn

Vùng xương lưới tiếp giáp xương chủ có các tế bào hình cầu, sáng màu dạng nguyên bào sụn nằm trên mô nền tiền cốt ưa màu đỏ eosin (Hình 3.8).

* Đặc điểm xương sọ thỏ sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu nhóm 16 tuần (nhóm TN3).

Quan sát đại thể thấy đường ghép đã khó xác định hơn. Mặt ngoài bản xương ghép khá bằng phẳng và chắc. Mặt trong bản xương lồi lõm không đều nhưng rắn chắc, có một số ổ khuyết nhỏ, ranh giới mảnh xương ghép và xương chủ còn khá rõ; sự gắn kết chắc chắn, tuy nhiên có những chỗ chưa hoàn toàn được lấp đầy (Hình 3.9).

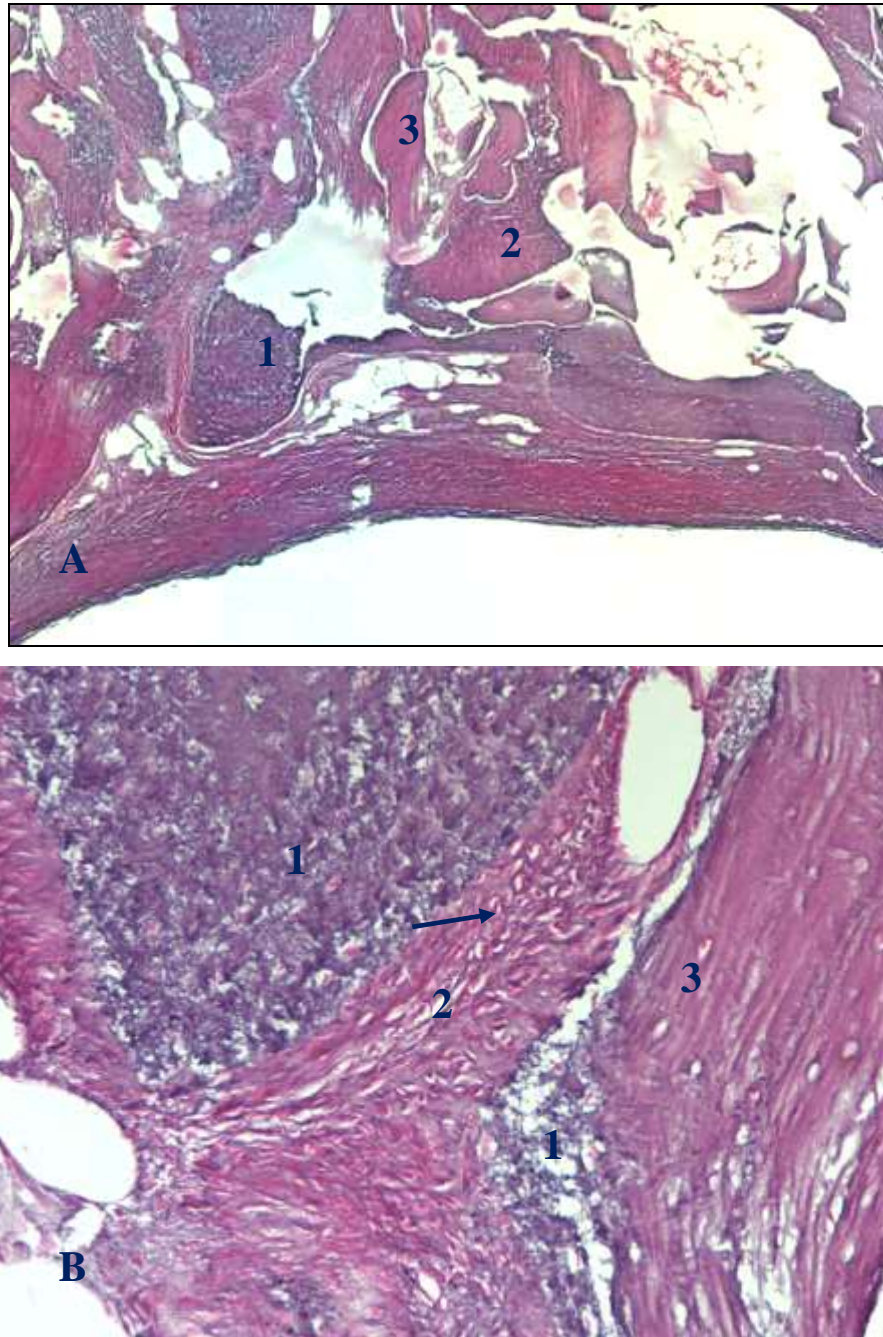


Hình 3.9. Mảnh xương sọ thỏ lô thực nghiệm nhóm TN3 (hình mũi tên)

(A): Mặt ngoài

(B): Mặt trong

Ở mức độ vi thể: Độ dày lớp mô liên kết bề mặt mảnh ghép, vùng trung tâm vẫn còn khá dày. Hiện tượng viêm, tăng sinh tân mạch giảm.



Hình 3.10. Cấu trúc mảnh xương sọ thử lô thực nghiệm nhóm TN3 (H.E)

(A): Độ phóng đại x100 lần; (B): Độ phóng đại x500 lần;

1. Mảnh xương ghép; 2. Mô xơ – sụn; 3. Xương mới.

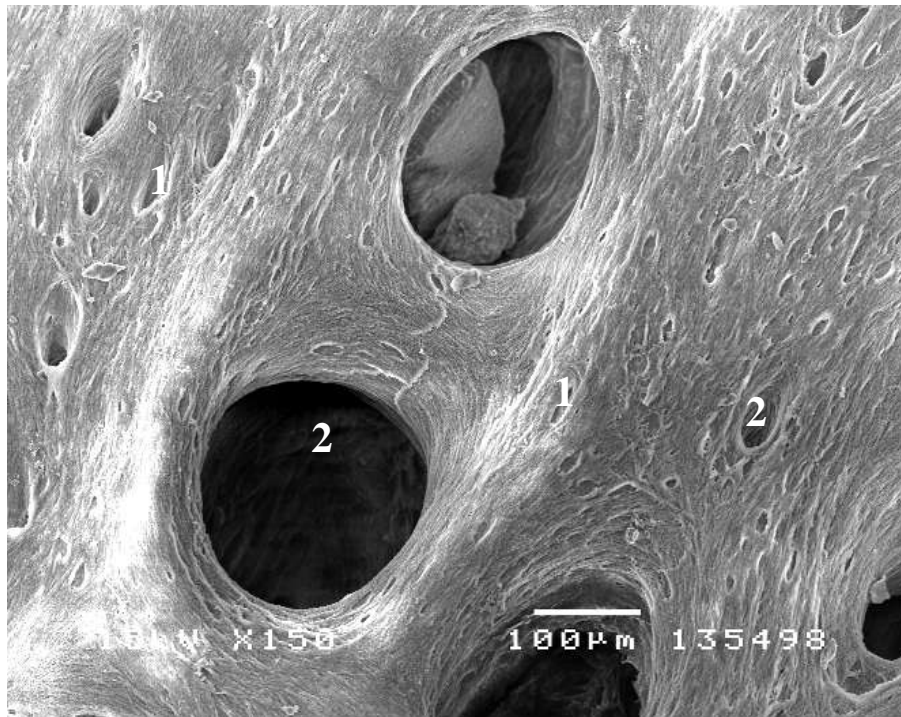
→ : Nguyên bào sụn trở thành tạo cốt bào để tạo xương

Mảnh xương ghép chỉ còn dạng “hòn đảo”, không liên tục. Mô tân tạo dạng can xơ – sụn tăng sinh mạnh, giàu tế bào giống nguyên bào sụn, can xơ – sụn được thay thế dần bằng mô xương mới, giàu tế bào xương vùi trong chất căn bản xương đang được khoáng hóa (Hình 3.10).

3.1.3. Đặc điểm xương sụn thỏ dưới kính hiển vi điện tử quét

3.1.3.1. Lô bình thường và lô đổi chứng

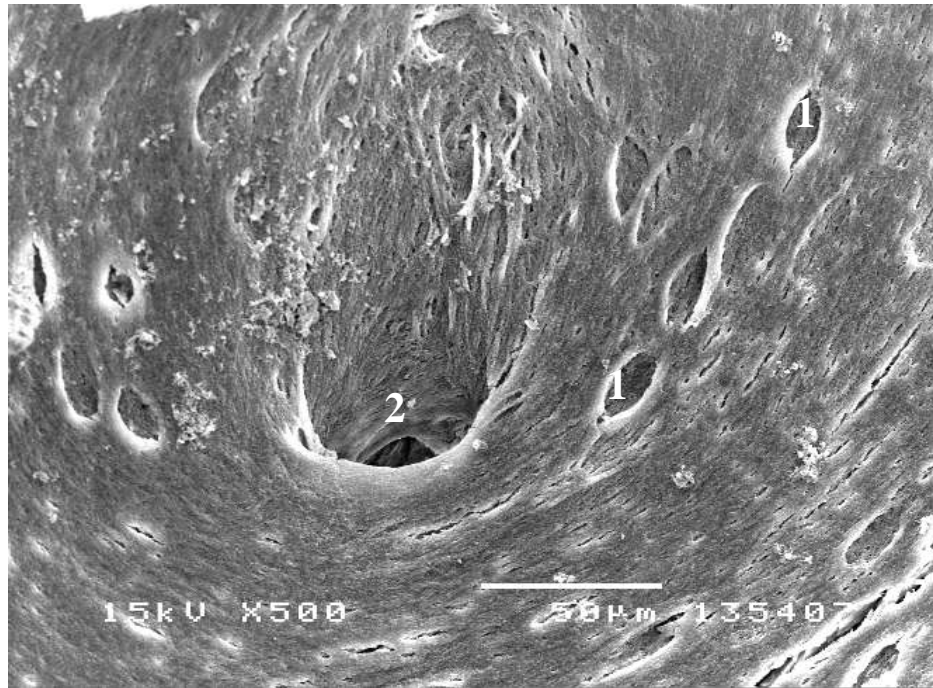
Dưới kính hiển vi điện tử quét (HVĐTQ), xương sụn thỏ ở lô bình thường có hình ảnh các mạch máu và các ổ xương nằm xen giữa chất nền mô xương. Trên các lá xương, các ổ xương hình tròn hoặc hình ovan. Bề mặt tự nhiên của xương không bằng phẳng, xen với vùng xương đã hình thành có rải rác vùng xương đang hình thành và vùng phá huỷ xương (Hình 3.11).



**Hình 3.11. Xương sụn thỏ lô bình thường dưới kính HVĐTQ,
(độ phóng đại x150 lần)**

1. Các ổ xương; 2. Mạch máu

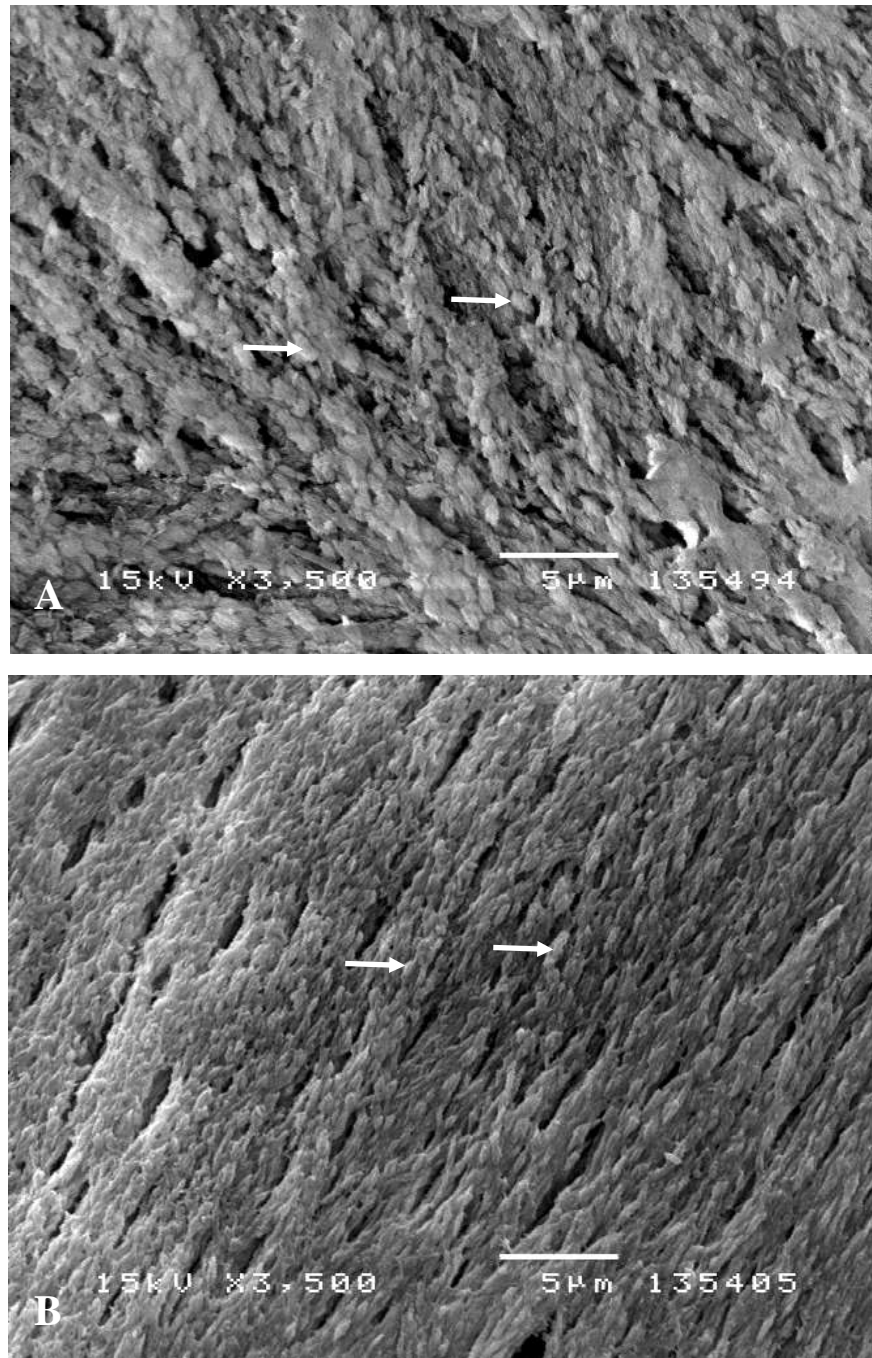
Dưới kính hiển vi điện tử quét với độ phóng đại 500 lần, ở lô đối chứng hình ảnh mô xương sọ thỏ cũng tương tự như lô bình thường, nhiều ổ xương hình ovan xen giữa các lá xương (Hình 3.12).



**Hình 3.12. Xương sọ thỏ lô đối chứng dưới KHVĐTQ,
(độ phóng đại x500 lần)**

1. Các ổ xương; 2. Mạch máu

Ở độ phóng đại lớn 3500 lần, các chất khoáng xương được quan sát thấy có dạng hạt hình trụ, kích thước các hạt khoáng này khá đồng đều, các hạt khoáng được sắp xếp thành những chuỗi dọc hoặc xiên theo hướng của các sợi collagen trong xương. Ở lô bình thường, các hạt chất khoáng lớn và thô hơn so với lô đối chứng (Hình 3.13).



Hình 3.13. Chất nền xương sọ thỏ dưới kính HVĐTQ (độ phóng đại x3500)

A. Lô bình thường;

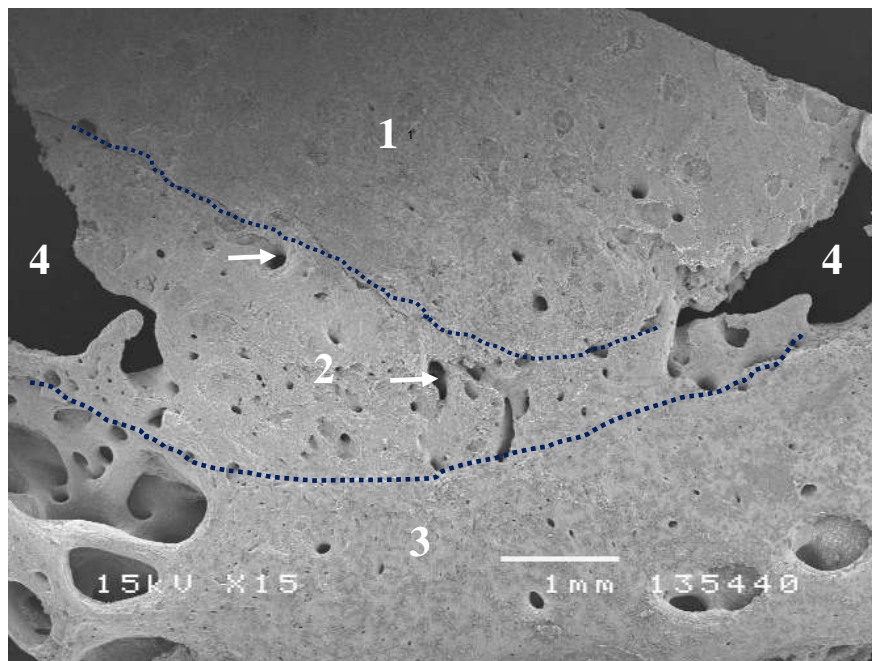
B. Lô đối chứng

→: Chất khoáng dạng hạt xếp thành chuỗi

3.1.3.2. Lô thực nghiệm

* Đặc điểm mô ghép tự thân xương sọ thỏ bảo quản lạnh sâu nhóm TN1

Dưới kính hiển vi điện tử quét ở độ phóng đại 15 lần, trên tổng thể mẫu xương có xuất hiện những vùng sáng màu hơn, có nhiều ống tròn nhỏ đó là hình ảnh của mạch máu; vùng này nằm nổi ở giữa mảnh xương ghép và xương chủ, đây chính là hình ảnh vùng cầu xương. Những nơi giữa mảnh xương ghép và xương chủ chỉ là các khoảng trống sẫm màu, mép rìa mảnh xương ghép và xương chủ còn ở cách xa nhau đó là nơi chưa liền nên không có hình ảnh cầu xương. Trên bề mặt mảnh xương ghép, các ổ xương lớn hơn, mảnh xương ghép so với xương chủ không có sự khác biệt nhiều (Hình 3.14).

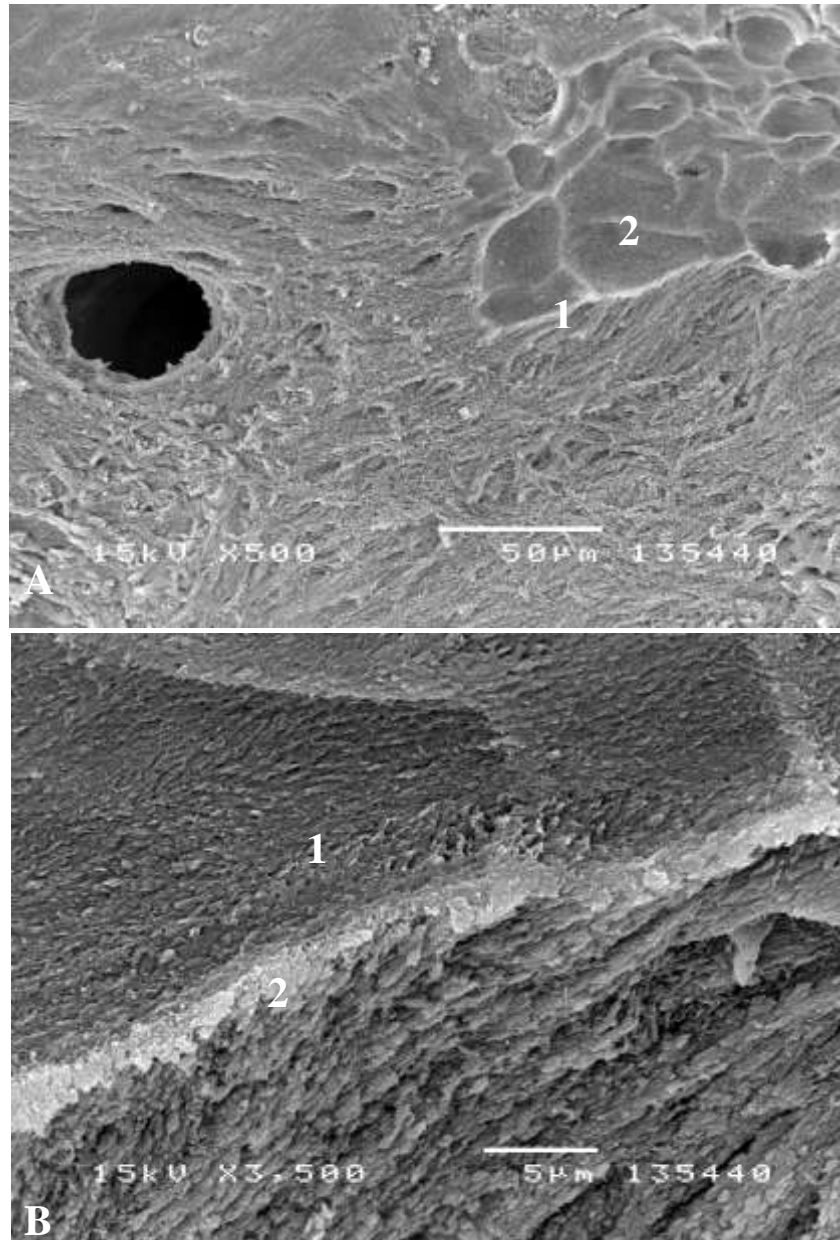


Hình 3.14. Xương sọ thỏ ở lô thực nghiệm nhóm TN1 dưới kính HVĐTQ, (độ phóng đại x15 lần)

1. Mảnh xương ghép; 2. Vùng cầu xương (giới hạn bởi đường đánh dấu....);
 → : Mạch máu; 3. Xương chủ; 4. Vùng khoảng trống chưa liền xương.

Khi phóng đại lớn 3500 lần, vùng bề mặt tự nhiên mảnh xương chủ, các hạt khoáng hoá đồng đều xếp theo hướng nhất định, còn ở vùng mảnh xương

ghép xuất hiện nhiều vết lõm đa dạng làm mất cấu trúc lá xương và làm cho bề mặt chất nền nham nhỡ, không bằng phẳng, phủ trên bề mặt có lớp sáng màu, dày mỏng không đều, lấm chấm dạng sương, đó là các tinh thể khoáng (Hình 3.15).



Hình 3.15. Xương sọ thỏ lô thực nghiệm nhóm TN1 dưới kính HVĐTQ

A. Độ phóng đại x500 lần;

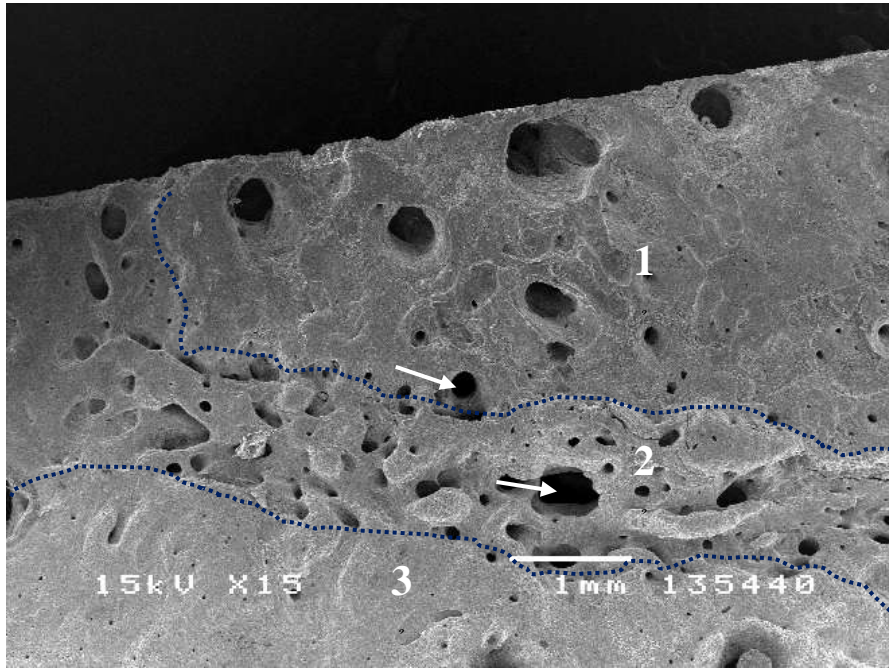
B. Độ phóng đại x3500 lần

1. Vùng xương bị phá huỷ;

2. Vùng đang hình thành xương mới

** Đặc điểm mô ghép tự thân xương sọ thỏ bảo quản lạnh sâu nhóm TN2*

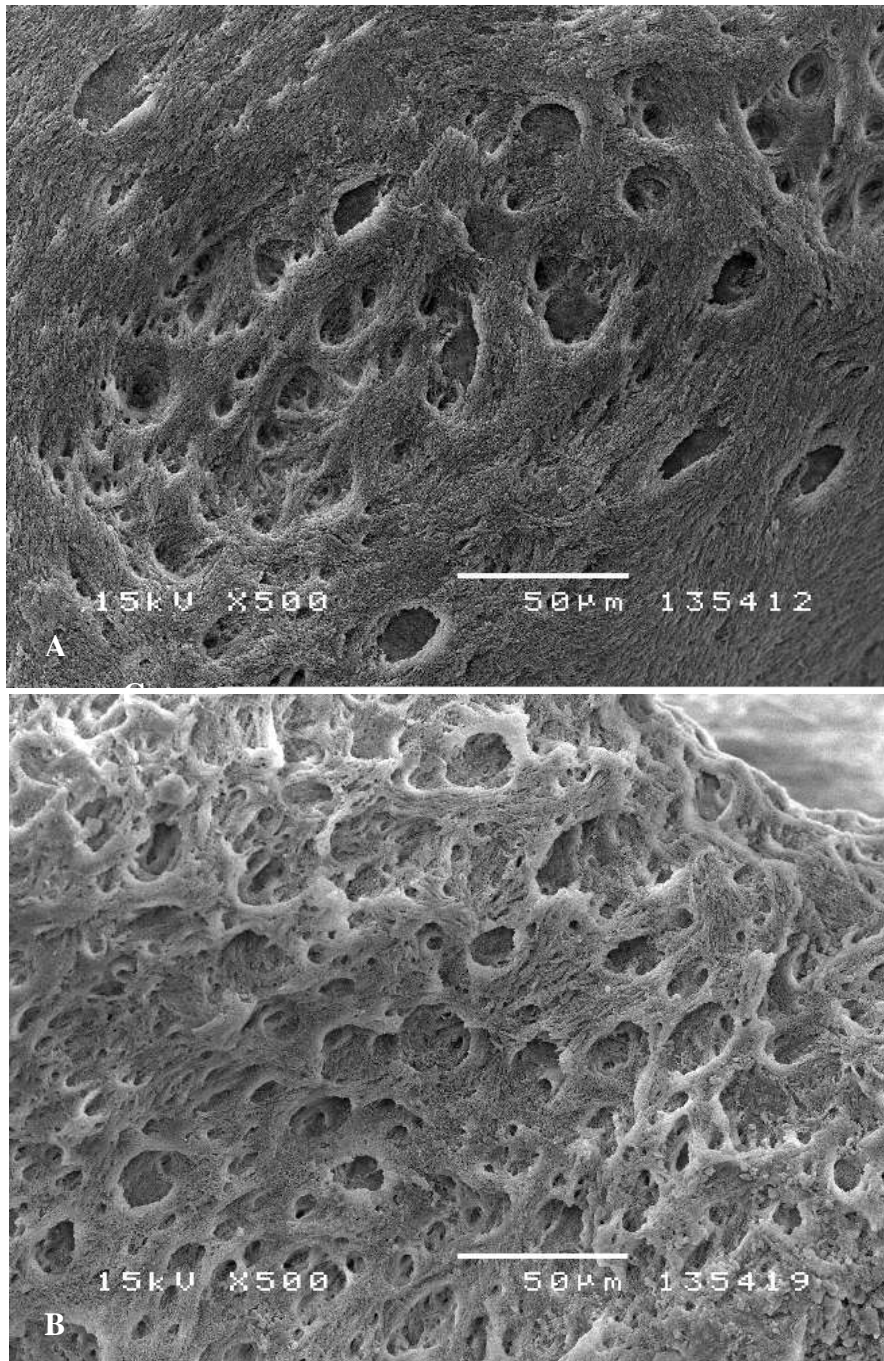
Ở nhóm này, vùng cầu xương và mảnh xương ghép có nhiều lỗ nhỏ hình tròn của các mạch máu hơn so với nhóm TN1. Chất nền xung quanh mạch máu là tổ chức xâm nhập có mật độ điện tử gần hơn với vùng mảnh xương ghép và xương chủ (Hình 3.16).



Hình 3.16. Vùng ghép xương sọ thỏ ở lô thực nghiệm nhóm TN2 dưới kính HVĐTQ, độ phóng đại x15 lần.

1. Mảnh xương ghép; 2.Vùng cầu xương (giới hạn bởi đường đánh dấu);
3.Xương chủ; —→: Mạch máu

Độ phóng đại x500 lần dưới kính hiển vi điện tử quét cho thấy, trên bề mặt các lá xương ở cả xương chủ và xương ghép đều có hiện tượng không thuần nhất do có sự phá hủy xương tạo những vết lõm đa dạng và kích thước khác nhau, mảnh xương ghép có mức độ phá huỷ xương nhiều và dày hơn. Xung quanh bờ và ở đáy các ổ chứa tế bào xương cũng nham nhở, sắc cạnh và có lắng đọng các hạt tinh thể khoáng mới hình thành với kích thước to nhỏ không đều và tạo thành lớp sáng màu (Hình 3.17).

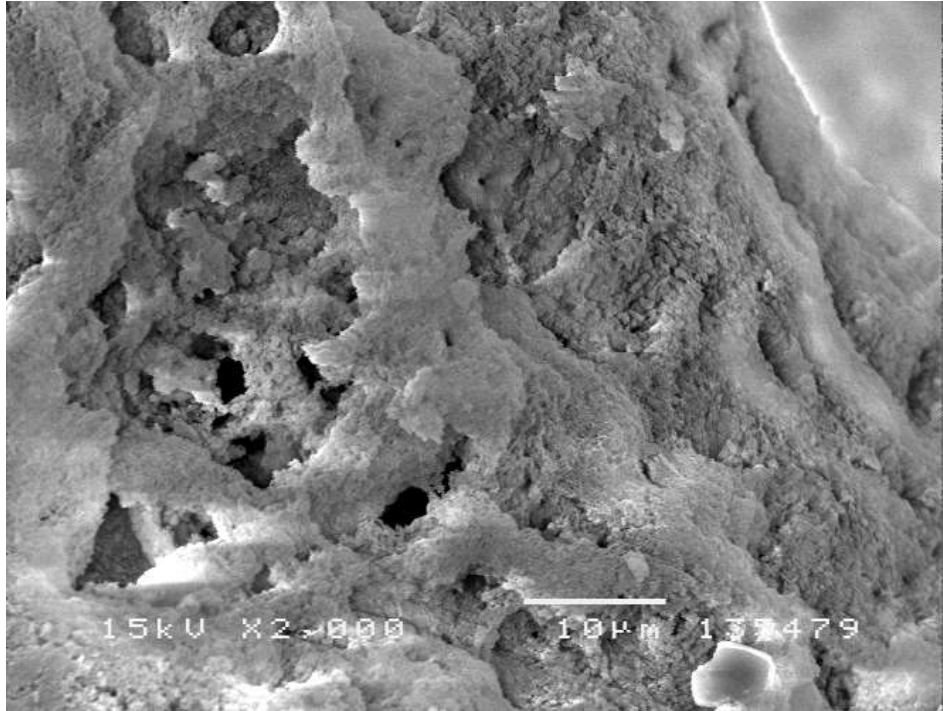


Hình 3.17. Hình ảnh vùng xương sọ thỏ bị phá hủy ở lô thực nghiệm nhóm TN2 dưới kính HVĐTQ, độ phóng đại x500 lần

A. Xương chủ; B. Mảnh xương ghép

Quan sát ở độ phóng đại x2000 lần ở vùng cầu xương, trên chất nền tổ chức xâm nhập xen giữa hai mảnh xương này cũng có lắng đọng rất nhiều các tinh thể khoáng ở dạng hạt với các mức độ to nhỏ khác nhau, sắp xếp lộn

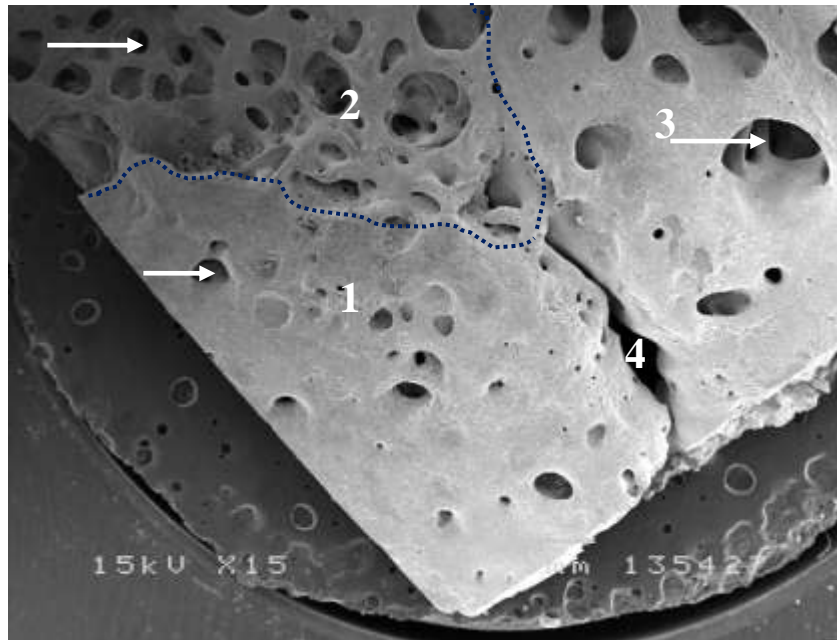
xộn theo nhiều hướng tạo thành các lớp chồng chất xung quanh các ổ chứa tế bào xương (Hình 3.18).



Hình 3.18. Các hạt tinh thể khoáng mới hình thành ở vùng cầu xương, lô thực nghiệm nhóm TN2 dưới kính HVĐTQ, độ phóng đại x2000 lần.

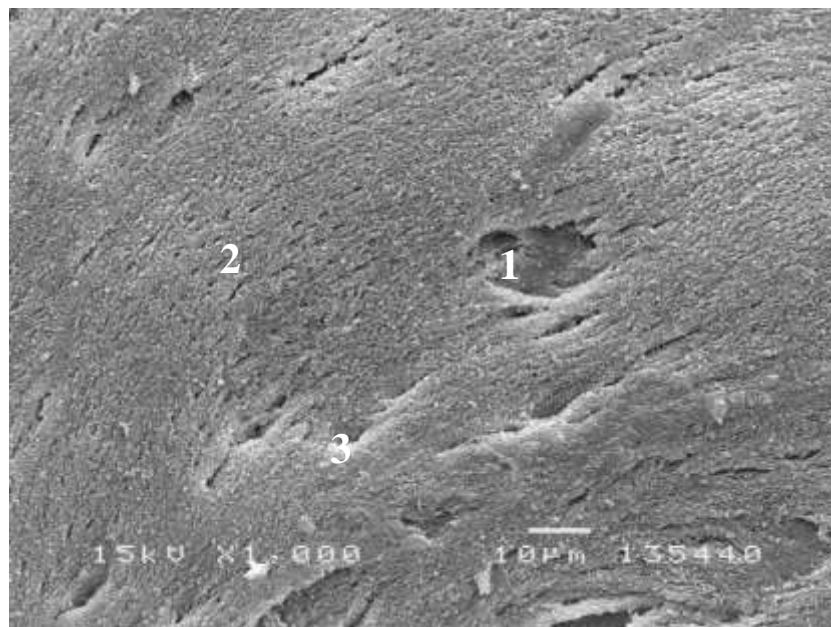
** Đặc điểm mô ghép tự thân xương sọ thỏ bảo quản lạnh sâu nhóm TN3*

Giai đoạn sau ghép 16 tuần, ở độ phóng đại x15 lần dưới kính hiển vi điện tử quét, giữa mảnh ghép và xương chủ có những hình ảnh biểu hiện quá trình hoà nhập liên xương, nhưng vẫn có chỗ chưa liền. Cả ba vùng xương chủ, cầu xương và mảnh xương ghép đều có nhiều mạch máu (Hình 3.19). Vùng cầu xương có hiện tượng khoáng hoá và có cấu trúc lá xương mới hình thành, có các ổ chứa tế bào xương (Hình 3.20).



Hình 3.19. Vùng ghép xương sọ thỏ ở lô thực nghiệm nhóm TN3 dưới kính HVĐTQ, độ phóng đại x15 lần

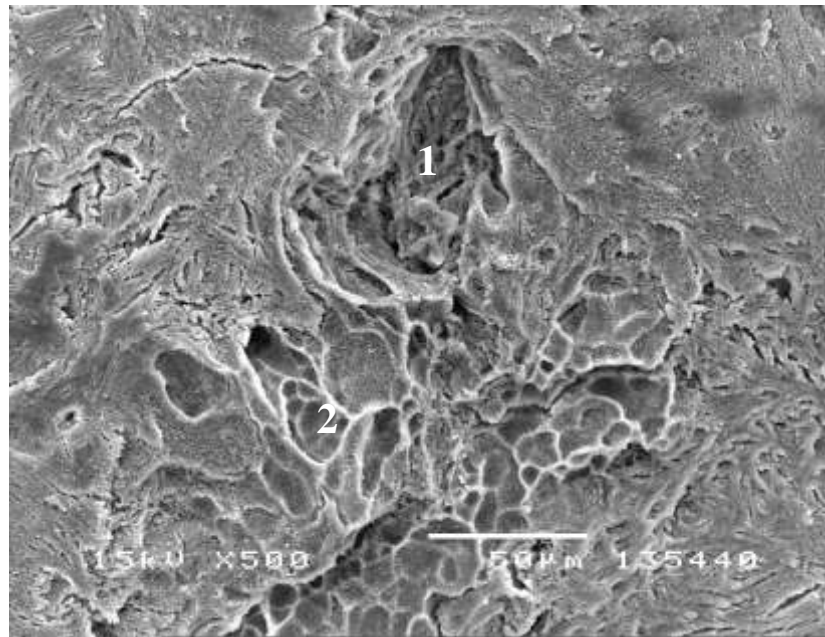
1. Mảnh xương ghép; 2. Vùng cầu xương (giới hạn bởi đường đánh dấu);
3. Xương chủ; 4. Khoảng trống chưa liền xương; →: Mạch máu



Hình 3.20. Vùng cầu xương ở xương sọ thỏ lô thực nghiệm nhóm TN3 dưới kính HVĐTQ, độ phóng đại x1000 lần.

1. Ô xương; 2. Chất nền lá xương mới; 3. Tinh thể khoáng lắng đọng

Ở mảnh xương ghép hiện tượng phá hủy xương xuất hiện nhiều hơn, nơi bị phá hủy có hình dạng lõm lõ chỗ với bờ sắc nhọn, các tinh thể khoáng lắng đọng nhưng ở mức độ mới nên không nhiều, một vài vị trí có biểu hiện của quá trình lắng đọng khoáng đầu tiên, bề mặt khoáng hoá của xương có hình ảnh những đám mờ ở đáy các hốc lõm của bề mặt phá hủy xương (Hình 3.21).



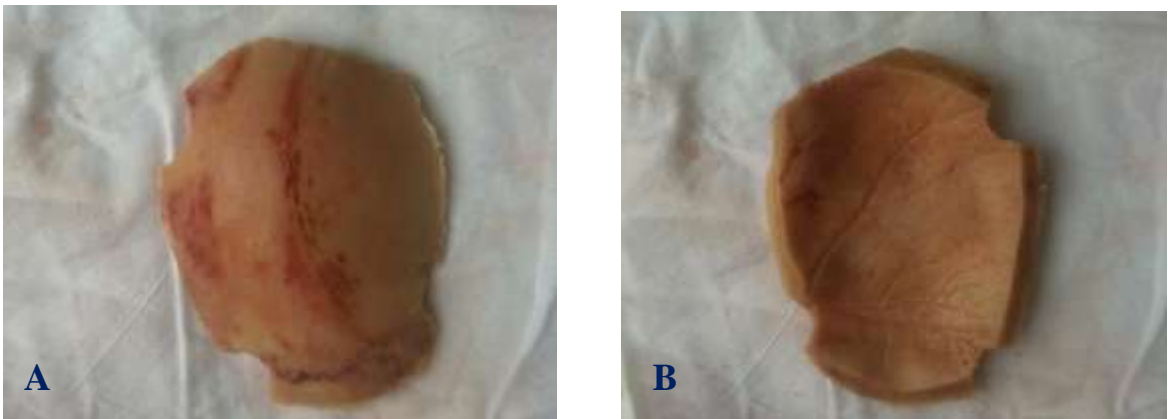
Hình 3.21. Vùng mảnh xương ghép bị phá hủy ở lô thực nghiệm nhóm TN3 dưới kính HVĐTQ, độ phóng đại x500 lần.

1. Ổ xương; 2. Ổ phá hủy xương có tinh thể khoáng lắng đọng

3.2. Sự thay đổi cấu trúc hình thái của các mảnh xương sọ người bảo quản lạnh sâu theo thời gian.

3.2.1. Đặc điểm đại thể mảnh xương sọ theo thời gian bảo quản lạnh sâu

Bề mặt ngoài và mặt trong các mảnh xương sọ người bảo quản lạnh sâu chiếu tia gamma liều 25kGy với thời gian dưới 5 năm (4 năm 8 tháng) có màu vàng nhạt hoặc sắc hồng nhạt (Hình 3.22).

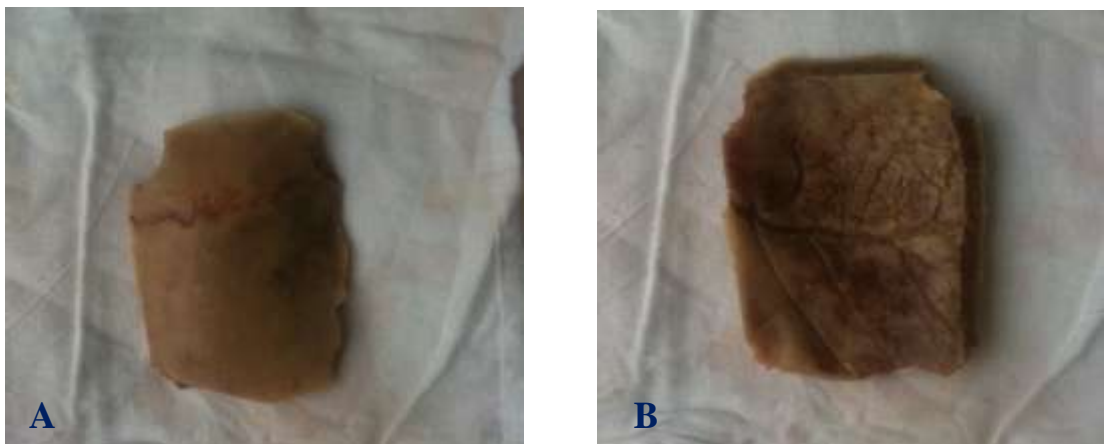


Hình 3.22. Mẫu xương sọ người được bảo quản lạnh sâu 4 năm 8 tháng

A. Mặt ngoài;

B. Mặt trong

Ở nhóm xương sọ người được bảo quản 6 năm, cả mặt trong và mặt ngoài của các mảnh xương đều có màu vàng nhạt hoặc thâm đen, mật độ xương không còn chắc (Hình 3.23).



Hình 3.23. Mẫu xương sọ người được bảo quản lạnh sâu 6 năm

B. Mặt ngoài;

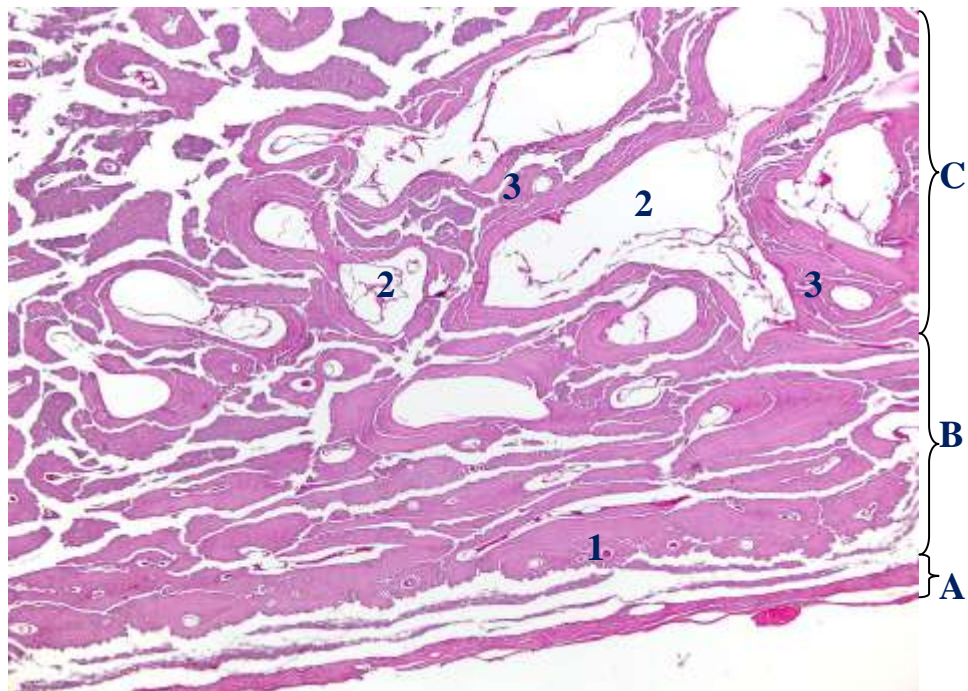
B. Mặt trong

3.2.2. Đặc điểm vi thể của các mảnh xương sọ người theo thời gian bảo quản lạnh sâu

3.2.2.1. Đặc điểm các mảnh xương sọ không bảo quản lạnh sâu (nhóm N1)

Với độ phóng đại 100 lần và 250 lần dưới kính hiển vi quang học cho thấy mẫu xương lấy làm tiêu bản vẫn còn màng xương, bản xương đặc phía ngoài dày hơn bản trong, ở giữa hai bản xương đặc là xương xốp. Nằm ngay

sát phía trong màng bản xương là các lá xương song song dán sát nhau, ở phía trong các lá xương này là các hệ thống Havers nằm sát nhau, trong đó có các hệ thống Havers điển hình và hệ thống Havers trung gian, ở giữa là xương Havers xếp với các bè xương kích thước khác nhau nằm xen các hóc tủy khá đa dạng và có chứa tủy tạo huyết, rải rác cạnh các bè xương có hình ảnh hệ thống Havers điển hình (Hình 3.24 và hình 3.25)



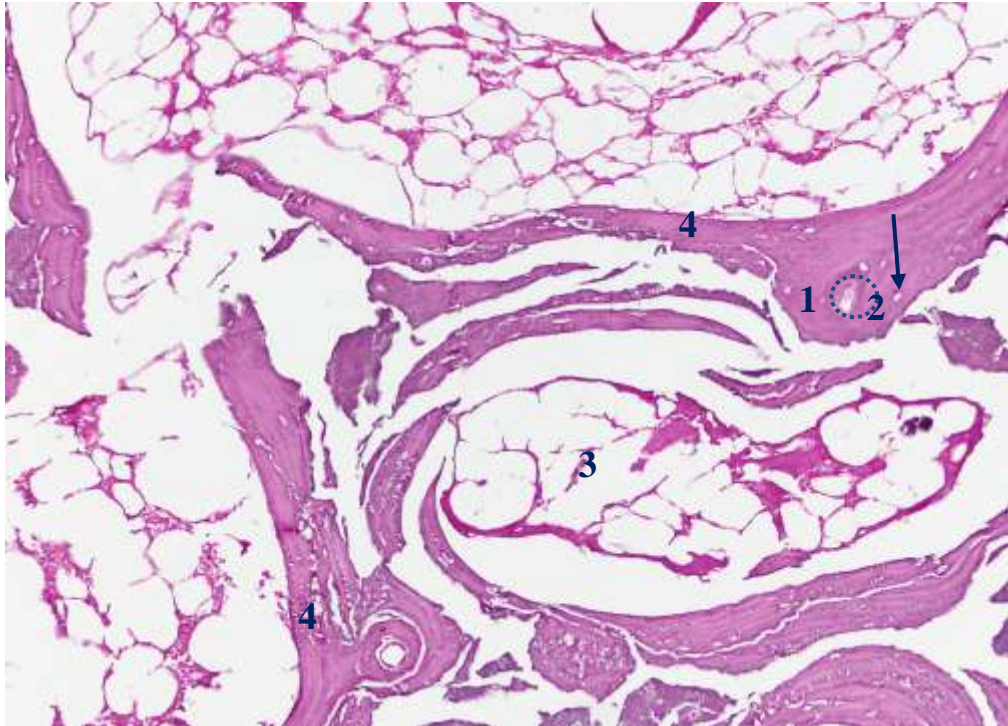
Hình 3.24. Cấu trúc vi thể xương sọ người nhóm N1(H.E x100)

A. Màng xương; B. Vùng xương đặc; C. Vùng xương xốp

1. Hệ thống Havers điển hình ; 2. Hóc tủy;

3. Bè xương của xương xốp có hệ thống Havers điển hình.

Có thể quan sát thấy rất rõ ở những hệ thống Havers điển hình có các ống Havers được bao quanh bởi các lá xương khép kín xung quanh, trên các lá xương vẫn còn có các tế bào xương bắt màu sẫm nằm bên trong các ổ xương. (Hình 3.23)

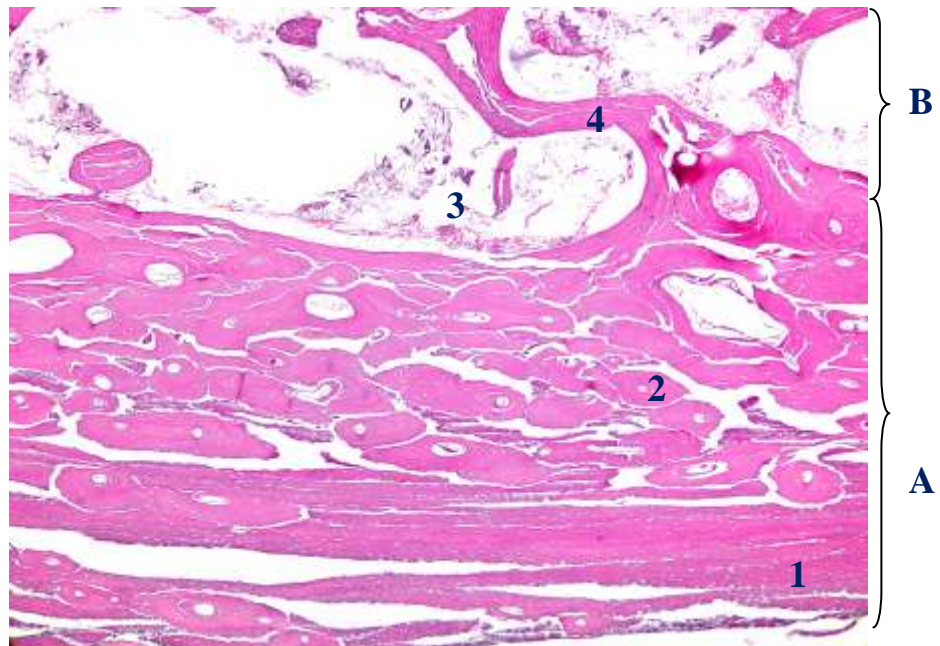


Hình 3.25. Cấu trúc vi thể xương sọ người nhóm N1 (H.E x250)

1. Lá xương của hệ thống Havers điển hình; 2. Ống Havers;
3. Hốc tủy; 4. Bè xương; → : Ổ chứa tế bào xương.

3.2.2.2. Đặc điểm các mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu 4 năm 8 tháng (nhóm N2).

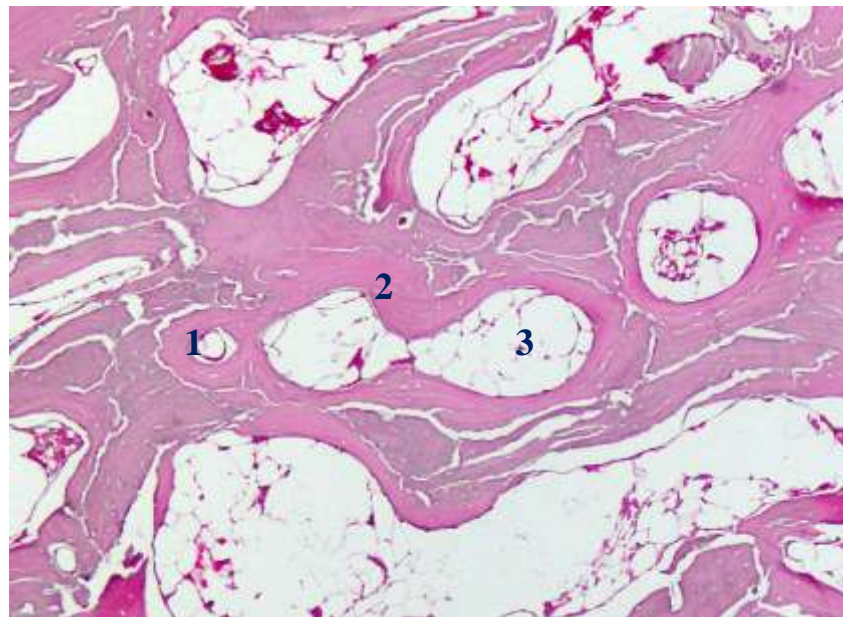
Đặc điểm cấu tạo vi thể xương sọ người bảo quản lạnh sâu có chiếu tia gamma liều 25kGy không có sự khác biệt so với nhóm các mảnh xương sọ chưa được xử lý, bảo quản lạnh sâu, đặc biệt là có nhiều hình ảnh các hệ thống Havers điển hình nằm xen với bè xương của vùng xương xốp (Hình 3.26 và hình 3.27).



Hình 3.26. Xương sọ người bảo quản lạnh sâu nhóm N2 (H.E x100)

A. Vùng xương đặc: 1. Các lá xương cốt mạc; 2. Hệ thống Havers điển hình;

B. Vùng xương xốp: 3. Hốc tủy; 4. Bè xương.



Hình 3.27. Xương sọ người bảo quản lạnh sâu nhóm N2 (H.E x250)

1. Hệ thống Havers điển hình; 2. Bè xương; 3. Hốc tủy.

Khi quan sát dưới kính hiển vi quang học với độ phóng đại 500 lần, chúng tôi thấy nhiều ổ xương là những hốc trống trên các lá xương của hệ

thống Havers điển hình và hệ thống Havers trung gian, không nhìn thấy tế bào xương, trong các ống Havers vẫn còn hình ảnh các mạch máu (Hình 3.28).



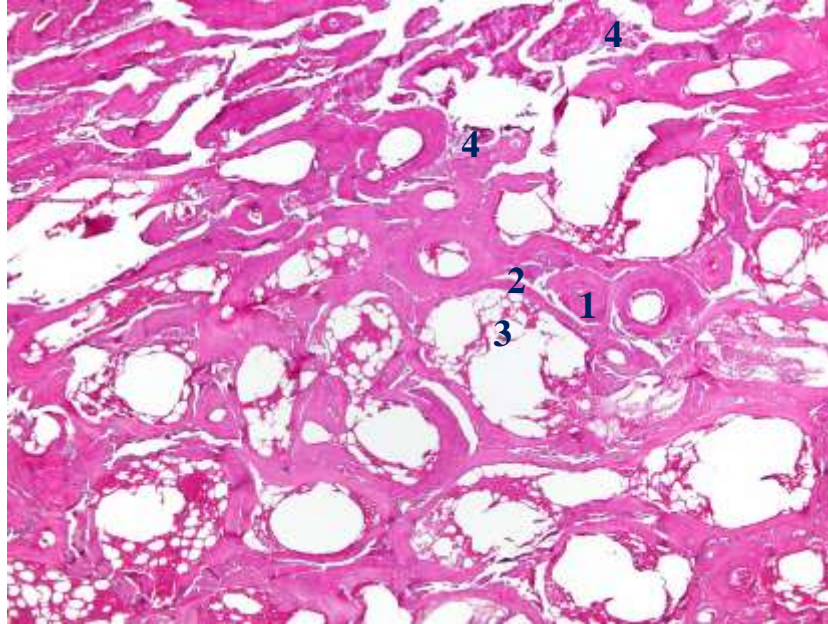
Hình 3.28. Xương sọ người bảo quản lạnh sâu nhóm N2 (H.E x500)

1. Các lá xương cốt mạc; 2. Hệ thống Havers điển hình;
3. Hệ thống Havers trung gian

3.2.2.3. Đặc điểm các mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu 6 năm (Nhóm N3)

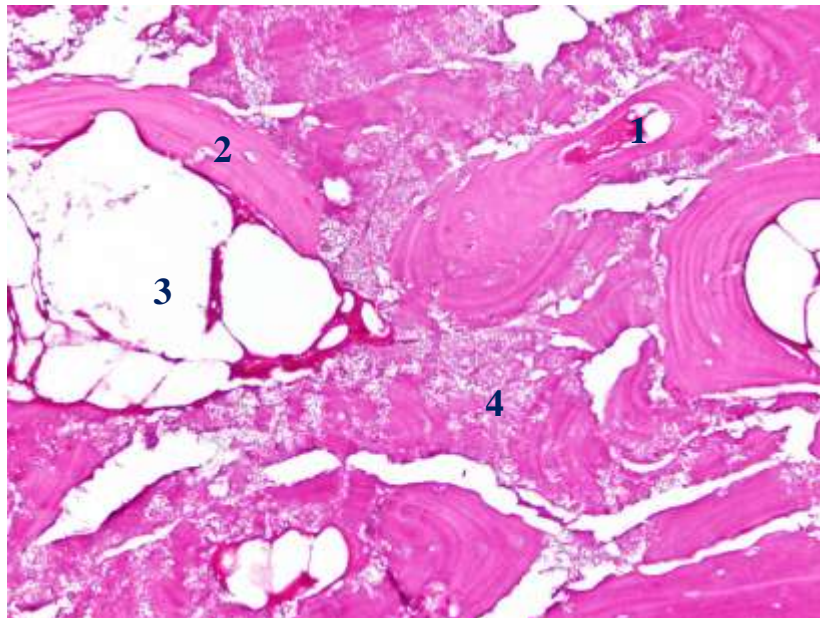
Dưới kính hiển vi quang học, các mảnh xương sọ người được xử lý và bảo quản lạnh sâu 6 năm có hiện tượng không đồng nhất ở bề mặt các lá xương, đặc biệt là ở bản xương đặc. Nằm xen giữa những hệ thống Havers và các lá xương còn nguyên cấu trúc là những vùng xương không còn nguyên vẹn cấu trúc. Những nơi mất cấu trúc xương có biểu hiện hình ảnh lá xương không rõ ràng và liên tục, chất nền xương bắt màu nhạt hơn (Hình 3.29). Ở các độ phóng đại 250 lần, hình ảnh vùng bất thường cấu trúc nền càng rõ ràng, các bè xương và các lá xương hình vòng cung không liên tục, không thuần nhất, tuy nhiên các ống Havers chưa thấy sự thay đổi rõ rệt. Phần lớn các ổ xương trên các lá xương ở nhóm này không có tế bào xương, rải rác có một số ổ xương còn có tế bào xương nhưng tế bào co nhỏ lại. Hốc tủy sáng

màu, không rõ sự khác biệt so với các nhóm xương chưa bảo quản và nhóm xương đã bảo quản 4 năm 8 tháng (Hình 3.30).



Hình 3.29. Xương sọ người bảo quản lạnh sâu nhóm N3(H.E x100)

1. Hệ thống Havers điển hình; 2. Các bè xương;
3. Hóc tủy; 4. Vùng bất thường cấu trúc.



Hình 3.30. Cấu trúc xương sọ bảo quản lạnh sâu 6 năm (H.E x500)

1. Ống Havers; 2. Các bè xương; 3. Hóc tủy; 4. Vùng bất thường cấu trúc.

3.3. Kết quả nghiên cứu trên người

3.3.1. Một số đặc điểm của các bệnh nhân nghiên cứu

Bảng 3.1: Phân bố tuổi của bệnh nhân nghiên cứu

| Độ tuổi | $\bar{X} \pm SD$ | n | Tỷ lệ |
|----------------|------------------------------------|-----------|--------------|
| 18-30 | 34,93± 12,65 | 13 | 43,34% |
| 31-40 | | 7 | 23,33% |
| 41-50 | | 4 | 13,33% |
| 51- 60 | | 6 | 20,00% |
| Tổng | | 30 | 100% |

Nhận xét: Trong số 30 bệnh nhân được theo dõi sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu, tuổi trung bình là $34,93 \pm 12,65$, độ tuổi gặp nhiều nhất là 18 - 30 chiếm 43,33%, các nhóm tuổi khác ít có sự chênh lệch.

Bảng 3.2: Giới tính của bệnh nhân nghiên cứu

| Giới | n | Tỷ lệ |
|-------------|-----------|--------------|
| Nam | 23 | 76,67% |
| Nữ | 7 | 23,33% |
| Tổng | 30 | 100% |

Nhận xét: Nam gặp nhiều hơn nữ, tỷ lệ nam/nữ khoảng 3,3/1.

3.3.2. Một số đặc điểm các mảnh xương sọ và thời gian bảo quản lạnh sâu

Bảng 3.3: Thời gian từ khi bảo quản đến khi ghép lại

| Thời gian | n | Tỷ lệ |
|--------------|-----------|-------------|
| Dưới 3 tháng | 8 | 26,67% |
| 3-6 tháng | 21 | 70,00% |
| > 6 tháng | 1 | 3,33% |
| Tổng | 30 | 100% |

Nhận xét: Thời gian ghép lại sau bảo quản lạnh sâu dưới 3 tháng và trên 6 tháng chiếm tỷ lệ thấp. Thời gian bảo quản trong khoảng 3-6 tháng chiếm tỷ lệ cao nhất 70%.

Bảng 3.4: Kích thước mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu

| Kích thước xương | $\bar{X} \pm SD$ (cm ²) | n | % |
|------------------------------|-------------------------------------|-----------|------------|
| Dưới 20cm ² | 88,93 ± 51,84 | 1 | 3,33 |
| 20 – dưới 70cm ² | | 12 | 40,00 |
| 70 - dưới 100cm ² | | 6 | 20,00 |
| 100 - 120cm ² | | 5 | 16,67 |
| Trên 120 cm ² | | 6 | 20,00 |
| Tổng | | 30 | 100 |

Nhận xét: Kích thước trung bình mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu là 88,93 ± 51,84 cm². Có 01 mảnh xương sọ dưới 20cm² chiếm tỷ lệ 3,33%, thường gặp các mảnh xương có kích thước từ 20 – 70 cm², tỷ lệ cao nhất là 40%. Sự chênh lệch tần suất gặp ở các nhóm mảnh xương sọ bảo quản kích thước lớn không nhiều.

Bảng 3.5: Đặc điểm mảnh xương sọ sau bảo quản lạnh sâu

| Đặc điểm | Cân cơ, máu tụ | | | | Cấy khuẩn sau chiếu xạ | |
|---------------|----------------|--------|--------------|-------|------------------------|---------|
| | Trước bảo quản | | Sau bảo quản | | Dương tính | Âm tính |
| | Có | Không | Có | Không | | |
| n (30) | 20/30 | 10/30 | 0 | 30/30 | 0 | 30/30 |
| Tỷ lệ | 66,67% | 33,33% | 0 | 100% | 0 | 100% |

Nhận xét: 100% mảnh xương sọ sau bảo quản lạnh sâu không còn cân cơ, máu tụ và kết quả cấy khuẩn là âm tính.

Bảng 3.6: Vị trí ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu

| Vị trí | n | Tỷ lệ |
|--------------------------|-----------|--------------|
| Trán | 3 | 10% |
| Thái dương | 3 | 10% |
| Trán – đỉnh | 3 | 10% |
| Thái dương – đỉnh | 8 | 26,67% |
| Trán – thái dương | 1 | 3,33% |
| Trán - thái dương – đỉnh | 10 | 33,33% |
| Thái dương – đỉnh – chẩm | 2 | 6,67% |
| Tổng | 30 | 100% |

Nhận xét: Vị trí khuyết xương thường gặp ở vùng thái dương – đỉnh là 26,67% và vùng trán - thái dương- đỉnh là 33,33%. Tần suất gặp ở hai vùng này nhiều hơn so với các vùng khác.

3.3.3. Thời gian và số lần theo dõi sau ghép tự thân các mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu

Bảng 3.7: Thời gian theo dõi sau ghép

| Thời gian theo dõi | $\bar{X} \pm SD$ | n | Tỷ lệ |
|--------------------|------------------|-----------|-------------|
| Dưới 12 tháng | 16,93 ± 5,98 | 3 | 10% |
| 12 – 18 tháng | | 18 | 60% |
| Trên 18 – 24 tháng | | 1 | 3,33% |
| Trên 24 tháng | | 8 | 26,67% |
| Tổng | | 30 | 100% |

Nhận xét: Thời gian theo dõi trung bình sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu là $16,93 \pm 5,98$ tháng. Trong đó, số bệnh nhân đến khám lại sau khi ghép lại mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu từ 12 – 24 tháng là 19 bệnh nhân chiếm 63,33%. Sau 24 tháng chỉ có 8 bệnh nhân tái khám chiếm 26,67%.

Bảng 3.8: Số lần đến khám theo dõi của bệnh nhân sau ghép tự thân

| Số lần | Số bệnh nhân đến khám (n) | Tỷ lệ |
|--------|---------------------------|-------|
| 1 lần | 30 | 100% |
| 2 lần | 9 | 30% |
| 3 lần | 0 | 0 |

Nhận xét: 100% bệnh nhân đến khám lại sau lần hẹn đầu tiên. Chỉ có 9 bệnh nhân tái khám sau lần hẹn thứ 2, chiếm 30%. Không có trường hợp tái khám lần 3.

3.3.4. Kết quả sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu

3.3.4.1. Đặc điểm hình thái và khả năng bảo vệ não sau ghép các mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu

Bảng 3.9: Biểu hiện thần kinh trước và sau ghép tự thân

| Biểu hiện thần kinh | Trước ghép tự thân | | Sau ghép tự thân | |
|---------------------|--------------------|--------|------------------|-------|
| | N | Tỷ lệ | n | Tỷ lệ |
| Đau đầu | 10/30 | 33,33% | 3/30 | 10% |
| Co giật | 3/30 | 10% | 1/30 | 3,33% |
| Hay quên | 9/30 | 30% | 9/30 | 30% |
| Dễ bị kích động | 3/30 | 10% | 3/30 | 10% |

Nhận xét: 10 bệnh nhân có đau đầu trước khi ghép tự thân, chiếm 33,33%, sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu còn 3 bệnh nhân có xuất hiện đau đầu khi thay đổi thời tiết và chiếm 10%; các triệu chứng co giật, hoặc dễ kích động ít gặp hơn, chỉ chiếm 10%, sau khi ghép tự thân biểu hiện co giật giảm còn 3,33%; các biểu hiện hay quên hoặc dễ bị kích động không thay đổi.

Bảng 3.10: Tình trạng vùng ghép

| Tình trạng vùng ghép | n | Tỷ lệ |
|------------------------------------|-------|--------|
| Có rò dịch, nhiễm khuẩn | 2/30 | 6,67% |
| Bề mặt lồi lõm | 16/30 | 53,33% |
| Mảnh xương không di lệch, bập bênh | 28/30 | 93,33% |
| Mảnh xương ghép di lệch, bập bênh | 2/30 | 6,67% |

Nhận xét: Số lượng bệnh nhân có rò dịch, nhiễm khuẩn, mảnh xương ghép di lệch, bập bênh đều là 2/30 bệnh nhân chiếm tỷ lệ 6,67%; xương bám chắc, không bập bênh xương chiếm tỷ lệ cao (93,33%); bề mặt vùng ghép: lồi lõm chiếm 53,33%.

Bảng 3.11. Đặc điểm mảnh xương ghép trên phim X quang sọ.

| Đặc điểm mảnh xương ghép trên X quang | n | Tỷ lệ |
|---|----------|--------------|
| Giảm mật độ | 18 | 60% |
| Khoảng trống tiếp ráp xương ghép và xương chủ rộng, hẹp không đều | 30 | 100% |
| Giảm độ dày mảnh xương ghép | 4 | 13,33% |
| Xuất hiện hình ảnh lỗ chỗ như tổ ong | 1 | 3,33% |
| Biểu hiện liền xương | 0 | 0 |

Nhận xét: 100% số bệnh nhân vẫn còn khoảng trống nơi tiếp ráp giữa mảnh xương ghép và xương chủ. Trong số 30 bệnh nhân, có 18 bệnh nhân mật độ ở mảnh xương ghép giảm so với xương chủ và chiếm 60%, 1 bệnh nhân có xuất hiện hình ảnh xương lỗ chỗ như tổ ong. Trên phim X quang chưa thấy biểu hiện liền xương.

Trên phim X quang ở hình 3.29, khoảng trống tiếp ráp mảnh xương ghép và xương chủ rộng hẹp không đều, mật độ xương ghép khá tương đồng xương chủ. Ở hình 3.30, mảnh xương ghép nhỏ lại, khoảng trống tiếp ráp xương ghép và xương chủ rất xa nhau.



Hình 3.31. Mảnh xương ghép tự thân (mũi tên) ở vùng thái dương – đỉnh sau 13 tháng 20 ngày (BN Trần Văn Q. 28 tuổi)



Hình 3.32. Ổ khuyết và mảnh xương sọ ghép tự thân sau 12 tháng ở vùng trán (mũi tên) (BN Đỗ Văn Ch. 23 tuổi)

Trong số 30 bệnh nhân có 4 bệnh nhân khi được chỉ định chụp thêm phim CT Scanner thì 1 bệnh nhân có biểu hiện xương tăng sinh (liền xương).

3.3.4.2. Độ vững chắc, thẩm mỹ vùng ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu và sự hài lòng của bệnh nhân

Bảng 3.12: Kết quả sự vững chắc của mảnh xương ghép với xương chủ

| Mức độ | n | Tỷ lệ |
|-------------|-----------|-------------|
| Tốt | 20 | 66,67% |
| Đạt | 8 | 26,67% |
| Không đạt | 2 | 6,67% |
| Tổng | 30 | 100% |

Nhận xét: Sự vững chắc sau ghép mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu vào xương chủ có kết quả đạt yêu cầu là 26,67% , có 66,67% số trường hợp sự vững chắc tốt và có 2 trường hợp không đạt độ vững chắc giữa mảnh xương ghép với xương chủ chiếm 6,67%.

Bảng 3.13: Kết quả thẩm mỹ sau ghép tự thân mảnh xương sọ

| Mức độ | n | Tỷ lệ |
|-------------|-----------|-------------|
| Tốt | 5 | 16,67% |
| Đạt | 21 | 70% |
| Không đạt | 4 | 13,33% |
| Tổng | 30 | 100% |

Nhận xét: theo tiêu chí đánh giá thẩm mỹ, có 5 trường hợp đạt thẩm mỹ tốt chiếm 16,67%, đạt yêu cầu thẩm mỹ là 70% và không đạt yêu cầu là 13,33%.

Bảng 3.14: Kết quả sự hài lòng của bệnh nhân

| Bệnh nhân | n | Tỷ lệ |
|------------------|-----------|--------------|
| Rất hài lòng | 2 | 6,67% |
| Hài lòng | 23 | 76,66% |
| Không hài lòng | 5 | 16,67% |
| Tổng | 30 | 100% |

Nhận xét: Tỷ lệ bệnh nhân hài lòng với kết quả tái tạo hộp sọ là 76,66%, có 2 bệnh nhân rất hài lòng chiếm 6,67%, có 5 bệnh nhân không hài lòng chiếm tỷ lệ 16,67%.

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. Kết quả thực nghiệm ghép xương sọ bảo quản lạnh sâu

4.1.1. Biểu hiện toàn thân và tại chỗ vết mổ ở các thời điểm theo dõi

Sau các thời điểm các mảnh xương sọ thỏ được lấy để xử lý, bảo quản lạnh sâu, tình trạng toàn thân và tại chỗ vết mổ của các thỏ có biểu hiện rất tốt: không nhiễm trùng, sọ liền nhanh, ổ khuyết lõm, mật độ bên dưới da mềm so với xung quanh, sau 4 tuần kích thước ổ khuyết thu nhỏ hơn không đáng kể.

Kết quả sau thực nghiệm ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu có chiếu tia gamma liều 25kGy cho thấy: 100% thỏ sống, các thỏ đều ở trong tình trạng khoẻ mạnh, đều tăng cân, vết mổ liền tốt, vùng ghép xương sọ bằng phẳng, mật độ cứng rắn dần lên theo thời gian. Trong suốt quá trình theo dõi, chúng tôi cũng không phát hiện trường hợp nào có hiện tượng mảnh xương sọ ghép bị di lệch khỏi ổ khuyết hoặc bập bênh so với xương chủ, không có trường hợp nào bị thải loại mảnh ghép. Như vậy có thể đánh giá quá trình xử lý bảo quản mảnh xương sọ và mô hình thực nghiệm đã được tiến hành thành công.

Sự thành công này của chúng tôi được dựa trên cơ sở về lý thuyết và thực tế. Quy trình bảo quản mô chúng tôi thực hiện bảo quản mảnh xương sọ được dựa theo tiêu chuẩn của Hiệp hội ngân hàng mô Châu Á – Thái Bình Dương, đây là quy trình có độ tin cậy cao do đòi hỏi nghiêm ngặt việc tuân thủ các bước, các tiêu chuẩn về bảo quản mô. Kết quả thực nghiệm cũng cho thấy việc tuân thủ thực hiện quy trình xử lý, bảo quản xương sọ thỏ tại labo Bảo quản Mô – Bộ môn Mô - Phôi, Trường Đại học Y Hà Nội của chúng tôi

và khẳng định quy trình đáp ứng được yêu cầu bảo quản mô xương, giữ cho mô không bị phân huỷ trong một thời gian dài và sau thời gian bảo quản lạnh sâu mẫu mô xương vô trùng, đảm bảo để ghép tự thân, do đó góp phần vào thành công của quá trình thực nghiệm.

Trong việc ghép xương tự thân, xét về tính tương hợp sinh học, xương tự thân là tốt nhất trong các loại vật liệu để ghép xương sự tái tạo hồi phục, thường diễn biến thuận lợi vì không bị cản trở của hàng rào miễn dịch [13],[31],[102]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, bản thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu được ghép tự thân, mặt khác trong quy trình xử lý bảo quản lạnh sâu này có chiếu tia gamma liều 25kGy làm cho mảnh xương sọ thô được đảm bảo sự vô trùng, do đó đã không có hiện tượng đào thải mảnh xương ghép.

4.1.2. Sự thay đổi cấu trúc hình thái sau ghép tự thân mảnh xương sọ thô bảo quản lạnh sâu chiếu tia gamma

4.1.2.1. Ở mức đại thể, vi thể

Theo y văn mô tả mô xương là hình thái đặc biệt của mô liên kết, bình thường mô xương luôn có sự đổi mới. Trong những trường hợp xương bị gãy hoặc ghép xương, diễn biến liền xương là một quá trình phức tạp. Trong nghiên cứu này, chúng tôi cũng nhận thấy có sự khác nhau trong diễn biến quá trình liền xương ở các thời điểm theo dõi khi nghiên cứu ghép tự thân mảnh xương sọ thô bảo quản lạnh sâu có chiếu tia gamma liều 25 kGy.

Ngay khi bóc lộ da che phủ vùng ghép, chúng tôi đã có thể quan sát được rõ ràng ranh giới giữa vùng mô ghép và vùng mô lành (xương chủ). Ở tất cả các thỏ trong nhóm thực nghiệm đều có sự khác biệt về màu sắc lớp mô liên kết bên ngoài mặt ngoài, cũng như màu sắc mặt trong mảnh xương ghép so với xương chủ xung quanh, nhưng mức độ khác biệt ngày càng giảm dần ở các nhóm theo dõi thời gian lâu hơn. Đồng thời chúng tôi cũng nhận thấy ban

đầu giữa xương chủ và xương ghép sự gắn kết còn lỏng lẻo, có những nơi còn ổ khuyết mặt trong của mảnh xương ghép hơi lõm so với bề mặt xương lành, có những ổ khuyết nhỏ. Nhưng theo thời gian thực nghiệm, chúng tôi nhận thấy xương ghép được cố định vào xương chủ ngày càng chặt chẽ hơn (Hình 3.4 và hình 3.9). Các mảnh xương ghép trong quá trình thực nghiệm không bị di lệch mặc dù không cần khâu cố định, đó là do chúng tôi có điều chỉnh ổ khuyết vừa khít chặt với mảnh xương ghép, đây là một yếu tố thuận lợi cho quá trình cố định và tái tạo xương ở thời gian tiếp theo. Điều này hoàn toàn phù hợp với nhận định sự tiếp giáp giữa mảnh xương ghép với xương chủ càng chặt chẽ thì càng thuận lợi cho quá trình tái tạo xương của các tác giả Elsalanty ME, Genecov DG (2009) [31], cũng như thực tế lâm sàng trên người qua đánh giá của Iwama T và cộng sự (2003) [89].

Hình ảnh chủ yếu quan sát được dưới kính hiển vi quang học sau ghép tự thân ở nhóm theo dõi sau ghép 4 tuần là: đã hình thành mô liên kết nằm ở vùng ranh giới giữa xương ghép và xương chủ (theo hình 3.5). Theo chúng tôi, sự can thiệp vào vùng ổ khuyết để sửa sang ổ khuyết cho phù hợp với kích thước để đặt mảnh xương sọ thỏ bảo quản lạnh sâu đã gây ra chảy máu ở vùng rìa và tổn thương một phần xương chủ, do đó đã kích hoạt quá trình viêm, đồng thời cũng làm tăng sinh các mô sợi và mạch máu tân tạo, vì vậy gây ra hiện tượng mô liên kết - mạch tăng sinh mạnh ở khu vực màng xương và vùng rìa mảnh ghép. Như vậy, diễn biến quá trình viêm và tăng sinh mô liên kết ở vùng rìa trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự như quá trình liền xương đã được tác giả Clarke B (2008), Raisz LG (1999) mô tả trong y văn [26],[27].

Và chúng tôi cho rằng cũng chính sự tăng sinh của các tổ chức này, đặc biệt là sự xuất hiện phong phú các mạch máu tân tạo, đã làm cho màu sắc ở vùng diện ghép sẫm màu hơn so với các mô xương chủ lân cận xung quanh.

Theo quan sát của chúng tôi, mô liên kết này cũng dày dần lên theo thời gian, sự dày lên do mô liên kết tăng sinh này là để góp phần dần lấp đầy khoảng trống đường ghép và đồng thời có tác dụng giữ cố định tạm thời mảnh xương ghép tại chỗ vào xương chủ, điều này cũng tương xứng với đặc điểm quan sát được trên đại thể về sự thay đổi màu sắc, cũng như diễn biến cho thấy sự gắn kết xương ghép với xương chủ ngày càng chặt chẽ hơn theo thời gian sau ghép.

Sau hiện tượng tăng sinh mô liên kết – mạch ở nhóm theo dõi 4 tuần sau ghép tự thân, các nhóm thỏ được theo dõi tới thời điểm 8 tuần và 16 tuần tiếp tục có biểu hiện mô liên kết – mạch lan dần vào vùng xương ghép. Điều đó chứng tỏ mô liên kết – mạch không những có vai trò cố định giữa xương ghép với xương chủ mà còn là khởi nguồn sự xâm nhập của xương chủ vào tổ chức vùng mô xương ghép và có vai trò khởi động sự cốt hóa tại vùng xương ghép trong quá trình liền xương.

Theo quan sát của chúng tôi dưới kính hiển vi quang học, mảnh xương sọ ghép ở thỏ không tồn tại vĩnh viễn mà có xu hướng tiêu dần trong khi xương mới được hình thành. Như vậy, diễn biến quá trình liền xương ở giai đoạn này cũng tương tự như diễn biến sinh lý tạo xương, đó là khi quá trình viêm giảm mạnh, số lượng mô liên kết tăng lên với sự gia tăng các thành phần sợi liên kết cùng với nhiều tế bào liên kết, các hủy cốt bào được hình thành ở những nơi xương cần bị phá hủy. Các đại thực bào xâm nhập vào các mảnh ghép theo các ống Havers và dần dần tiêu hoá các mảnh và các tế bào xương bị hoại tử [26],[27]. Cũng chính điều này đã giải thích cho các hình ảnh các mảnh xương ghép trong thực nghiệm mỏng hơn so với xương chủ, cấu trúc các bản xương đặc không còn nguyên vẹn, có những biểu hiện tiêu đi và được thay thế dần bởi mô liên kết – mạch.

Dưới kính hiển vi quang học, chúng tôi quan sát thấy hình ảnh các tạo cốt bào tập trung nhiều thành dãy ở nơi tiếp giáp xương chủ và mảnh xương ghép (hình 3.7 và 3.8), rõ ràng rằng sự xuất hiện ngày càng nhiều tạo cốt bào chứng tỏ vùng tổn thương đang được cốt hóa. Sự cốt hóa này thuộc loại cốt hóa trực tiếp từ mô liên kết màng. Chúng tôi cũng nhận thấy có hiện tượng tạo xương mới trùm lên các phần xương ghép cũ và đan xen mô liên kết xâm nhập vào trung tâm, các mạch máu tân tạo cũng theo đó xâm nhập vào mảnh ghép, điều này chứng tỏ có sự hình thành, phát triển từ vùng cầu xương vào mảnh xương ghép để tạo xương mới.

Từ kết quả trên, chúng tôi cho rằng vùng xương ghép cũng được cốt hóa trực tiếp từ màng liên kết mới tăng sinh. Mô liên kết - mạch này kéo theo mạch máu tân tạo, xâm lấn dần vào vùng trung tâm mảnh xương ghép và đã đưa các tế bào trung mô vào vùng ghép, các tế bào này chính là các tế bào có thể biệt hóa trở thành các tạo cốt bào.

Trong vùng đang tái tạo xương, chúng tôi có thể quan sát thấy các đám tế bào hình cầu, sáng màu, đó chính là các nguyên bào sụn (Hình 3.6) do mô liên kết - mạch giàu tế bào trung mô đã tăng sinh, biệt hóa thành nguyên bào sụn. Xương sụn là xương có độ căng giãn ít, mà ở những nơi giàu oxy mà độ căng giãn ít thì các tế bào nguyên bào sụn hình thành tổ chức can xơ – sụn cũng trở thành tạo cốt bào để tạo xương [26],[27]. Do đó, trong nghiên cứu này, các tế bào giống nguyên bào sụn trương to, mạch máu tân tạo đi từ màng xương vào sâu trong tổ chức giống can xơ – sụn, làm vùng này giàu oxy hơn, độ co giãn xương ít, làm tăng sinh tạo cốt bào, do đó các tế bào nguyên bào sụn không còn xuất hiện nữa. Hoặc có thể do các yếu tố tại chỗ vùng rìa giáp mảnh xương ghép tác động nên cũng biệt hóa các tế bào này trở thành các tạo cốt bào để tạo xương như các tác giả Clarke B (2008), Raisz LG (1999) mô tả [26],[27],[28]. Mặt khác, chúng tôi cũng thấy tiến trình hình thành các tế bào

trong tổ chức can xơ – sụn này tương tự diễn biến quá trình cốt hóa trực tiếp xương sọ ở thời kỳ phôi thai đã được tác giả Trịnh Bình mô tả, đó là sự xuất hiện các trung tâm cốt hóa, tại đó những sợi collagen xuất hiện ngày càng nhiều, những tế bào trung mô dần tự đẩy xa nhau đó chính là các đám tế bào nguyên bào sụn, để từ đó các tế bào này biến thành tạo cốt bào [25] .

Ở nhóm theo dõi 16 tuần sau ghép tự thân mảnh xương sọ thỏ bảo quản lạnh sâu, hình ảnh tổ chức mô xơ – sụn được thay thế dần bằng mô xương mới giàu tế bào xương, vùi trong chất căn bản xương đang được khoáng hóa. Đây là giai đoạn chất căn bản trở lên đặc lại tạo mô dạng xương, muối vôi lắng đọng trên bề mặt các sợi liên kết, các tạo cốt bào biến thành các tế bào xương, mô dạng xương biến thành mô xương, điều này phù hợp với mô tả của nhiều tác giả như Trịnh Bình (2007), Clarke B (2008), Raisz LG (1999), Väänänen HK và cộng sự (2000) [25],[26],[27],[28].

Có thể nhận thấy tổ chức giống can xơ – sụn mặc dù chỉ tồn tại tạm thời nhưng nó có hai vai trò quan trọng, đó là cố định mảnh mô ghép và là lớp nền giúp sự cốt hóa xảy ra. Từ kết quả nghiên cứu trên, theo chúng tôi đánh giá mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu sau chiếu tia gamma khi ghép tự thân có tính kích tạo xương (hay tính cảm ứng xương) và dẫn tạo xương, chính nó đã thu hút mô liên kết xơ - mạch, các tế bào trung mô, hủy cốt bào vào vùng ghép, cùng với các yếu tố kích thích tại chỗ và giúp thúc đẩy nhanh quá trình tái tạo.

Tác giả Reuther T và cộng sự đã xác định được là có sự tương thích xương sau ghép khi nghiên cứu trên cừu; so với các phương pháp ghép xương tươi, phương pháp bảo quản lạnh sâu cũng giữ được các tế bào tiềm năng tạo xương [92]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy mặc dù trong quy trình xử lý bảo quản xương có chiếu tia gamma liều 25 kGy vì vậy mảnh xương đã không còn các tổ chức sống (tế bào) mà chỉ còn lại bộ khung do đó

ít hiện tượng miễn dịch xảy ra, giảm hiện tượng thải trừ mảnh ghép. Các tế bào xương bị chết khi chiếu xạ nên có thể không còn các tế bào tiềm năng tạo xương ở mảnh xương ghép, song các protein trong xương ít biến đổi, đặc biệt là BMP, loại protein có khả năng kích thích quá trình tái tạo lại xương ở vùng lân cận của mảnh ghép [32],[53]. Các tác giả Goldberg V.M và Stevenson S (1993) đã cho rằng hiện tượng tạo xương xảy ra do các yếu tố hòa tan dẫn xuất từ chất căn bản của xương, một trong những yếu tố đó chính là BMP [85].

Trong kích tạo xương hay dẫn tạo xương, nguồn gốc quần thể tạo cốt bào mới hình thành đều xuất phát từ nền ghép, do đó nguyên tắc cơ bản trong kỹ thuật ghép xương là mô xương ghép phải được cố định chặt chẽ và có tiếp xúc tốt với nền ghép của mô xương chủ [31],[89]. Dẫn tạo xương xảy ra khi vật liệu ghép xương đóng vai trò như là một giàn giáo để phát triển xương mới từ xương chủ [102]. Như vậy, trong nghiên cứu này cho thấy mảnh xương ghép bảo quản lạnh sâu chiếu tia gamma có vai trò như giàn giáo cho sự tái tạo, dẫn tạo xương mới, những protein hình thái xương kích hoạt sự hình thành các tế bào tạo xương mới, kích thích sự biệt hóa của các tế bào trung mô để thành tế bào tạo xương ở vùng lân cận mảnh ghép, sau đó bắt đầu hình thành xương mới trên nền mảnh xương ghép bảo quản lạnh sâu thúc đẩy hội nhập nhanh hơn của các mảnh xương ghép vào xương chủ.

4.1.2.2. Ở mức siêu vi thể

Hình ảnh xương sọ thỏ ở lô bình thường và lô chứng dưới kính hiển vi điện tử quét trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy xương sọ thỏ bình thường có những vùng cấu trúc bình thường xen kẽ với những vùng xương đang bị phá huỷ và vùng tạo xương mới. Kết quả này hoàn toàn phù hợp đặc điểm hình thái trong quá trình đổi mới sinh lý tái tạo xương đã được y văn mô tả, đó là: Trong quá trình đổi mới xương, nhờ có quá trình phá huỷ và tái tạo

diễn ra một cách tuần tự trên cùng một vùng của bề mặt xương nên luôn có sự thay thế xương cũ bằng xương mới, biểu hiện là trên bề mặt tự nhiên của xương có thể xác định được ba vùng có cấu trúc đặc trưng, đó là: vùng xương đã hình thành, vùng xương đang hình thành, vùng phá huỷ xương [26],[27].

Theo Doctorov A. A, Zilkin B. A và một số tác giả, ở vùng xương đã hình thành, quá trình khoáng hoá xương đã được hoàn thành, các tinh thể khoáng có đặc điểm tập trung xen vào lấp đầy khoảng trung gian giữa các sợi collagen [trích dẫn theo 104]. Khi nghiên cứu hình ảnh khoáng hoá mô xương trên kính hiển vi điện tử quét, bề mặt tự nhiên của xương giống như hình các dải sợi xếp theo hướng đi của sợi collagen [104].

Theo mô tả của tác giả Clarke B (2008), trong vùng xương đang hình thành, các sợi collagen đang trong quá trình khoáng hoá. Sự khoáng hoá diễn ra không đồng thời, biểu hiện bằng hình ảnh các tinh thể khoáng lắng đọng tạo thành các hạt khoáng kích thước to, nhỏ không đều và sắp xếp không có trật tự, lộn xộn không có hướng, tùy theo các thời điểm khác nhau của tiến trình hình thành xương mới. Trên chất nền xương chưa calci hoá, những tinh thể khoáng nằm dọc theo khoảng trống giữa các sợi collagen hoặc xâm nhập vào trong các sợi lớn hơn. Khi cấu trúc nền cơ bản được hình thành thì sự khoáng hoá này dần nhiều lên và kéo dài hơn làm tăng số lượng và kích thước các tinh thể khoáng. Ở vùng phá huỷ xương có hình ảnh các hốc lõm dạng tổ ong, các đường viền xung quanh các hốc lõm xếp nếp do các nhánh bào tương của hủy cốt bào tạo thành các vi nhung mao bám sâu vào trong xương đồng thời tiết ra các enzym phân huỷ xương và để lại các hốc lõm trên bề mặt xương hay phân huỷ xương cũ, chuẩn bị cho quá trình tạo xương mới [26].

Như vậy, kết quả hình ảnh mô xương sọ thỏ ở lô bình thường và lô đối chứng của chúng tôi dưới kính hiển vi điện tử quét pha khoáng, cũng không có sự khác biệt so với sự mô tả của các tác giả trên.

Khi quan sát dưới kính hiển vi điện tử quét với độ phóng đại 15 lần ở các thời điểm sau ghép tự thân các mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu qua các thời điểm theo dõi 4, 8 và 16 tuần, chúng tôi đều nhận thấy: vùng ranh giới giữa mảnh xương chủ và mảnh xương ghép rất rõ ràng. Những nơi xương chủ và mảnh xương ghép nằm sát nhau có hình ảnh đang hình thành xương mới - hình ảnh cầu xương - được nhận thấy ngày càng rõ qua các thời điểm nghiên cứu. Hình ảnh những khoảng tối màu đen làm cho cầu xương không liên tục khi quan sát dưới kính hiển vi điện tử quét pha khoáng (theo hình 3.14 và 3.19) là nơi mảnh xương ghép không tiếp ráp sát với xương chủ tạo ra sự hiện diện của những khoảng trống này, có thể cầu xương sẽ xuất hiện muộn hoặc không xuất hiện, do vậy có thể sẽ ảnh hưởng đến độ vững chắc của mảnh ghép với xương chủ.

Ở nhóm sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu 4 tuần, sự xuất hiện của tổ chức mới thể hiện bởi sự xuất hiện hình ảnh những ống mạch máu, chất nền xung quanh các mạch máu cũng có sự lắng đọng hình thành các tinh thể khoáng vào khoảng ranh giới giữa xương chủ và mảnh xương ghép. Mạch máu ở vùng này tăng lên ở thời điểm 8 tuần và 16 tuần sau ghép tự thân các mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu, chất nền xung quanh các mạch máu cũng có sự thay đổi, các tinh thể khoáng được hình thành ở dạng hạt, mặc dù kích thước không đều và xếp nối tiếp nhau tạo cấu trúc dạng chuỗi theo sợi collagen chưa rõ ràng, nhưng điều đó cũng chứng tỏ có sự tiến triển của quá trình khoáng hoá để tạo xương. Đến thời điểm 16 tuần sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu, chúng tôi thấy đã xuất hiện các lá xương mới và các ổ chứa tế bào xương.

Như vậy, dưới kính hiển vi điện tử quét cho thấy sự tiến triển của quá trình khoáng hoá để tạo xương ở vùng giữa xương chủ và mảnh ghép - vùng cầu xương - theo tiến trình thời gian của thực nghiệm, các đặc điểm được mô

tả phù hợp với sự tiến triển tạo xương thể hiện trên hình ảnh vi thể và cũng theo đúng tiến trình của quá trình liền xương, đó là mô liên kết mạch tăng sinh mạnh ở vùng ranh giới mảnh ghép, góp phần lấp đầy đường ghép và hiện tượng cốt hoá trực tiếp từ mô liên kết này. Nghiên cứu pha khoáng dưới kính hiển vi điện tử quét không cho phép quan sát thấy hình ảnh trực tiếp các sợi collagen, các tế bào xương cũng như sự xâm nhập của các tế bào viêm trong vùng đang cốt hóa.

Như vậy, có thể thấy rằng sau ghép tự thân 16 tuần, vùng xương ghép vẫn đang ở trong diễn biến quá trình liền xương sau ghép. Sự tiếp ráp mảnh ghép với xương chủ càng gần nhau thì càng thuận lợi cho việc tăng sinh mô liên kết – mạch và hình thành cầu xương, nhờ đó sẽ càng cố định tốt mảnh xương ghép, độ vững chắc của mảnh xương cũng như quá trình liền xương sẽ diễn ra tốt hơn. Những thông tin này có thể góp phần giúp các nhà lâm sàng lựa chọn khi thực hiện kỹ thuật ghép để đảm bảo tốt nhất sự vững chắc mảnh ghép xương sọ tự thân.

Bề mặt các mảnh xương sọ thỏ bảo quản lạnh sâu sau ghép tự thân ở các giai đoạn 4, 8 và 16 tuần, dưới kính hiển vi điện tử quét pha khoáng, chúng tôi quan sát thấy nhiều hình ảnh phá hủy xương với các hốc lõm đường kính to, nhỏ, nông sâu khác nhau, đường viền xung quanh các ổ lõm nham nhỏ, sắc cạnh tương tự như những hình ảnh tác giả Nguyễn Văn Vận đã mô tả khi nghiên cứu xương đốt bàn chân người [104]. Ở độ phóng đại lớn (theo hình 3.17, hình 3.18) thấy rõ đặc điểm của các tinh thể khoáng dạng hạt li ti lắng đọng tạo những đám mờ sương ở bên cạnh và trên bề mặt các hốc lõm nham nhỏ, theo chúng tôi đó chính là lớp khoáng hoá dạng mới hình thành.

Hiện tượng phá hủy xương này đã chứng tỏ mảnh xương ghép có xu hướng tiêu dần để hình thành xương mới, việc tiêu xương bởi hủy cốt bào tại mảnh xương ghép góp phần cung cấp nguyên liệu muối khoáng tại chỗ trong

quá trình khoáng hóa vùng ghép, do đó hình ảnh lắng đọng tinh thể khoáng ở mảnh xương ghép cho thấy chính mảnh xương ghép tham gia tạo thành lớp khung để chất khoáng lắng đọng giúp thúc đẩy nhanh quá trình tái tạo xương.

Theo tiến trình tạo xương sinh lý, khi kết thúc giai đoạn phá huỷ xương sẽ thu hút các thành phần tạo xương mới [31]. Do đó, chúng tôi cho rằng khi kết thúc phá huỷ xương, có thể chính tổ chức vùng mô xương đó đã thu hút các thành phần tạo xương, vì vậy nên xuất hiện lắng đọng các tinh thể khoáng để tạo xương mới. Kết quả nghiên cứu ở pha khoáng dưới kính hiển vi điện tử quét một lần nữa khẳng định diễn biến quá trình liên xương khi quan sát dưới kính hiển vi quang học.

4.2. Đặc điểm cấu trúc hình thái của các mảnh xương sọ người sau bảo quản lạnh sâu theo thời gian

Kết quả nghiên cứu hình thái cấu trúc ở xương sọ người ở nhóm chưa xử lý và bảo quản lạnh sâu dưới kính hiển vi quang học là hình ảnh bản xương ngoài và bản xương trong có cấu tạo là xương đặc, vùng xương Havers xếp nằm ở giữa hai bản xương đặc. Bản xương trong cấu tạo cũng tương tự như bản xương ngoài nhưng mỏng hơn. Những kết quả nghiên cứu này phù hợp với những mô tả về đặc điểm cấu trúc hình thái của xương sọ của tác giả Trịnh Bình [25] và tác giả Doctorov A. A [trích dẫn theo 104].

Tuy nhiên, ở lớp sâu của bản xương ngoài và trong của xương sọ không chỉ gồm có những lá xương xếp song song với nhau, mà còn có nhiều hệ thống Havers điển hình nằm xen kẽ với các hệ thống Havers trung gian. Mỗi hệ thống Havers điển hình gồm một ống Havers nằm ở trung tâm và các lá xương đồng tâm bao quanh ống Havers. Đồng thời, khi nghiên cứu vùng xương xếp giữa hai bản xương đặc của xương sọ người, chúng tôi nhận thấy tại vị trí các bè xương giao nhau rải rác có hệ thống Havers điển hình. Cũng giống như ở vùng xương Havers đặc, mỗi hệ thống Havers điển hình ở nơi

các bề xương giao nhau có một ống Havers và các lá xương sẫm, nhạt xếp bao quanh theo hình đồng tâm.

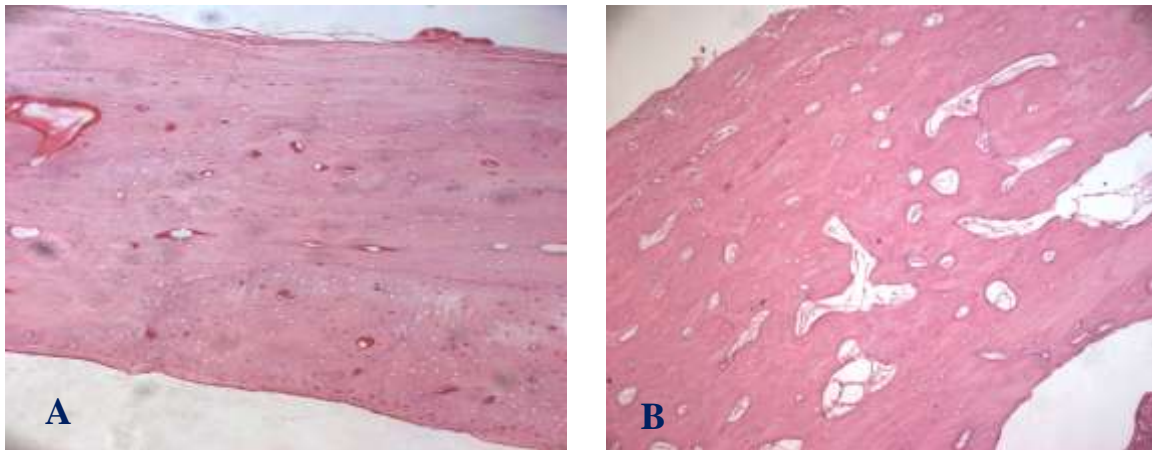
Hình ảnh hệ thống Havers nằm ở vị trí bản đặc xương vòm sọ, nhất là những hệ thống Havers điển hình nằm ở vị trí các bề xương giao nhau trong vùng xương xốp hầu như còn ít được nghiên cứu, ngay cả trong các tài liệu mô học của các tác giả trong nước và nước ngoài mà chúng tôi có được cũng rất ít thông tin đề cập đến đặc điểm hình thái này. Theo chúng tôi, đây là một trong những đặc điểm cấu trúc hình thái cần lưu ý và tiếp tục nghiên cứu, từ đó có thể bổ sung, làm tăng sự phong phú các tài liệu học tập và tham khảo về tính đa dạng trong cách tổ chức cấu trúc của mô xương.

Phương pháp bảo quản lạnh sâu xương sọ được nhiều tác giả đánh giá là phương pháp đảm bảo tính toàn vẹn mô và có năng lực tái sinh. Nhưng những ảnh hưởng của việc bảo quản lạnh sâu đến cấu trúc bề mặt chưa được biết đến nhiều. Để làm đảm bảo vô khuẩn, người ta có thể sử dụng các phương pháp khử trùng vật lý và hóa học như: hóa chất khử trùng, dùng nhiệt, sử dụng áp lực thủy tĩnh hoặc chiếu xạ. Tính chất cơ học và phản ứng của cơ sinh học cấy ghép xương có thể thay đổi tùy thuộc phương pháp khử trùng [2],[75].

Với liều chiếu tia gamma thấp 10kGy, tính chất cơ học và phản ứng cơ sinh học của xương người không bị ảnh hưởng, bức xạ gamma liều 25kGy đã có tác dụng sinh học tiêu cực đối với các tế bào của mảnh xương ghép ở con người. Với liều cao 30 kGy, 60 kGy có sự thay đổi đáng kể cấu trúc mô [70],[105]. Lê Thị Hồng Nhung (2006) đã nghiên cứu trên thực nghiệm lựa chọn liều chiếu tia gamma khử trùng cho mảnh xương sọ chó bảo quản lạnh sâu, kết quả tia gamma với liều 10, 15, 25 kGy không gây biến đổi cấu trúc mô nền của xương vòm sọ chó bảo quản ở nhiệt độ -70°C . Liều chiếu tia

gamma khoảng 25kGy, tế bào sẽ bị chết, song các protein trong xương ít biến đổi [76].

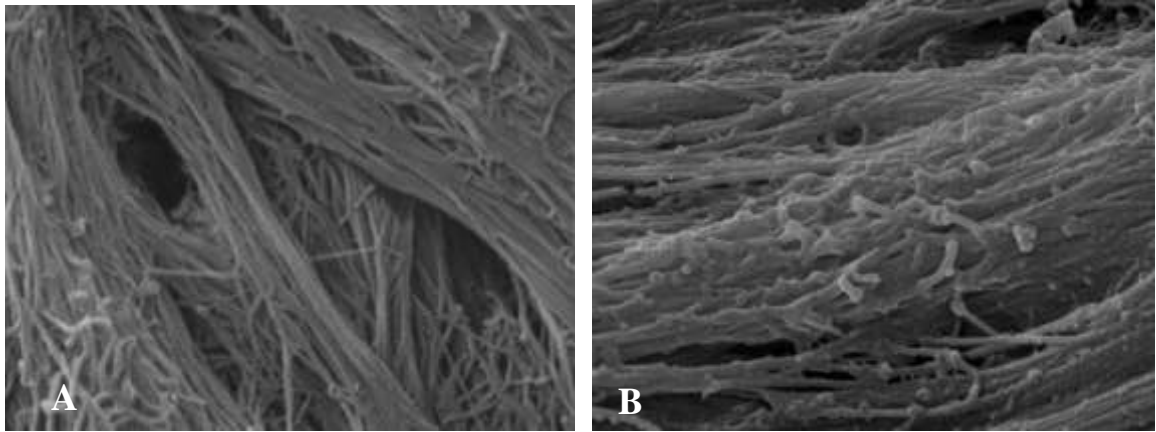
Tác dụng của bức xạ chủ yếu gây hiện tượng đứt các nhánh ngang sợi collagen của chất nền và co các đầu đứt, do đó không những độ bền cơ học của mô ghép bị giảm, mà còn có thể xuất hiện các chất hòa tan giải phóng ra từ mô ghép. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng liều chiếu càng cao sự phá hủy mô càng lớn, làm giảm các đặc tính vật lý cần thiết của mảnh ghép, liều 50kGy có thể làm giảm 30% độ bền cơ học của mô xương [69],[70],[71]. Theo các tác giả Ngô Duy Thìn và Lê Thị Hồng Nhung (2012), tia gamma liều 25kGy bắt đầu ảnh hưởng đến cấu trúc mô xương mặc dù ở mức độ vi thể chưa có biểu hiện rõ rệt (Hình 4.1), nhưng hình ảnh siêu vi mô xương có tổn thương đáng kể hệ thống sợi collagen (Hình 4.2), từ đó làm giảm độ bền cơ học – một đặc tính sinh học cần thiết để duy trì chức năng chính của mô xương [77].



Hình 4.1. Vi thể xương vòm sọ chó trước và sau chiếu tia gamma liều 25 kGy (H.E x250) [77]

A. Trước chiếu xạ

B. Sau chiếu xạ liều 25kGy



**Hình 4.2. Sợi collagen xương sọ chó trước và sau chiếu tia gamma
liều 25 kGy (HVĐTQ, x 20 000) [77]**

A. Trước chiếu xạ B. Các sợi collagen bị đứt sau chiếu xạ

Giảm thiểu sự phá huỷ thành phần chất căn bản mô xương không những bảo tồn được độ bền cơ học, giữ được ở mức cần thiết chức năng tạo hình và che phủ mô não trong một thời gian của mảnh xương sọ mà còn góp phần quan trọng trong quá trình liền xương sau khi ghép lại cho người bệnh.

Mặc dù độ bền cơ học của mảnh xương sau chiếu xạ tia gamma phụ thuộc vào liều chiếu, nhưng ở liều tia gamma 20 – 25 kGy, sự thay đổi độ bền cơ học ở trong giới hạn chấp nhận được [2]. Trong nghiên cứu của chúng tôi quy trình sử dụng phương pháp khử trùng mô xương bằng chiếu tia gamma, liều chiếu là 25kGy, liều chiếu này là theo khuyến cáo của Cơ quan Năng lượng Nguyên tử Quốc tế đã được các ngân hàng mô trên thế giới áp dụng [2],[19].

Beez. T và cộng sự (2013) đã quan sát các mảnh xương sọ loại bỏ được bảo quản trong 6-8 tháng ở nhiệt độ -80°C dưới kính hiển vi điện tử quét, các tác giả cũng không thấy sự thay đổi cấu trúc bề mặt của xương sọ cũng không quan sát thấy biểu hiện bệnh lý [106], tuy nhiên các tác giả cũng không cho biết là trong quy trình bảo quản có sử dụng chiếu xạ gamma liều 25kGy để đảm bảo vô trùng mô xương sọ hay không.

Đánh giá đặc điểm hình thái của các mảnh xương sọ người lưu trữ bảo quản lạnh sâu trong khoảng thời gian 4 năm 8 tháng khi không được sử dụng để ghép tự thân và so sánh với nhóm xương sọ bình thường chưa bảo quản, chúng tôi hầu như không phát hiện thấy có sự khác biệt cấu trúc xương sọ trong hai nhóm này ở cả mức độ đại thể và vi thể. Do đó, theo chúng tôi phương pháp bảo quản lạnh sâu -85°C có chiếu tia gamma liều 25kGy có thể đảm bảo chất lượng mô xương sọ người trong 5 năm để phục vụ ghép tự thân.

Khi nghiên cứu đặc điểm hình thái xương sọ ở nhóm xương được bảo quản lạnh sâu có chiếu tia gamma với thời gian bảo quản 6 năm, chúng tôi thấy có sự khác biệt rõ ràng về màu sắc xương được bảo quản so với nhóm xương chưa bảo quản và nhóm bảo quản lạnh sâu mảnh xương với thời gian 4 năm 8 tháng.

Quan sát đại thể, chúng tôi nhận thấy các mảnh xương sọ người ở nhóm xương được bảo quản 6 năm nhạt màu hơn hoặc xám đen lại. Sự thay đổi màu sắc này có phải là biểu hiện của chất lượng xương bảo quản đã bị ảnh hưởng của thời gian? Để giải đáp vấn đề này, chúng tôi đã tiếp tục quan sát hình thái cấu trúc xương sọ nhóm này ở dưới kính hiển vi quang học, kết quả là chúng tôi thấy có đặc điểm khác biệt nổi bật, đó là sự không đồng nhất của các lá xương ở các bản xương đặc so với nhóm xương chưa được bảo quản và nhóm xương được bảo quản 4 năm 8 tháng (theo hình 3.29 và hình 3.30). Điều đó chứng tỏ cũng đã có biểu hiện giảm chất lượng xương sau thời gian bảo quản lạnh sâu 6 năm ở mức vi thể. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy sự phù hợp với khuyến cáo của Tomford W.W: Nhiệt độ bảo quản từ -40°C đến -100°C có thể bảo quản xương được trong 5 năm [72]. Từ đó có thể giúp các nhà bảo quản mô và các nhà lâm sàng trong việc quyết định thời gian bảo quản và sử dụng mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu chiếu tia gamma.

Từ những kết quả thu được khi quan sát cấu trúc đại thể và vi thể các mảnh xương sọ người được bảo quản lạnh sâu và chiếu tia gamma liều 25kGy, chúng tôi có thể khẳng định quy trình bảo quản lạnh sâu mô xương sọ tại labo Bảo quản Mô – Bộ môn Mô - Phôi, Trường Đại học Y Hà Nội là phương pháp bảo quản tốt, nhưng cũng chỉ có thể bảo quản trong khoảng thời gian nhất định là 5 năm. Do đó với thời gian bảo quản trên 5 năm nếu ghép lại cho bệnh nhân thì có thể không đem lại hiệu quả điều trị, điều này sẽ giúp các chuyên gia bảo quản mô và các bác sĩ lâm sàng trong việc tư vấn và quyết định lựa chọn vật liệu điều trị thích hợp nhất cho bệnh nhân.

4.3. Bàn về kết quả sau ghép lại mảnh xương sọ trên người

4.3.1. Bàn về một số đặc điểm của bệnh nhân nghiên cứu

Nghiên cứu đã có 30 bệnh nhân ngẫu nhiên đáp ứng được tiêu chuẩn nghiên cứu và tự nguyện tham gia nghiên cứu. Kết quả ở bảng 3.1 cho thấy mặc dù trong nghiên cứu này chúng tôi chủ động lựa chọn 30 bệnh nhân ở trong độ tuổi từ 18 đến 60, nhưng tuổi trung bình gặp là $34,93 \pm 12,65$, thường gặp nhất là độ tuổi từ 18 đến 30, chiếm 43,34%, các nhóm tuổi khác có tỷ lệ thấp hơn đáng kể. Sự khác biệt của nhóm tuổi từ 18 đến 30 so với các nhóm tuổi khác trong nghiên cứu này, chúng tôi cho là hợp lý, vì đây là nhóm tuổi lao động, học tập, tham gia nhiều vào các hoạt động xã hội nhưng do việc nhận thức, ý thức chấp hành luật giao thông còn kém nên thường có tỷ lệ cao bị chấn thương sọ não do tai nạn giao thông. Đây cũng là nhóm tuổi có sự quan tâm đến thẩm mỹ nhiều nhất nên nhu cầu tái tạo khuyết sọ cao, cũng vì vậy mà bản thân họ cũng có sự quan tâm và tích cực đến việc khám, kiểm tra lại sau phẫu thuật ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu nhiều hơn so với các nhóm tuổi khác.

Trong số các bệnh nhân tham gia vào nghiên cứu của chúng tôi có 23 nam (76,67%) và 7 nữ (23,33%). Chúng tôi thấy sự phân bố nam nhiều gấp 3

lần so với nữ và tương tự kết quả nghiên cứu của các tác giả Trần Thanh Bảo [8], Nguyễn Công Tô [40]. Nhiều nghiên cứu cũng đã chỉ ra rằng tỷ lệ tai nạn giao thông ở nam thường cao hơn nữ [6],[9],[40],[42],[79],[80], việc nam gặp nhiều hơn nữ cũng do tính cách đặc trưng khác biệt của hai giới.

4.3.2. Về một số đặc điểm của các mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu

Đối với ghép tự thân để tái tạo khuyết sọ, các mảnh xương sọ phải được bảo quản tạm thời để chờ tới thời điểm thuận lợi việc ghép lại xương mới được tiến hành.

Theo các nhà lâm sàng, thời điểm từ khi mở sọ đến khi ghép lại có thể khác nhau tùy thuộc tình trạng và điều kiện của bệnh nhân. Thường là khi bệnh nhân ở giai đoạn đã ổn định về tổn thương não sau mổ can thiệp hộp sọ lần 1 và tình trạng toàn thân tốt, không có bệnh toàn thân chống chỉ định cho việc ghép sọ...Do vậy, thời gian bảo quản lạnh sâu mảnh xương sọ thường là 3 – 6 tháng là có thể ghép lại; một số trường hợp có thể ghép sớm hơn khi có đủ điều kiện ghép lại [8],[79],[80],[89],[107],[108]; với những trường hợp bệnh nhân có biến chứng nhiễm trùng, tình trạng toàn thân nặng thường phải chờ sau 6 tháng, thậm chí hàng năm mới có thể ghép sọ [86].

Từ kết quả của bảng 3.3, chúng tôi nhận thấy trong nghiên cứu này tỷ lệ các trường hợp ghép lại sau thời gian bảo quản lạnh sâu từ 3- 6 tháng chiếm cao nhất (85,72%). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự kết quả của tác giả Nguyễn Kim Chung (2000), Nguyễn Công Tô và cộng sự (2009) [9],[40].

Kích thước các mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu cũng ảnh hưởng đến quá trình liền xương. Trong nghiên cứu của chúng tôi chỉ có 01 trường hợp mảnh xương sọ có kích thước dưới 20cm², kích thước mảnh xương là 20 – 70 cm² chiếm tỷ lệ 40%. Tỷ lệ các trường hợp bệnh nhân có mảnh xương sọ lớn trên 120cm² là 20%, kích thước mảnh xương sọ lớn nhất là 210 cm². Nguyễn

Công Tô và cộng sự khi nghiên cứu tại bệnh viện Saint – Paul cho thấy: tỷ lệ ổ khuyết sọ lớn trên 120cm^2 chiếm 23,1%, ổ khuyết xương có kích thước lớn nhất là 142cm^2 [40]. Kết quả tỷ lệ mảnh xương có kích thước lớn của chúng tôi thấp hơn tác giả này là bởi vì chúng tôi nghiên cứu với cỡ mẫu chủ đích 30 bệnh nhân ghép sọ trong thời gian 2 năm (2011- 2012) và với tất cả các mảnh xương có kích thước khác nhau, còn tác giả Nguyễn Công Tô và cộng sự chỉ tập trung vào các trường hợp có kích thước mảnh xương lớn từ 80cm^2 trở lên và tổng bệnh nhân nghiên cứu hồi cứu trong thời gian 5 năm, số lượng bệnh nhân nhiều hơn. Nghiên cứu của Schoekler B và cộng sự (2014) cũng thấy kích thước mảnh xương lớn nhất trên 120cm^2 [109], Lee SH và cộng sự (2014) cũng báo cáo 44,4% mảnh xương trong nghiên cứu có kích thước lớn trên 120cm^2 [110], các tác giả này cho rằng kích thước mảnh xương lớn có thể làm tăng khả năng tiêu xương.

Theo bảng 3.5, kết quả 100% mảnh xương sọ sau xử lý, bảo quản lạnh sâu và chiếu tia gamma liều 25kGy có đặc điểm: không còn cân cơ, máu tụ và cấy khuẩn âm tính. Điều này cho thấy: Sau xử lý, chiếu xạ để bảo quản lạnh sâu theo đúng quy trình tại labo Bảo quản Mô – Bộ môn Mô - Phôi, Trường Đại học Y Hà Nội, toàn bộ các mảnh xương sọ trong nghiên cứu là những vật liệu đảm bảo vô trùng, có sự tương thích sinh học rất cao vì ghép tự thân, và giảm tính miễn dịch nên không bị thải loại mảnh ghép. Theo chúng tôi, đây là những yếu tố thuận lợi góp phần đảm bảo cho thành công của quá trình ghép tự thân mảnh xương sọ sau bảo quản lạnh sâu. Tác giả Nguyễn Công Tô và cộng sự (2009) cũng đánh giá cao quy trình bảo quản lạnh sâu ở labo Bảo quản Mô – Bộ môn Mô - Phôi, Trường Đại học Y Hà Nội [40].

Vị trí khuyết mảnh xương sọ thường gặp là ở vùng trán – thái dương – đỉnh chiếm 33,33%; vùng thái dương – đỉnh chiếm 26,67%; vùng thái dương và vùng trán – đỉnh cùng là 10%. Những vùng này đều liên quan đến thẩm

mỹ, đặc biệt là vùng trán. Trong nghiên cứu này, tần suất gặp khuyết xương sọ ở các vùng này tương đương kết quả đã được công bố của các tác giả Trần Thanh Bảo (2007) và Nguyễn Công Tô và cộng sự (2009) [8],[40]. Đây là những vị trí thường gặp tổn thương sau tai nạn giao thông, một phần do tổn thương và cũng là do đường phẫu thuật vào hộp sọ thường phải mở đủ rộng để có thể can thiệp tổn thương.

4.3.3. Về thời gian và số lần đến khám theo dõi sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu chiếu tia gamma.

Khi theo dõi các bệnh nhân đến khám lại sau khi ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu, chúng tôi thấy bệnh nhân đến kiểm tra trong khoảng thời gian 12 tháng đến 24 tháng chiếm 63,27%. Thời gian theo dõi trung bình là $16,93 \pm 5,98$ tháng. Như vậy, thời gian theo dõi trong nghiên cứu của chúng tôi kéo dài hơn so với 6 tháng của Nguyễn Kim Chung (2000) [9] và 9 đến 12 tháng của tác giả Nguyễn Công Tô và cộng sự [40], Osawa M và cộng sự [83], nhưng số lượng bệnh nhân của chúng tôi còn hạn chế. Thời gian theo dõi bệnh nhân sau ghép tự thân của chúng tôi tương tự một số tác giả khác như Liang W và cộng sự (2007) [107] hoặc Kriegel RJ và cộng sự (2007) [112]. So với nghiên cứu của Lee SH và cộng sự (2014) là theo dõi 18 bệnh nhân trong 22 tháng, thời gian theo dõi trung bình sau ghép tự thân của chúng tôi ngắn hơn, tuy nhiên số lượng bệnh nhân lại nhiều hơn [110]. Còn trong nghiên cứu của Schuss P và cộng sự theo dõi trung bình 21,6 tháng và thời gian ngắn nhất tương tự chúng tôi là 12 tháng và kéo dài hơn, dài nhất là 47 tháng trong khi bệnh nhân theo dõi dài nhất của chúng tôi là 30 tháng [111].

Trong số 9 bệnh nhân khám lại lần 2 theo hẹn thì có 8 bệnh nhân là khám sau 24 tháng chiếm 26,67%, kết hợp kết quả đánh giá ở bảng 3.9 và bảng 3.14, chúng tôi cho rằng có thể bệnh nhân đã ổn định, hài lòng, chấp

nhận kết quả đạt được sau ghép tự thân nên đã không đến khám nữa, những bệnh nhân tiếp tục đến khám lại là một số ít bệnh nhân ý thức, quan tâm tình trạng bệnh của mình hoặc có thể do tình trạng vùng ghép có diễn biến bất thường...nên bệnh nhân vẫn đến khám theo lịch hẹn. Qua đó có thể thấy việc thu thập số liệu bệnh nhân đến khám là hoàn toàn ngẫu nhiên.

Theo khoảng cách thời gian giữa các lần hẹn bệnh nhân đến khám lại là 12 tháng, kết quả chúng tôi thu được là 100% bệnh nhân đến khám ở lần hẹn đầu tiên. Lần hẹn khám thứ hai, số bệnh nhân đến giảm, chỉ còn 26,67%. Lần hẹn khám thứ 3: 100% bệnh nhân không đến kiểm tra lại. Đây là một yếu tố làm ảnh hưởng đến kết quả nghiên cứu. Tuy nhiên từ các bệnh nhân đến khám 2 lần, chúng tôi nhận thấy với khoảng cách giữa các lần khám là 12 tháng thì biểu hiện diễn biến quá trình liền xương sọ ít có sự thay đổi, điều đó cho thấy quá trình liền xương sọ xảy ra chậm hơn các vùng xương khác, điều này cũng đã được y văn nhắc đến [27],[32]. Sự chậm hoặc không thay đổi hình thái và chức năng não cũng chính là lý do làm số lượng bệnh nhân tái khám giảm dần sau đó là không đến khám lại nữa.

4.3.4. Về kết quả sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu chiếu tia gamma.

Hội chứng khuyết sọ thường được biểu hiện trên bệnh nhân với các triệu chứng như: đau đầu, suy nhược thần kinh với các dấu hiệu mất ngủ, hay quên hoặc trạng thái tinh thần dễ bị kích thích, cáu gắt, thậm chí có co giật. Trong kết quả bảng 3.9 của chúng tôi cho thấy sau khi được ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu còn lại 3 bệnh nhân có đau đầu so với trước ghép là 10 bệnh nhân; các triệu chứng co giật cũng giảm, tình trạng hay quên hoặc dễ kích động ít gặp hơn. Như vậy, kết quả của chúng tôi mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu sau khi được ghép lại cho bệnh nhân đã làm giảm triệu chứng thần kinh như nhận định của các tác giả khác [8],[9]. Mảnh xương

ghép đã thực hiện được chức năng che phủ để bảo vệ não, do đó đã góp phần làm giảm các triệu chứng của hội chứng khuyết sọ, nâng cao hiệu quả điều trị.

Theo bảng 3.10, trong số các bệnh nhân được theo dõi sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu, số bệnh nhân có mảnh xương bám chắc, không bập bênh xương, không có rò dịch chiếm tỷ lệ cao (93,33%), chứng tỏ sự cố định giữa mảnh xương ghép và xương chủ được đảm bảo, sự vô khuẩn cũng tốt nên hiện tượng nhiễm trùng ít xảy ra. Kết quả này tương tự kết quả một số tác giả đã thông báo [8],[9],[111].

Cũng theo kết quả từ bảng 3.10, có sự khác biệt không đáng kể về tình trạng sẹo vết mổ và bề mặt vùng ghép, hình thái có vết lõm vùng ghép chiếm 53,33% so với 46,67% không có vết lõm, như vậy cho thấy khó có thể đánh giá quá trình liền xương thông qua việc đánh giá hình thái đại thể bên ngoài hộp sọ. Hình ảnh lõm đó là do giữa xương ghép và xương chủ chưa có sự lấp đầy vì chưa đủ thời gian, cũng có thể đó là kết quả của hiện tượng tiêu xương xảy ra. Những trường hợp không có hình ảnh lõm cũng không thể đánh giá được là quá trình liền xương đã thành công. Có chăng đây chỉ là một tiêu chí góp phần đánh giá hiệu quả về mặt thẩm mỹ chúng tôi sẽ đề cập ở phần sau.

Khi quan sát trên phim X quang, chúng tôi thấy 100% các bệnh nhân còn khoảng tiếp ráp xương ghép và xương chủ, mặc dù khoảng này rộng hẹp khác nhau. Điều này chứng tỏ diễn biến quá trình liền xương sau ghép mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu có chiếu tia gamma với xương chủ là chậm, phù hợp với sự mô tả trong y văn trước đây, Lu Y và cộng sự (2012) trong một thông báo kết quả nghiên cứu đã cho rằng mô ghép xương có thể tồn tại trong ngắn hạn và tái sinh trong trung và dài hạn [32],[113]. Trong số các bệnh nhân đánh giá trên phim X quang thì có tới 60% số bệnh nhân nghiên cứu có mật độ ở mảnh xương ghép giảm hơn so với xương chủ sau khoảng thời gian

chúng tôi theo dõi từ một đến hai năm, kết quả này tương tự nhận định của một số tác giả khác [114]. Như vậy có thể thấy rằng ở khoảng thời điểm này vẫn đang diễn ra quá trình phá hủy xương cũ để tạo xương mới. Xương sọ sở hữu cơ cấu tổ chức cao nhưng hạn chế mật độ tế bào xương, do đó khả năng tạo xương của xương sọ cũng hạn chế, đặc biệt sau chiếu tia xạ các tế bào xương bị chết sau khi ghép làm giảm tiềm năng tạo xương của xương sọ do đó quá trình liền xương thường rất chậm, thậm chí không thể liền hoàn toàn [32],[89], chúng tôi cho rằng đây có thể là một trong những nguyên nhân tiêu xương nhất là những trường hợp bệnh nhân có ổ khuyết xương lớn. Tuy nhiên, nhiều tác giả cho rằng tiêu xương là biến chứng hay gặp liên quan đến sự tái tạo xương mặc dù tỷ lệ không nhiều [112],[115], [116], [117].

Đặc biệt, trong nghiên cứu quá trình nghiên cứu, chúng tôi có 4 bệnh nhân chụp thêm phim C.T Scanner, kết quả cho thấy độ dày của mảnh ghép xương sọ mỏng, có 1 bệnh nhân có biểu hiện liền xương. Kết quả này tương tự như thông báo của tác giả Schuss P và cộng sự (2013) là có 01 bệnh nhân xương hòa nhập liền tốt trong khi nghiên cứu 18 bệnh nhân [111]. Bàn luận về vấn đề này, theo chúng tôi cần có nghiên cứu sâu hơn và số lượng bệnh nhân chụp C.T Scanner nhiều hơn để phân tích.

Theo kết quả bảng 3.12 đánh giá sự vững chắc sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu vào xương chủ, kết quả đạt yêu cầu là 93,34% số trường hợp đạt vững chắc và có 2 trường hợp không đạt độ vững chắc chiếm 6,67%. Chúng tôi nhận thấy trong 2 bệnh nhân không đạt độ vững chắc mảnh xương ghép có 01 bệnh nhân là do rò dịch não tủy gây viêm xương và 01 bệnh nhân có rò dịch não tủy và có hiện tượng tiêu xương (theo bảng 3.10). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng có 01 trường hợp viêm xương tương tự nghiên cứu của Schuss P và cộng sự (2013) [111].

Mặc dù, phương pháp khử trùng khác nhau, nhiệt độ bảo quản cũng có sự khác nhau, nhưng kết quả đạt sự vững chắc của mảnh xương ghép vào xương chủ trong nghiên cứu của chúng tôi đạt 93,34% cũng tương tự kết quả nghiên cứu của Trần Thanh Bảo (2007) là 93,76%, Nguyễn Kim Chung (2000) đạt 93,7% [8],[9]; Và từ kết quả thực nghiệm của chúng tôi cũng cho thấy việc cố định hiệu quả hơn khi sự tiếp giáp giữa mảnh xương ghép và xương chủ càng sát gần càng tốt, các tác giả Pape HC (2010), Iwama T (2003) đã đánh giá điều này rằng chìa khóa cho sự thành công sau ghép xương sọ tự thân là sự tiếp giáp cố định giữa mảnh xương ghép và xương chủ [32],[89]. Do đó, chúng tôi cho rằng khi các nhà lâm sàng vận dụng tốt để mảnh xương ghép tiếp ráp xương chủ càng nhiều thì sẽ góp phần đem lại hiệu quả cho độ vững chắc và thuận lợi cho quá trình liền xương của bệnh nhân

Thẩm mỹ là một trong những lý do các bệnh nhân khuyết sọ mong muốn được phẫu thuật để tái tạo hộp sọ. Theo các tiêu chí hình thái đánh giá về thẩm mỹ trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả ở bảng 3.13 cho thấy có 86,67% trường hợp đạt và 13,33% không đạt yêu cầu. Kết quả này cũng tương tự như kết quả của Iwama T, Yamada J và cộng sự (2003) [89], kết quả của nhóm tác giả Goiato MC, Anchieta RB và cộng sự (2009), mặc dù vật liệu trong nghiên cứu không phải là mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu có chiếu tia gamma liều 25kGy [102].

Theo số liệu từ bảng 3.14, tỷ lệ bệnh nhân hài lòng với kết quả tái tạo hộp sọ là 76,67%, có 2 bệnh nhân rất hài lòng, 5 bệnh nhân không hài lòng với tỷ lệ 16,67%. Trong đó 4 bệnh nhân không đạt về thẩm mỹ và 01 bệnh nhân có biểu hiện viêm xương. Quá trình nghiên cứu có 2 bệnh nhân (6,67%) sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu đã thay mảnh xương bảo quản bằng titan do có hiện tượng tiêu xương, thẩm mỹ không đạt, đây là

những bệnh nhân còn trẻ tuổi nên không tự tin và không hài lòng với kết quả sau phẫu thuật ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu.

Mặc dù tỷ lệ thay thế vật liệu khác này không cao nhưng điều đó cũng thêm một lần nữa khẳng định thẩm mỹ cũng là một trong những chỉ định quan trọng trong việc điều trị khuyết sọ của các bác sĩ lâm sàng, đó cũng là động lực quyết định phẫu thuật của bệnh nhân để hướng tới chất lượng cuộc sống.

4.4. Những đóng góp mới của đề tài

Những kết quả nghiên cứu đánh giá diễn biến quá trình liền xương sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu trên thỏ đã đưa ra những minh chứng cho quá trình liền xương sọ. Đó là hiện tượng cốt hóa trực tiếp từ mô liên kết – mạch từ vùng giữa mảnh xương ghép và xương chủ; sự xâm nhập mô liên kết – mạch vào mảnh ghép để cung cấp các nguyên liệu, cùng với vai trò giàn giáo của mảnh xương ghép với các yếu tố tại chỗ đã kích thích quá trình cốt hóa để liền xương. Đây là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam về vấn đề này, do đó có ý nghĩa góp phần cung cấp những cơ sở lý thuyết cho chuyên ngành Mô học và các nhà lâm sàng về quá trình liền sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu chiếu tia gamma liều 25kGy để ứng dụng trong quá trình lựa chọn vật liệu phù hợp khi điều trị khuyết sọ cho bệnh nhân.

Trên các mảnh xương sọ người, khi quan sát dưới kính hiển vi quang học đã phát hiện được các hệ thống Havers điển hình trong các vách xương ở vùng xương xốp, đây là những thông tin mới chưa thấy các tác giả trước đây mô tả trong y văn và cũng là một đóng góp mới cho chuyên ngành để có thể sử dụng tham khảo trong học tập và nghiên cứu. Những kết quả nghiên cứu vi thể các mảnh xương sọ người bảo quản lạnh sâu là minh chứng sự biến đổi theo hướng giảm chất lượng mô xương sọ khi bảo quản trên 5 năm, từ đó khuyến cáo các nhà bảo quản mô không nên bảo quản xương sọ quá 5 năm, và cũng khuyến cáo các nhà lâm sàng sớm ghép lại cho bệnh nhân.

Những nghiên cứu kết quả sau ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu có chiếu tia gamma liều 25kGy trên người cho thấy: Quá trình liền xương sọ trên người diễn ra chậm, mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu chiếu tia gamma liều 25kGy là vật liệu phù hợp có nhiều ưu điểm: sẵn có, rẻ tiền, đảm bảo sự tương thích sinh học nhất, không bị thải loại, đảm bảo độ cong, đảm bảo độ vững chắc, chức năng bảo vệ não và thẩm mỹ, dễ thăm khám sau ghép. Kết quả lâm sàng, X quang và những kết quả trên thực nghiệm đã cho thấy ý nghĩa quan trọng của việc tiếp ráp giữa mảnh xương ghép và xương chủ, từ đó khuyến cáo các nhà lâm sàng trong quá trình thực hiện kỹ thuật ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu chiếu tia gamma liều 25kGy nên tận dụng tối đa để vùng tiếp giáp càng hẹp càng tốt nhằm nâng cao hiệu quả độ vững chắc, chức năng bảo vệ não cũng như quá trình liền xương.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu hiệu quả của phương pháp ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu tiệt trùng bằng tia gamma liều 25kGy trên động vật thực nghiệm và ở người, chúng tôi rút ra được những kết luận sau:

1. Quá trình liền xương trên thỏ thực nghiệm có đặc điểm:

- Mô ghép được dung nạp tốt, không có hiện tượng đào thải mảnh ghép.
- Quá trình liền xương ban đầu theo hướng tăng sinh mô liên kết mạch và tạo can xơ - sụn. Sau đó, sự cốt hóa xảy ra theo cách cốt hóa trực tiếp từ mô liên kết – mạch và cốt hóa từ can xơ - sụn. Sự cốt hóa vùng ghép thể hiện bằng hình ảnh cầu xương nối giữa xương chủ với xương ghép và hiện tượng khoáng hoá nền xương vùng ghép. Sự lắng đọng các chất khoáng trong mô nền xương vùng ghép ngày càng rõ và hoàn chỉnh dần theo thời gian. Trong diễn biến quá trình liền xương sau ghép, mảnh xương ghép bị tiêu dần và được thay thế bằng mô xương tái tạo.

2. Cấu trúc vi thể xương sọ người có các hệ thống Havers, đặc biệt ở các vách xương của vùng xương xốp. Với thời gian bảo quản lạnh sâu dưới 5 năm ở nhiệt độ -85°C , hình thái vi thể của mảnh xương sọ người bảo quản chưa có biểu hiện thay đổi so với mảnh xương chưa bảo quản. Nhưng khi thời gian bảo quản kéo dài trên 5 năm, mảnh xương có biểu hiện chất lượng mô xương giảm, các lá xương không còn nguyên vẹn, mất cấu trúc chất nền.

3. Với vật liệu là mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu có chiếu tia gamma liều 25kGy để điều trị khuyết sọ ở 30 bệnh nhân chấn thương sọ não, thời gian theo dõi sau ghép trung bình $16,93 \pm 5,98$ tháng, kết quả độ vững chắc đạt 93,34%, thẩm mỹ đạt 86,67%; 83,33% bệnh nhân hài lòng sau phẫu thuật tái tạo khuyết sọ. Trên phim X quang, mảnh xương ghép có biểu hiện giảm mật độ so với xương chủ, chưa thể hiện sự liền xương.

KHUYẾN NGHỊ

Từ kết quả nghiên cứu của đề tài, chúng tôi có một số khuyến nghị sau:

1. Mảnh xương sọ sau mổ giải áp nên được giữ bảo quản lạnh sâu theo đúng quy trình với thời gian bảo quản không quá 5 năm để sẵn sàng cho việc ghép để tái tạo hộp sọ.
2. Ghép tự thân mảnh xương sọ sau bảo quản lạnh sâu là phương pháp nên được sử dụng rộng rãi ở các cơ sở có điều kiện phẫu thuật sọ não.
3. Kỹ thuật ghép tự thân mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu cần chú ý để bờ mảnh xương ghép tiếp xúc càng sát với bờ xương chủ càng tốt.

**DANH MỤC NHỮNG CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. *Bùi Thanh Thủy, Nguyễn Khang Sơn, Nguyễn Thế Hòa (2014)*, Biến đổi hình thái mô ghép tự thân mảnh xương sọ thỏ bảo quản lạnh sâu. Tạp chí Y Học Việt Nam, số 2/2014, tập 415, Trang 23 -27.

2. *Bùi Thanh Thủy, Nguyễn Khang Sơn (2014)*, Siêu cấu trúc bề mặt pha khoáng vùng ghép tự thân mảnh xương sọ thỏ bảo quản lạnh sâu dưới kính hiển vi điện tử quét, Tạp chí Y Học Việt Nam, số đặc biệt tháng 11/2014, tập 424, Trang 170-176.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Laurencin CT, Calhoun JH (2009). Bone Graft Substitute Materials, (<http://emedicine.medscape.com/article/1230616-overview>), dec 3.
2. AATB (2008), *Standards for Tissue Banking*, American Association of Tissue banks, Virginia.
3. Trần Công Toại (2007). Vai trò xương ghép đồng loại trong thay khớp háng, *Hội nghị thường niên của Hội chấn thương chỉnh hình Thành phố Hồ Chí Minh*.
(<http://docs.google.com/viewer...203.162.18.29/upload/HNK...6/29/2011>)
4. Bùi Anh Quốc, Đặng Văn Nghìn, Lê Phước Tâm và cộng sự (2008). Ứng dụng công nghệ tạo mẫu nhanh tạo chi tiết cấy ghép sọ não, *Tạp chí phát triển khoa học và Công nghệ*, tập 11, số 12, trang 45-49.
5. Spetzer U, Vougioukas V, Schipper J (2010). Materials and techniques for osseous skull reconstruction, *Minim Invasive Ther Allied Technol*, Apr; 19(2): 110-121.
6. Quách Thị Yên (2011). *Thực trạng bảo quản lạnh sâu mảnh xương sọ để ghép tự thân tại labo bảo quản mô- Trường Đại học Y Hà Nội từ 2002 - 2010*, Luận văn thạc sỹ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
7. Ngô Duy Thìn, Quách Thị Yên (2012). Đặc điểm dịch tễ các mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu tại labo bảo quản mô Đại học Y Hà Nội từ 2002 đến 2010, *Tạp chí Y học thực hành*, 9-840, trang 57-59.
8. Trần Thanh Bảo (2007). *Nghiên cứu ứng dụng bảo quản nắp sọ bằng phương pháp đông lạnh ở nhiệt độ -37°C*, Đề tài nghiên cứu khoa học cấp tỉnh Khánh Hoà.
9. Nguyễn Kim Chung (2000). *Tạo hình vòm sọ bằng xương sọ tự thân bảo quản lạnh sâu*, Luận văn Thạc sỹ y khoa, Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh.

10. Bauer TW, Muschler GF (2000). Bone graft materials. An overview of the basic science, *Clin Orthop Relat Res*, Feb; (371):10-27.
11. Fujishiro T, Kobayashi H, Bauer TW (2008). Autograft Bone, *Orthopedic Biology and Medicine*, Musculoskeletal Tissue Regeneration, 2, 65-79.
12. Engstrand T (2012). Biomaterials and biologics in craniofacial reconstruction, *J Craniofac Surg*, Jan; 23(1):239-242.
13. Artico M, Rerrante L, Pastore F.S et al (2003). Bone autografting of the calvaria and craniofacial skeleton: historical background, surgical results in a series of 15 patients and review of the literature, *Surg Neurol*, 71-77.
14. Aydin S, Kucukyuruk B, Abuzayed B et al (2011). Cranioplasty: Review of materials and techniques, *J Neurosci Rural Pract*, Jul – Dec; 2(2): 162 – 167.
15. Rogers GF, Greene AK (2012). Autogenous bone graft; basic science and clinical implications, *J Craniofac Surg*, Jan; 23(1): 323-7.
16. Motoki DS, Mulliken JB (1990). The healing of bone and cartilage, *Clin Plast Surg*, Jul; 17(3):527-44.
17. Lê Văn Cư (2004). Tạo hình hộp sọ bằng mảnh ghép xương tự thân bảo quản dưới da bụng và cố định bằng nẹp vis, *Hội nghị tổng kết 10 năm chấn thương thần kinh, Hội phẫu thuật thần kinh Việt Nam*, 92-93.
18. Ngô Tứ Minh (2003). *Ghép xương đồng loại đông khô: thực nghiệm và ứng dụng lâm sàng*, Luận án Tiến sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
19. APASTB (1989). Asia Pacific Association of Surgical Tissue Banking
20. Nguyễn Thị Thuý Hằng (2007). Khảo sát tình trạng nhiễm khuẩn của các mảnh xương sọ trước bảo quản lạnh sâu, Khóa luận tốt nghiệp bác sĩ y khoa, Trường Đại học Y Hà Nội.
21. Honeybul S, Ho KM (2012). How "successful" is calvarial reconstruction using frozen autologous bone?, *Plast Reconstr Surg*, Nov; 130(5):1110-7.

22. Bhaskar IP, Yusheng L, Zheng M et al (2011). Autogenous skull flaps stored frozen for more than 6 months: do they remain viable?, *J Clin Neurosci*, Dec, 18(12): 1690-1693.
23. Bhaskar IP, Zaw NN, Zheng M et al (2011). Bone flap storage following craniectomy: a survey of practices in major Australian neurosurgical centres, *ANZ Journal of Surgery*, Mar; 81 (3): 137 -141.
24. Trịnh Xuân Đán (2008). Giải phẫu đầu - mặt - cổ, *Giải phẫu học*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tập 1, trang 150 – 165.
25. Trịnh Bình (2007), Mô liên kết chính thức, *Bài giảng Mô – Phôi*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, trang 39 – 52.
26. Clarke B (2008). Normal Bone Anatomy and Physiology, *Clin J Am Soc Nephrol* 3: 131–9.
27. Raisz LG (1999). Physiology and Pathophysiology of Bone Remodeling, *Clinical Chemistry* 45, No.8(B), 1353–8.
28. Väänänen HK, Zhao H, Mulari M et al (2000). The cell biology of osteoclast function, *Journal of Cell Science* 113, 377 - 81.
29. Chen D, Zhao M, Mundy GR (2004). Bone morphogenetic proteins, *Growth Factors*, Dec, 22(4), 233-241.
30. Chenard KE, Teven CM, He TC et al (2012). Bone morphogenetic proteins in craniofacial surgery: current techniques, clinical experiences, and the future of personalized stem cell therapy, *J Biomed Biotechnol*.
31. Elsalanty ME, Genecov DG (2009). Bone Graft in Craniofacial Surgery, *Craniofacial Trauma Reconstr*, Oct; 2(3):125-134.
32. Pape HC, Evans A, Kobbe P (2010). Autologous bone graft: properties and techniques, *J Orthop Trauma*, Mar; 24 Suppl 1: S36-40.
33. Chang SC, Chung HY, Tai CL et al (2010). Repair of large cranial defects by hBMP-2 expressing bone marrow stromal cells: comparison between

- alginate and collagen type I systems, *J Biomed Mater Res A*, Aug;94(2):433-41.
34. Roodman GD (1993), Role of cytokines in the regulation of bone resorption, *Calcif Tissue Int*, 53 Suppl 1:S94-8.
 35. Sanan A, Haines SJ (1997). Repairing Holes in the Head: A History of Cranioplasty, *Neurosurgery*: Mar, 40(3), 588-603.
 36. de Boer HH (1988). The history of bone grafts, *Clin Orthop Relat Res*, Jan;(226):292-298.
 37. Durand JL, Renier D, Marchac D (1997). The history of cranioplasty, *Ann Chi Plast Esthet*, Feb;42(1):75-83.
 38. Glicenstein J (2000). History of bone reconstruction, *Annales de Chirurgie Plastique et Esthetique*, Jun, 45(3):171-174.
 39. Glicenstein J (2010). The Golden book of the French plastic surgery, *Annales de Chirurgie Plastique et Esthetique*, 55(5):338-353
 40. Nguyễn Công Tô, Nguyễn Đình Hưng, Quách Văn Kiên (2009). Phẫu thuật tạo hình khuyết vòm sọ lớn sau mổ giải phóng chèn ép não do chấn thương bằng xương sọ tự thân bảo quản lạnh sâu, *Tạp chí Y học thực hành*, 686, số 11, trang 43- 47.
 41. Nguyễn Ngọc Bá và cộng sự (2004). Nghiên cứu ứng dụng phẫu thuật tạo hình khuyết vòm sọ bằng xương tự thân. *Hội nghị tổng kết 10 năm chấn thương thần kinh, Hội phẫu thuật thần kinh Việt Nam*, 86 -87.
 42. Nguyễn Quang Hiền, Nguyễn Điền Tuấn, Lê Thái Long và cộng sự (2006). Phẫu thuật tạo hình khuyết hồng vòm sọ bằng mảnh ghép tự thân bảo quản -33°C tại bệnh viện đa khoa trung tâm An Giang. (<http://bvag.com.vn/index.php/bao-cao-nckh/bao-cao-nam-2006/>).
 43. Nguyễn Hữu Hữu (2004). Phẫu thuật tạo hình khuyết vòm sọ bằng xương sọ tự thân bảo quản ở Bến Tre, *Hội nghị tổng kết 10 năm chấn thương thần kinh, Hội Phẫu thuật thần kinh Việt Nam*, 90-91.

44. Trần Hành (1998). Phẫu thuật tạo hình hộp sọ bằng vật liệu tổ hợp carbon “Intort – 2”, *Báo cáo hội nghị khoa học kỹ thuật y dược chào mừng 300 năm Sài Gòn - TP Hồ Chí Minh, Hội Y – Dược học TP Hồ Chí Minh*, 32 - 33.
45. Phan Văn An, Bùi Công Khê, Vũ Thanh Hương và cộng sự (2005). Chế tạo vật liệu cấy ghép tổ hợp sợi các bon trong phẫu thuật chỉnh hình và phẫu thuật thần kinh, Ykhoa.net/NCKH/p347-p408/ptth07.HTM.
46. Nguyễn Công Tô (2009). Tạo hình khuyết xương vòm sọ bằng mảnh vá carbon “Intost -2”, *Tạp chí nghiên cứu y học*, 62(3), 87- 90.
47. Lee DW, Kim JY, Lew DH (2010). Use of rapidly hardening hydroxyapatite cement for facial contouring surgery, *J Craniofac Surg*, Jul;21(4):1084-8.
48. Da Silva RV, Bertran CA, Kawachi EY et al (2007). Repair of cranial bone defects with calcium phosphate ceramic implant or autogenous bone graft, *J Craniofac Surg*, Mar;18(2):281-6.
49. Cabraja M, Klein M, Lehmann TN (2009). Long-term results following titanium cranioplasty of large skull defects, *Neurosurg Focus*, Jun;26(6):E10.
50. Werndle MC, Crocker M, Zoumprouli A et al (2012). Modified acrylic cranioplasty for large cranial defects, *Clin Neurol Neurosurg*, Sep;114(7):962-4.
51. Prickett KK, Wise SK (2013). Grafting materials in skull base reconstruction, *Adv Otorhinolaryngol*, 74:24-32.
52. Al-Tamimi YZ, Sinha P, Trivedi M et al (2012). Comparison of acrylic and titanium cranioplasty, *Br J Neurosurg*, Aug;26(4):510-3.
53. Szpalski C et al (2010), Cranial Bone Defects: Current and Future Strategies, *Neurosurg Focus*; 29 (6):e8.

54. Kuttnerberger JJ, Hardt N (2001). Long-term results following reconstruction of craniofacial defects with titanium micro-mesh systems, *J Craniomaxillofac Surg*, Apr;29(2):75-81.
55. Komiya K, Nasuno S, Uchiyama K et al (2003). Status of Bone Allografting in Japan- Nation – Wide Survey of Bone Grafting Performed from 1995 through 1999, *Cell Tissue Bank*, 4(2-4), 217-220.
56. Hunter PD, Pelofsky S (1995). Classification of autogenous skull grafts in cranial reconstruction, *J Craniomaxillofac trauma*,1(4):8-15.
57. Neumann A, Kevenhoerster K (2011). Biomaterials for craniofacial reconstruction, *Published online March 10*.
58. Khan SN, Cammisa FP Jr, Sandhu HS et al (2005). The biology of bone grafting, *J Am Acad Orthop Surg*, Jan-Feb;13(1):77-86.
59. Goldberg VM, Stevenson S (1987). Natural history of autografts and allografts, *Clin Orthop Relat Res*, Dec,(225):7-16.
60. Sultan SM, Davidson EH, Butala P et al (2011). Interval cranioplasty: comparison of current standards, *Plast Reconstr Surg*, May;127(5):1855-1864.
61. Oklund SA, Prolo DJ, Gutierrez RV et al (1986). Quantitative comparisons of healing in cranial fresh autografts, frozen autografts and processed autografts, and allografts in canine skull defects, *Clin Orthop Relat Res*, Apr;(205):269-291.
62. Agrawal A, Lakshmi NG (2011). Split Calvarial Bone Graft for the Reconstruction of Skull Defects, *J Surg Tech Case Rep*, Jan-Jun;3(1):13–16.
63. Zins JE, Langevin CJ, Nasir S (2010), Controversies in skull reconstruction, *J Craniofac Surg*, Nov;21(6):1755-60.
64. Nguyễn Quang Long, Lương Đình Lâm, Trịnh Xuân Lê (1996). Nhận xét về ghép xương đồng loại dự trữ bằng mật ong, *Báo cáo tại Hội nghị quốc*

gia Các vấn đề xã hội và y học của việc hiến và ghép mô, tại TP Hồ Chí Minh, ngày 28 -29/11.

65. Tsukagoshi T, Satoh K, Hosaka Y (1998). Cranioplasty with neovascularized autogenous calvarial bone, *Plast Reconstr Surg*, Nov; 102(6):2114-2118.
66. Pasaoglu A, Kurtsoy A, Koc RK et al (1996). Cranioplasty with bone flap preserved under the scalp, *Neurosurg Rev*:19(3):18-19.
67. Morina A, Kelmendi F, Dragusha S et al (2011). Cranioplasty with subcutaneously preserved autologous bone grafts in abdominal wall- Experience with 75 cases in a post-war country Kosova, *Surg Neurol Int*, 2:72.
68. Moss SD, Joganic E, Manwaring KH et al (1995). Transplanted determinerized bone graft in cranial reconstructive surgery, *Pediatr. Neurosurg*,23(4):199-204.
69. Pegg DE (2002). The history and principles of cryopreservation, *Semin Reprod Med*, Feb, 20(1):5 -13.
70. Pegg DE (2007). Principles of cryopreservation, *Methods Mol Biol*, 368:39-57.
71. Fölsch C, Mittelmeier W, Bilderbeek U et al (2012). Effect of Storage Temperature on Allograft Bone, *Transfus Med Hemother*, Feb;39(1): 36-40.
72. Tomford WW, Doppelt SH, Mankin HJ et al (1983). Bone Bank procedures. *Clin Orthop Rel Res*,174:15 - 21.
73. Quách Thị Yến, Ngô Duy Thìn (2012). Đặc điểm hình thái các mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu tại labo bảo quản mô ĐH Y HN từ 2002 đến 2010 – liên quan giữa tình trạng mảnh xương và khả năng nhiễm khuẩn”. *Tạp chí NCYH – 80 PT- số 3C*, trang 228-233.

74. Võ Văn Thuận, Lê Thế Trung, Nguyễn Đình Bảng và cộng sự (1993). *Nghiên cứu bảo quản mô có nguồn gốc từ người và động vật được tiệt trùng bằng tia gamma để điều trị trong ngoại khoa*, Đề tài nghiên cứu khoa học công nghệ cấp nhà nước. Viện khoa học kỹ thuật hạt nhân, Hà Nội.
75. Azar FM (2009). Tissue processing: role of secondary sterilization techniques, *Clin Sports Med*, Apr;28(2):191-201.
76. Lê Thị Hồng Nhung (2006). *Nghiên cứu thực nghiệm lựa chọn liều chiếu tia gamma khử trùng cho mảnh xương sọ bảo quản lạnh sâu*, Luận văn Thạc sỹ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
77. Ngô Duy Thìn, Lê Thị Hồng Nhung (2012). Khử khuẩn bằng tia gamma và ảnh hưởng đến độ bền mô xương vòm sọ chó bảo quản lạnh sâu, *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, Phụ trương 80, số 3C, trang 135-139.
78. Lee C, Antonyshyn O.M, Forrest CR (1995). Cranioplasty: indication, technique and early results of autogenous split skull cranial vault reconstruction, *J Craniomaxillofac surg*, Jun;23(3):133-142.
79. Vanaclocha V, Saiz Sapena N, Garcia Casasola C et al (1997). Craniaoplasty with autogenous autoclaved calvarial bone flaps in the case of tumoral invasion, *Acta Neurochir (Wien)*, 139(10):970-976.
80. Vanaclocha V, Bazan A, Saiz SN et al (1997). Use of frozen cranial vault bone allografts in the repair of extensive cranial bone defects, *Acta Neurochir (Wien)*, 139(7): 653-660.
81. Asano Y, Ryuke Y, Hasuo M et al (1993). Cranioplasty using cryopreserved autogenous bone, *No -To- Shinkei*, Dec; 45(12):1145-1150.
82. Crotty FM, Mangiagalli EF (1979). Cranio defect repair by replacing bone flaps, *J Neurosurg Sci*, Oct-Dec; 23(4):289 – 294.

83. Osawa M, Hara H, Ichinose Y et al (1990). Cranioplasty with a frozen and autoclaved bone flap, *Acta Neurochir (Wien)*,102(1-2):38 - 41.
84. Burchardt H (1987). Biology of bone transplantation, *Orthop Clin North Am*, April 18 (2), 187- 196.
85. Goldberg VM, Stevenson S (1993). The biology of bone grafts, *Semin Arthroplasty*,Apr;4(2):58-63.
86. Prolo DJ, Burres KP, McLaughlin WT et al (1979). Autogenous Skull Cranioplasty: Fresh and Preserved (Frozen), with Consideration of the Cellular Response, *Neurosurgery*,Jan, 4(1), 18 -29.
87. Ozaki F (1994). Clinical and experimental study for cranioplasty with autogenous frozen bone graft, *J.Wakayama Med Soc*, Jan 45(2):217-225.
88. Nagayama K, Yoshikawa G, Somekawa K et al (2002). Cranioplasty using the patient's autogenous bone preserved by freezing -an examination of post-operative infection rates, *No Shinkei Geka*. Feb;30(2):165-169.
89. Iwama T, Yamada J, Imai S et al (2003). The use of frozen autogenous bone flaps in delayed cranioplasty revisited, *Neurosurgery*, Mar;52(3):591-596.
90. Grant GA, Jolley M, Ellenbogen RG et al (2004). Failure of autologous bone-assisted cranioplasty following decompressive craniectomy in children and adolescents, *J Neurosurg*, Feb;100(2 Suppl Pediatrics):163-168.
91. Polezhaev LV, Kantorova VI, Sinitsin LN et al (1984). Repair of cranial defects with regenerating bone during transplantation of gamma-irradiated bone filings, *Zh Vopr Neurokhir Im N N Burdenko*, Nov- Dec, (6); 57- 60.
92. Reuther T, Kochel M, Mueller RU et al (2010). Cryopreservation of autologous bone grafts: an experimental study on a sheep animal model, *Cells Tissues Organs*,191(5):394-400.

93. Garusi C, Calabrese L, Giugliano G et al (2001). Mandible reconstruction and autogenous frozen bone graft: experimental study on rats, *Microsurgery*; 21(4):131-134.
94. Chim H, Gosain AK (2009). Biomaterials in craniofacial surgery: experimental studies and clinical application, *J Craniofac Surg*,Jan; 20(1):29-33.
95. Humber CC, Sondor GK, Davis GM et al (2010). Bone healing with an in situ-formed bioresorbable polyethylene glycol hydrogel membrane in rabbit calvarial defects, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,Mar;109(3):372-84.
96. Clune JE, Mulliken JB, et al. (2011). Autologous cranial particulate bone graft: an experimental study of onlay cranioplasty. *J Craniofac Surg*, 22 (1): 319-23.
97. Chen MJ, Zhuang FL, Wang MS (2008). Experimental study of repairing skull defect with autogenous cranial bone dust, *Zhonghua Zheng Xing Wai Ke Za Zhi*,May;24(3):203-7.
98. Gosain AK, Gosain SA, Sweeney WM (2011). Regulation of osteogenesis and survival within bone grafts to the calvaria: the effect of the dura versus the pericranium, *Plast Reconstr Surg*,Jul;128(1):85-94.
99. Sohn JY, Park JC, Um YJ (2010), Spontaneous healing capacity of rabbit cranial defects of various sizes, *J Periodontal Implant Sci*, Aug;40(4):180-7.
100. Yang X, Li Y, Huang Q et al (2012). Evaluation of a biodegradable graft substitute in rabbit bone defect model, *Indian J. Orthop*, May-Jun;46(3):266-73.
101. Schroeder JE, Mosheiff R (2011). Tissue engineering approaches for bone repair: Concepts and evidence. *Injury*, volume 42,Issue 6: 609-13.

102. Goiato MC, Anchieta RB, Pita MS et al (2009). Reconstruction of skull defects: currently available materials, *Craniofac Surg*. Sep,20(5):1512-8.
103. Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E (2005). Bone substitutes: An update. *Injury*, volume 36, Issue 3, Supplement, page S20-7.
104. Nguyễn Văn Vận (2008). *Nghiên cứu hình thái cấu trúc mô xương đốt bàn chân nam giới người Việt trưởng thành dưới ảnh hưởng của dung dịch ướp bảo quản*, Luận án tiến sĩ y học, Học viện quân y.
105. Salai M, Brosh T, Keller N et al (2000). The effects of prolonged cryopreservation on the biomechanical properties of bone allografts: A microbiological, histological and mechanical study, *Cell Tissue Bank*,1:69-73.
106. Beez T, Sabel M, Ahmadi SA et al (2013). Scanning electron microscopic surface analysis of cryoconserved skull bone after decompressive craniectomy, *Cell Tissue Bank*. May,1
107. Liang W, Xiaofeng Y, Weiguo L et al (2007). Cranioplasty of large cranial defect at an early stage after decompressive craniectomy performed for severe head trauma, *J Craniofac Surg*, May; 18(3): 526-32.
108. Chang V, hartzfeld P, Langlois M et al (2010). Outcomes of cranial repair after craniectomy, *J. Neurosurg*, May 112(5):1120 -4.
109. Schoekler B, Trimmer M (2014). Prediction parameters of bone flap resorption following cranioplasty with autologous bone, *Clin Neurol Neurosurg*, May; 120:64-7.
110. Lee SH, Yoo CJ et al (2014), Resorption of autogenous bone graft in cranioplasty: Resorption and reintegration failure, *Korea, J.Neurotrauma*, 10 (1):10-14.
111. Schuss P, Vatter H, Oszvald A (2013). Bone flap resorption: risk factors for the development of a long-term complication following cranioplasty after decompressive craniectomy, *J Neurotrauma*, Jan 15;30(2):91-5.

112. Kriegel RJ, Schaller C, Clusmann H (2007). Cranioplasty for large skull defects with PMMA (Polymethyl – methacrylate) or Tuloplast processed autogenic bone grafts, *Zentralbl Neurochir*, Nov;68(4):182-9.
113. Lu Y, Hui G, Liu F et al (2012). Survival and regeneration of deep-freeze preserved autologous cranial bone after cranioplasty, *Br J Neurosurg*, April, 26 (2): 216 - 21.
114. Dunisch P et al (2013). Risk factors of aseptic bone resorption: a study after autologous bone flap reinsertion due to decompressive craniotomy, *J Neurosurg*, May;118(5):1141-7.
115. Sundseth J, Sundseth A, Berg-Johnsen J et al (2014). Cranioplasty with autologous cryopreserved bone after decompressive craniectomy complications and risk factors for developing surgical site infection, *Acta Neurochir (Wien)* Apr;156(4):805-11.
116. Huang YH, Yang TM, Lee TC et al (2013). Acute autologous bone flap infection after cranioplasty for postinjury decompressive craniectomy, *Injury*, Jan, Vol 44, Issue 1, 44-47.
117. Bowers Ca, Riva – Cambrin J, Hertzler DA et al (2013). Risk factors and rates of bone flap resorption in pediatric patients after decompressive craniectomy for traumatic brain injury, *Neurosurg Pediatr*, May; 11(5): 526-32
118. Lee CH, Chung YS, Lee SH et al (2012). Analysis of the factors influencing bone graft infection after cranioplasty, *J Trauma Acute Care Surg*, Jul;73(1):255-60.

BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU

I. HÀNH CHÍNH

- Họ và tên: 2. Tuổi:..... 3. Giới: Nam/Nữ
- Địa chỉ:.....
- Địa chỉ liên lạc:
- ĐTNR:..... Di động:.....
- Nguyên nhân mở và ghép sọ:
- Tiền sử bệnh tật:
- Tình trạng kinh tế:
Khá giả Bình thường Khó khăn

II. THÔNG TIN BẢO QUẢN XƯƠNG

- Ngày gửi xương:.....
- Mã xương bảo quản:
- Ngày lấy xương bảo quản:.....
- Thời gian mảnh xương bảo quản:
Dưới 3 tháng 3-6 tháng Trên 6 tháng
- Kích thước mảnh xương mang đến bảo quản:cm
Dưới 20 cm² 20 – dưới 70cm² 70 – dưới 100cm²
100 – 120cm² Trên 120cm²
- Màu sắc mảnh xương mang đến bảo quản:
- Cân, cơ quanh mảnh xương:
Bình thường Nhiều Ít
- Kết quả cấy khuẩn sau chiếu xạ túi đựng mảnh ghép:
Dương tính Âm tính

9. Mảnh xương sọ được lấy để ghép tự thân: Có Không

III. THÔNG TIN TRÊN LÂM SÀNG

1. Ngày vào viện phẫu thuật ghép xương:

2. Mã bệnh án:.....

3. Bệnh nhân đến khám lại sau ghép tự thân ở thời điểm:

6 -12 tháng 13- 18 tháng 19 – 24 tháng trên 24 tháng

4. Khám toàn trạng

- Mạch: t^o: HA:

- Tinh thần:

- Tiếp xúc:

- Có đau đầu: 1. Giảm sau ghép 2.Không giảm sau ghép

- Có co giật: 1. Giảm sau ghép 2.Không giảm sau ghép

- Hay quên: 1. Có 2. Không

- Dễ bị kích động: 1. Có 2. Không

- Triệu chứng khác:.....

5. Vị trí khuyết xương:

1. Trán 2. Thái dương 3. Chẩm

4. Trán – đỉnh 5. Thái dương – đỉnh

6. Trán – thái dương – đỉnh 7. Thái dương – đỉnh – chẩm

6. Vết sẹo mổ:

1. Phẳng 2. Lồi lõm

7. Vùng xương ghép:

1. Phẳng 2. Lõm khuyết 3. Hỗn hợp

8. Rò dịch nhiễm khuẩn

1. Có 2. Không

9. Di động, bập bênh xương

1. Có 2. Không

IV. X QUANG (hoặc CT.Scanner)

1. Độ đậm xương ghép so với xương chủ:
2. Khoảng trống tiếp ráp xương chủ và xương ghép:
3. Nhận xét khác:
-
-
-

V. KẾT QUẢ THĂM MỸ

- 1 Tốt
- 2 Đạt
- 3 Không đạt

VI. MỨC ĐỘ HÀI LÒNG CỦA BỆNH NHÂN

- Tự ti, mặc cảm khi giao tiếp: 1. Có 2. Không
- Sau KQ ghép tự thân, bệnh nhân và gia đình:
 1. Rất hài lòng
 2. Hài lòng
 3. Không hài lòng
 4. Không ý kiến

Hà Nội, ngày.....tháng.....năm

Người nghiên cứu

**DANH SÁCH BỆNH NHÂN GỬI XƯƠNG
TẠI LABO BẢO QUẢN MÔ- ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI VÀ GHÉP TỰ
THÂN XƯƠNG SỢ TẠI BỆNH VIỆN VIỆT ĐỨC HÀ NỘI**

| STT | Mã xương | Mã BA | Họ và tên | Tuổi | Giới | Ngày vào viện | Ngày ra viện |
|-----|-------------|----------|------------------|------|------|------------------|-----------------|
| 1. | 3439 | 1440 | Đỗ Xuân Th | 24 | Nam | 18/1/2011 | 20/1/2011 |
| 2. | 3425 | 3998 | Phạm Thị H | 26 | Nữ | 22/2/2011 | 25/2/2011 |
| 3. | 3574 | 5084 | Trần Thị V | 25 | Nữ | 5/3/2011 | 8/3/2011 |
| 4. | 3584 | 6071 | Nguyễn Quang S | 51 | Nam | 15/3/2011 | 18/3/2011 |
| 5. | 3526 | 6456 | Phạm Thị Thu H | 42 | Nam | 17/3/2011 | 21/3/2011 |
| 6. | 3694 | 10117 | Nguyễn Văn Ng | 57 | Nam | 25/4/2011 | 27/4/2011 |
| 7. | 3681 | 10126 | Nguyễn Tiên T | 58 | Nam | 23/4/2011 | 25/4/2011 |
| 8. | 3379 | 6777 | Cao Văn Kh | 28 | Nam | 21/3/2011 | 25/3/2011 |
| 9. | 3659 | 10443 | Vi Quốc Ch | 37 | Nam | 26/4/2011 | 29/4/2011 |
| 10. | 3887 | 13926 | Đỗ Văn Ch | 23 | Nam | 27/5/2011 | 31/5/2011 |
| 11. | 3640 | 10128 | Đỗ Minh Th | 37 | Nam | 23/4/2011 | 25/4/2011 |
| 12. | 3595 | 6067 | Nguyễn Việt D | 26 | Nam | 15/3/2011 | 21/3/2011 |
| 13. | 3829 | 13928 | Nguyễn Hồng H | 43 | Nam | 20/5/2011 | 29/5/2011 |
| 14. | 3409 | 7991 | Trần Văn Q | 28 | Nam | 2/4/2011 | 4/4/2011 |
| 15. | 3742 | 11522 | Lê Văn Ch | 20 | Nam | 9/5/2011 | 13/5/2011 |
| 16. | 3883 | 15720 | Trần Bá T | 18 | Nam | 12/6/2011 | 17/6/2011 |
| 17. | 3969 | 23173 | Nguyễn Văn T | 32 | Nam | 12/8/2011 | 17/8/2011 |
| 18. | 4090 | 26742 | Trương Thị Kim A | 21 | Nữ | 12/9/2011 | 15/9/2011 |
| 19. | 4066 | 24784 | Đỗ Văn Ph | 32 | Nam | 26/8/2011 | 31/8/2011 |
| 20. | 3928 | 27484 | Đỗ Thị Kh | 48 | Nữ | 19/9/2011 | 23/9/2011 |
| 21. | 4026 | 27486 | Đầu Văn U | 35 | Nam | 19/9/2011 | 23/9/2011 |
| 22. | 4083 | 30681 | Lê Thị T | 41 | Nữ | 17/10/2011 | 20/10/2011 |

| | | | | | | | |
|-----|------|-------|----------------|----|-----|------------|------------|
| 23. | 3422 | 35237 | Nguyễn Bắc Th | 56 | Nam | 24/11/2011 | 28/11/2011 |
| 24. | 4236 | 35612 | Nguyễn Doãn Th | 21 | Nam | 28/11/2011 | 1/12/2011 |
| 25. | 4214 | 35149 | Tạ Huy Th | 39 | Nam | 22/11/2011 | 27/11/2011 |
| 26. | 4572 | 09751 | Nguyễn Tiến Th | 36 | Nam | 16/4/2012 | 20/4/2012 |
| 27. | 4694 | 14211 | Lê Ngọc Th | 53 | Nam | 23/5/2012 | 25/5/2012 |
| 28. | 4609 | 13717 | Nguyễn Văn V | 21 | Nam | 18/6/2012 | 20/6/2012 |
| 29. | 4625 | 15363 | Nguyễn Đức V | 18 | Nam | 1/6/2012 | 3/6/2012 |
| 30. | 4873 | 26761 | Diệp Thị L | 53 | Nữ | 14/8/2012 | 31/8/2012 |

Xác nhận của thầy hướng dẫn

**Xác nhận của Phòng KH-TH
Bệnh viện Việt Đức Hà Nội**