

ĐÁNH GIÁ TÁC ĐỘNG SINH HỌC CỦA VẬT LIỆU KẾT XƯƠNG TITAN XỐP ĐẾN CHỨC NĂNG TẠO MÁU TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

TS. LÊ VĂN QUÂN

Học viện Quân y

Phản biện khoa học: TS. ĐẶNG THÀNH CHUNG

Bộ môn Sinh lý bệnh, Học viện Quân y

TÓM TẮT: **Mục tiêu:** Đánh giá tác động sinh học của vật liệu kết xương titan xốp đến chức năng tạo máu trên động vật thực nghiệm. **Phương pháp:** Nghiên cứu thực nghiệm có đối chứng trên 24 thỏ khỏe mạnh, chia thành hai nhóm được cấy vật liệu kết xương bằng titan đặc và titan xốp. **Kết quả:** Số lượng hồng cầu, số lượng bạch cầu, số lượng tiểu cầu, chỉ số hồng cầu và công thức bạch cầu khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm thỏ. Đánh giá chức năng gan qua các chỉ số hóa sinh (AST và ALT) trước phẫu thuật khác biệt không có ý nghĩa; sau phẫu thuật 1 ngày, nồng độ các enzym ALT, AST so với các thời điểm khác trong cùng nhóm nghiên cứu khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Sau giai đoạn cấp tính, các chỉ số này dần trở lại bình thường. Đánh giá chức năng thận qua các chỉ số hóa sinh (ure và creatinin), trước và sau phẫu thuật cấy vật liệu kết xương hoặc giữa các thời điểm trong cùng nhóm nghiên cứu, thấy khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). **Kết luận:** Vật liệu kết xương bằng titan xốp có tính tương thích sinh học cao, không ảnh hưởng đến các chức năng tạo máu của động vật thực nghiệm.

Từ khóa: Vật liệu kết xương titan, thỏ, chỉ số huyết học.

ABSTRACT: **Object:** To investigate biological effects of titanium materials to hematological indices in experimental animals. **Methods:** Controlled experimental studies in 24 healthy rabbits. Animals were separated into 2 groups in which they were implanted solid titanium or sponge titanium materials. **Results:** There were no significant differences in number of red blood cells, number of platelets, hematocrit, hemoglobin, white blood cell count between two groups. Liver function was evaluated by AST and ALT concentrations. Before implantations, there were no significant differences in AST and ALT concentrations. 1 day after implantations, there were significant differences in AST and ALT concentrations in compared to these before implantations ($p < 0.05$). After acute inflammation period, these indexes changed gradually to normal values. Kidney function was evaluated by Ure and Creatinin concentrations. There were no significant differences in Ure and Creatinin concentrations between groups as well as experimental time points (before and after implantations) ($p > 0.05$). **Conclusion:** Sponge titanium materials have high biological compatibility and have no effects to normal hematopoietic function in experimental animals.

Keywords: Titanium materials, rabbit, hematological indices.

Chịu trách nhiệm nội dung: TS. Lê Văn Quân, Email: levanquan2002@yahoo.com

Ngày nhận bài: 04/3/2019; mời phản biện khoa học: 15/3/2019; chấp nhận đăng: 25/4/2019.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ.

Những năm gần đây, nhu cầu sử dụng các phương tiện kết xương trong điều trị ngày càng gia tăng, đặc biệt là phương tiện kết xương làm từ những vật liệu có tính tương thích sinh học cao. Titan đã được chứng minh là một trong các vật liệu tốt nhất làm phương tiện kết xương do ít gây các phản ứng có hại khi tồn tại trong cơ thể. Cùng với sự tiến bộ của khoa học kỹ thuật, nhiều phương pháp mới về tổng hợp các dạng khác nhau của vật liệu titan đã và đang được phát triển, ứng dụng trong lâm sàng. Những dạng khác

nhau này có thể cải thiện tính chất của vật liệu titan, như giảm khả năng hòa tan, tăng hoạt tính sinh học, tăng độ bền cơ lý, tăng khả năng hấp thụ protein, tăng hoạt tính kháng khuẩn... [7], [8].

Gần đây, các nhà khoa học trong nước đã thành công trong nghiên cứu sản xuất loại vật liệu mới làm dụng cụ kết xương là titan xốp, có khả năng phát triển, ứng dụng trong lâm sàng. Loại vật liệu mới này cần được đánh giá về khả năng tương thích sinh học trên cơ thể sống.

Chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm đánh giá tính tương thích sinh học của vật liệu kết

xương titan xếp lên chức năng tạo máu trên động vật thực nghiệm.

2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.

2.1. Đối tượng, vật liệu nghiên cứu:

- Đối tượng nghiên cứu: 24 con thỏ trắng trưởng thành khỏe mạnh, trọng lượng từ 2,0-2,5 kg/con, do Ban Chăn nuôi động vật thí nghiệm (Học viện Quân y) cung cấp, nuôi dưỡng theo tiêu chuẩn động vật nghiên cứu.

- Vật liệu nghiên cứu: titan xốp và titan đặc do Viện Vật liệu (Đại học Bách Khoa) nghiên cứu chế tạo, đạt tiêu chuẩn cơ sở và đáp ứng đầy đủ các tính chất lí hóa về vật liệu kết xương.

- Thời gian nghiên cứu: từ tháng 8/2017-02/2018, tại Bộ môn Sinh lí học, Học viện Quân y.

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

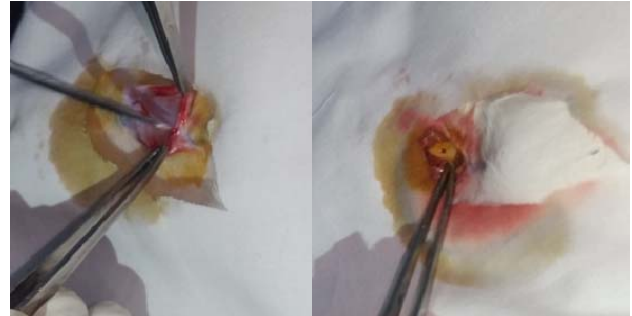
- Thiết kế nghiên cứu: thực nghiệm có đối chứng.

- Tiến hành thực nghiệm:

+ Chia ngẫu nhiên 24 con thỏ thành 2 nhóm, mỗi nhóm 12 con. Nhóm 1 (nhóm nghiên cứu - sử dụng titan xốp): thỏ được phẫu thuật (PT) đặt vật liệu titan xốp chữ nhật vào xương đùi với vít titan. Nhóm 2 (nhóm đối chứng - sử dụng titan đặc): thỏ được PT đặt vật liệu titan đặc chữ nhật vào xương đùi với vít titan.

+ Phương pháp PT cấy vật liệu kết xương: gây mê thỏ bằng ketamin (liều 25 mg/kg). Sau khi gây mê, đặt thỏ nằm nghiêng trên bàn mổ, cạo sạch lông và sát trùng da bằng dung dịch cồn 70°, Betadine 10% vùng mặt ngoài đùi sau. Rạch da vùng đùi sau dài 5 cm, bóc tách tổ chức dưới da, tìm khe giữa khối cơ vùng mặt trước đùi sau; bóc tách các khối cơ, các cân cơ để làm sạch mặt trước xương đùi (khoảng 3 cm, đoạn giữa xương đùi); dùng lóc cốt mạc và cắt sạch màng xương

đùi ở mặt trước; khoan 2 lỗ (đường kính 2 mm, sâu hết vỏ xương) cách nhau 1 cm (tương ứng với lỗ khuyết của nẹp) trên bề mặt xương đùi; đặt nẹp, bắt vít để nẹp ép sát và chặt lên bề mặt xương đùi thỏ. Rửa vết thương bằng dung dịch kháng sinh Gentamycin sulphate 80 mg. Khâu vết thương và chăm sóc sau phẫu thuật.



Hình ảnh PT bộc lộ và khoan lỗ đặt nẹp vít trên xương đùi thỏ thực nghiệm.

+ Phương pháp lấy máu và xét nghiệm: lấy máu tĩnh mạch tai thỏ (vào các thời điểm trước PT và sau PT cấy vật liệu kết xương 1 ngày, 1 tuần, 1 tháng). Mỗi lần lấy 4 ml máu, chia đều vào 2 ống nghiệm, mỗi ống 2 ml, chống đông bằng Heparin và EDTA. Xác định các chỉ số huyết học (số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu; công thức bạch cầu; hematocrit; huyết sắc tố) bằng máy phân tích huyết học tự động Swelab Alpha (hãng Swelab, Thụy Điển) và các chỉ số sinh hóa (chức năng gan: AST, ALT; chức năng thận: ure, creatinin) trên máy sinh hóa tự động (hãng Beckman coulter AU5800; hóa chất do hãng cung cấp). Tính giá trị trung bình của mỗi chỉ số để so sánh, đánh giá.

- Xử lí số liệu: bằng phần mềm thống kê SPSS 18.0.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.

3.1. Kết quả xét nghiệm một số chỉ số huyết học:

Bảng 1. Số lượng tế bào máu ngoại vi các thời điểm nghiên cứu.

Số lượng tế bào máu ngoại vi		Trước PT ⁽¹⁾	Sau PT 1 ngày ⁽²⁾	Sau PT 1 tuần ⁽³⁾	Sau PT 1 tháng ⁽⁴⁾	p
Hồng cầu (G/L)	Nhóm 1	5,29 ± 0,42	5,01 ± 0,09	5,44 ± 0,14	5,40 ± 0,34	> 0,05
	Nhóm 2	5,50 ± 0,26	5,30 ± 0,43	5,59 ± 0,62	5,40 ± 0,65	> 0,05
Bạch cầu (T/L)	Nhóm 1	11,01 ± 3,43	7,75 ± 1,31	7,25 ± 1,71	11,20 ± 1,73	> 0,05
	Nhóm 2	8,50 ± 2,55	7,98 ± 2,03	9,68 ± 2,63	7,60 ± 2,04	> 0,05
Tiểu cầu (G/L)	Nhóm 1	356,50 ± 82,38	264,25 ± 73,11	332,00 ± 34,37	192,67 ± 75,10	p ₁₋₄ < 0,05
	Nhóm 2	264,25 ± 73,11	332,50 ± 49,33	383,25 ± 77,81	175,33 ± 54,63	p ₁₋₄ < 0,05

Số lượng tế bào hồng cầu, bạch cầu giữa các nhóm thỏ, giữa các thời điểm trong mỗi nhóm thỏ khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Số lượng tế bào tiểu cầu trước PT và sau PT 1 tháng ở mỗi nhóm thỏ khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Bảng 2. Chỉ số tế bào hồng cầu tại các thời điểm nghiên cứu.

Chỉ số		Trước PT ⁽¹⁾	Sau PT 1 ngày ⁽²⁾	Sau PT 1 tuần ⁽³⁾	Sau PT 1 tháng ⁽⁴⁾	p
Hematocrit (%)	Nhóm 1	34,07 ± 3,23	34,08 ± 0,79	37,42 ± 1,77	34,93 ± 2,39	> 0,05
	Nhóm 2	36,08 ± 2,73	34,38 ± 2,22	36,26 ± 3,42	34,63 ± 4,24	> 0,05
Huyết sắc tố (g/L)	Nhóm 1	11,10 ± 1,06	11,25 ± 0,26	12,60 ± 0,48	12,10 ± 0,75	> 0,05
	Nhóm 2	11,10 ± 1,06	11,25 ± 0,26	12,60 ± 0,48	12,10 ± 0,75	> 0,05

Nồng độ huyết sắc tố, hematocrit ở hai nhóm nghiên cứu tại các thời điểm trước - sau phẫu thuật và trong mỗi nhóm tại các thời điểm khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3. Tỷ lệ thành phần các tế bào bạch cầu.

Thành phần các tế bào bạch cầu (%)		Trước PT ⁽¹⁾	Sau PT 1 ngày ⁽²⁾	Sau PT 1 tuần ⁽³⁾	Sau PT 1 tháng ⁽⁴⁾	p
Lympho	Nhóm 1	49,60 ± 17,81	53,95 ± 7,71	54,00 ± 6,86	61,50 ± 6,95	> 0,05
	Nhóm 2	64,75 ± 6,85	53,18 ± 5,06	46,70 ± 2,91	62,40 ± 4,66	> 0,05
Mono, Eosinophils...	Nhóm 1	9,53 ± 2,52	6,40 ± 1,42	7,40 ± 1,86	7,87 ± 0,35	> 0,05
	Nhóm 2	9,38 ± 3,74	5,80 ± 0,48	7,24 ± 2,83	9,80 ± 4,33	> 0,05
Bạch cầu hạt	Nhóm 1	40,88 ± 15,46	39,65 ± 8,58	30,60 ± 3,46	30,63 ± 7,25	> 0,05
	Nhóm 2	25,88 ± 9,61	41,03 ± 5,14	39,35 ± 3,65	27,80 ± 2,63	> 0,05

Thành phần các tế bào bạch cầu trước và sau PT giữa các nhóm nghiên cứu và giữa các thời điểm trong cùng nhóm nghiên cứu khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2. Kết quả xét nghiệm một số chỉ số sinh hóa:

Bảng 4. Đánh giá chức năng gan, thận trước và sau PT.

Đánh giá chức năng cơ quan			Trước PT ^(a)	Sau PT 1 ngày ^(b)	Sau PT 1 tuần ^(c)	Sau PT 1 tháng ^(d)	p
Gan	AST (U/L)	Nhóm 1	33,33 ± 4,52	45,68 ± 9,45	41,85 ± 3,04	35,77 ± 7,56	$p_{b-a}; b-d < 0,05$
		Nhóm 2	37,25 ± 9,35	49,73 ± 5,06	42,78 ± 5,16	38,50 ± 5,65	$p_{b-a}; b-d < 0,05$
	ALT (U/L)	Nhóm 1	40,28 ± 4,40	51,13 ± 7,39	43,35 ± 8,87	42,47 ± 7,96	$p_{b-a}; b-d < 0,05$
		Nhóm 2	48,30 ± 5,66	59,18 ± 4,51	45,95 ± 8,68	47,00 ± 6,67	$p_{b-a}; b-d < 0,05$
Thận	Ure (mmol/L)	Nhóm 1	7,46 ± 3,94	6,08 ± 1,12	7,12 ± 1,22	7,54 ± 1,46	> 0,05
		Nhóm 2	4,21 ± 0,89	4,55 ± 1,40	5,48 ± 0,45	8,07 ± 2,04	> 0,05
	Creatinin (μ mol/L)	Nhóm 1	94,48 ± 8,04	105,68 ± 9,14	96,08 ± 11,24	128,50 ± 1,82	> 0,05
		Nhóm 2	88,35 ± 11,86	93,10 ± 9,94	109,30 ± 8,94	120,87 ± 7,28	> 0,05

Trước PT, nồng độ các enzym ALT, AST giữa các nhóm thử khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Sau PT, nồng độ các enzym ALT, AST ở thời điểm 1 ngày sau phẫu thuật so với các thời điểm còn lại trong cùng nhóm nghiên cứu khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Nồng độ ure, creatinin giữa các nhóm thử trước và sau PT và trong cùng nhóm thử tại các thời điểm nghiên cứu khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

4. BÀN LUẬN.

4.1. Số lượng tế bào máu ngoại vi:

Trước PT, số lượng tế bào máu ngoại vi của thử nghiệm không có sự khác biệt giữa các nhóm nghiên cứu ở cả 3 chỉ số hồng cầu, bạch

cầu và tiểu cầu. Điều này chứng tỏ động vật được chọn vào các nhóm có sự tương đồng về các chỉ số huyết học máu ngoại vi.

Sau PT 1 tuần (giai đoạn viêm cấp tính), số lượng các tế bào máu ngoại vi không có sự khác biệt so với thời điểm trước PT. Các chỉ số này cũng không có sự khác biệt giữa các nhóm động vật nghiên cứu và đều nằm trong giới hạn bình thường [5], [6]. Điều này chứng tỏ, nẹp vít titan xóp và titan đặc khi được đặt vào xương đùi thử không gây nên các viêm nhiễm và các phản ứng bất lợi với cơ quan tạo máu nói chung và cơ thể động vật nói riêng.

Sau PT 1 tháng, số lượng tế bào hồng cầu, bạch cầu đều không thấy có sự khác biệt so với thời điểm trước PT. Trong khi đó, số lượng tế bào

tiểu cầu có xu hướng giảm, mặc dù vẫn trong giới hạn bình thường, có thể là do quá trình hồi phục hoặc quá trình phản ứng, huy động tế bào máu tại chỗ tổn thương (PT đặt nẹp vít) của động vật. Như vậy, nẹp vít tồn tại 1 tháng trong cơ thể không gây phản ứng viêm mạn tính, không ảnh hưởng đến chức năng cơ quan tạo máu của động vật [2], [3]. Kết quả nghiên cứu này tương tự các nghiên cứu của một số tác giả trước đây khi cấy vật liệu có độ tương thích sinh học cao vào cơ thể động vật thực nghiệm [8].

4.2. Các chỉ số hồng cầu:

Nồng độ huyết sắc tố, hematocrit ở 2 nhóm nghiên cứu sử dụng titan xốp, titan đặc đều nằm trong giới hạn bình thường của động vật khỏe mạnh. Chỉ số này trước và sau PT giữa hai nhóm và giữa các thời điểm trong mỗi nhóm khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Kết quả này cho thấy, chức năng tạo hồng cầu của động vật ở cả hai nhóm đều bình thường và đủ điều kiện để làm động vật nghiên cứu; vật liệu titan xốp và titan đặc không gây ảnh hưởng đến cơ quan tạo máu, không tổn thương tới chức năng tạo hồng cầu của cơ thể. Kết quả này phù hợp với thực trạng động vật (ăn uống bình thường, tăng cân và sọc tại chỗ liền tốt sau 1 tháng PT).

4.3. Thành phần các tế bào bạch cầu:

Ở thời điểm trước PT, không có sự khác biệt về tỉ lệ tế bào các dòng bạch cầu và các chỉ số này đều trong giới hạn bình thường trên động vật khỏe mạnh [1], [8]. Sau PT 7 ngày và 1 tháng, tỉ lệ tế bào các dòng bạch cầu có sự dao động nhẹ, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với trước PT và giữa hai nhóm động vật [1], [8]. PT đặt nẹp vít vào xương đùi thỏ không gây ảnh hưởng viêm và các phản ứng bất lợi đến cơ thể dẫn đến sự thay đổi lượng bạch cầu và tỉ lệ tế bào các dòng bạch cầu [4].

4.4. Chức năng gan, thận:

- Ở thời điểm trước PT, nồng độ enzym AST và ALT trong máu của thỏ ở 2 nhóm nghiên cứu đều nằm trong giới hạn bình thường và không có sự khác biệt. Tuy vậy, có sự khác biệt về nồng độ các enzym ALT, AST ở thời điểm 1 ngày sau PT so với các thời điểm khác trong cùng nhóm nghiên cứu ($p < 0,05$). Trong nghiên cứu này, khi đưa nẹp vít vào xương đùi thỏ, cơ thể động vật phải trải qua quá trình gây mê, các mô cơ bị tổn thương trong PT nên ở thời điểm ngay sau PT có thể ảnh hưởng đến chức năng của gan, thận (biểu hiện bởi sự hủy hoại tế bào gan và tăng enzym gan trong giai đoạn cấp tính). Sau giai đoạn cấp tính, vết thương liền tốt, không có biến chứng, các chỉ số này trở lại bình thường nhanh chóng. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự một số nghiên cứu khác [8], [9].

- Ở thời điểm trước PT, nồng độ ure, creatinin trong máu thỏ ở cả 2 nhóm đều nằm trong giới hạn bình thường và không có sự khác biệt. Sau PT, thấy không có sự khác biệt về nồng độ ure, creatinin giữa các thời điểm trong cùng nhóm nghiên cứu. Một số nghiên cứu thử nghiệm đưa vật liệu vào cơ thể động vật trước đây thấy các vết thương của động vật liền tốt, không có biến chứng và nồng độ ure, creatinin cũng có kết quả tương tự như trong nghiên cứu này [7], [8].

5. KẾT LUẬN.

Nghiên cứu 24 con thỏ trắng trưởng thành khỏe mạnh, trọng lượng từ 2,0-2,5 kg/con, được cấy vật liệu titan xốp và titan đặc vào xương đùi chân sau. Sau PT cấy ghép vật liệu titan xốp và titan đặc, các chỉ số về huyết học và sinh hóa đánh giá chức năng gan, thận của thỏ tương đối ổn định, không có sự khác biệt giữa các thời điểm trước và sau phẫu thuật. Kết quả này bước đầu cho thấy titan xốp có tính tương thích sinh học cao và tương đương titan đặc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Vũ Như Quán (2013), *Những đặc điểm sinh học cần biết khi khám-chữa bệnh cho chó*, Nhà xuất bản Đại học Nông nghiệp Hà Nội.
2. Lê Thế Trung (1992), *Sự liền vết thương*, Bài giảng bệnh học ngoại khoa sau đại học, tập 1, Học viện Quân y, tr. 98 -106.
3. Hartz R.A, Niedner W, Vanscheidt, Westehof (1997), *Wound healing and wound Manageenzymt*, Springer.
4. Johnston R.B, Jr Current concepts (1998), "Immunology. Monocytes and macrophages", *N Engl J Med*, 1988, 318 (12): 747-752.
5. Kratz G. (1998), *Modeling of wound healing process in human skin using tissue culture*, Microsc res Tech, Departenzymt of Reconstructive Plastic Surgery, Karolinska hospital, Stockholm, Sweden, 42(5), 345-50.
6. Madden J.W, Arem A.J (1986), *Wound healing: biologic and clinical features*, In text book of surgery, Saunders company W.B, (1), 193-209.
7. Olayemi, F.O, Azeez, I.O, Ogunyemi A, Ighagbon F.O (2009), *study on erythrocyte values of the nigerian indigenous dog*, Folia verterinaria, 53, 2: 65-67.
8. So-Young Choi, Jae-Sik Hwang et al (2011), *Basic data on the hematology, serum biochemistry, urology and organ weights of beagle dogs*, Lab Anim Res 2011: 27 (4), 283-291.
9. Sylvia C.J (2003), "The role of neurophyl apoptosis in influencing tissue repair", *J Wound Care*, 12, 13. □