

ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG MẢNH XƯƠNG VÒM SỌ CHÓ SAU BẢO QUẢN TẠI ĐƠN VỊ BẢO QUẢN MÔ BỆNH VIỆN TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC HUẾ

Nguyễn Phương Thảo Tiên, Trần Anh Hùng, Lê Nghi Thành Nhân, Lê Văn Tâm,
Nguyễn Phạm Phước Toàn, Nguyễn Phan Quỳnh Anh, Võ Thị Hạnh Thảo, Võ Thị Trang
Bộ môn Mô phôi, Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá độ bền cơ học, cấu trúc vi thể của mô xương vòm sọ chó sau bảo quản lạnh sâu có chiếu tia gamma và hiệu quả khử khuẩn của tia gamma ở những mảnh xương vòm sọ chó sau chiếu xạ. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** 50 mảnh xương vòm sọ chó có kích thước 4 cm x 4 cm, được lấy ở vùng đỉnh trán, đối xứng qua đường dọc giữa xương vòm sọ. Các mảnh xương vòm sọ chó được chia đôi theo đường dọc giữa để chia thành 2 lô. Lô chứng gồm 50 mảnh chỉ bảo quản lạnh sâu, không chiếu tia gamma. Lô thực nghiệm gồm 50 mảnh, được bảo quản lạnh sâu và chiếu tia gamma. Đánh giá chất lượng của mảnh xương vòm sọ chó (độ bền cơ học, cấu trúc vi thể và hiệu quả khử khuẩn) sau chiếu tia gamma và bảo quản lạnh sâu ở - 85 °C trong 3 tháng. **Kết quả:** Độ bền cơ học của mô xương vòm sọ chó giảm 8,28%, cấu trúc vi thể không có biến đổi so với lô xương vòm sọ chỉ bảo quản lạnh sâu, không chiếu tia gamma. 100% mảnh xương vòm sọ chó lô thực nghiệm âm tính với xét nghiệm nuôi cấy vi khuẩn. **Kết luận:** Mô xương vòm sọ chó sau chiếu tia gamma liều 25 KGy và bảo quản lạnh sâu ở - 85 °C trong 3 tháng tại Đơn vị Bảo quản Mô - Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế: Độ bền cơ học giảm không đáng kể; Cấu trúc mô học ở mức độ vi thể không có biến đổi; Âm tính với kiểm tra nuôi cấy vi khuẩn

Từ khóa: Xương vòm sọ chó, tia gamma, độ bền, khử khuẩn

Abstract

THE QUALITY OF CRYOPRESERVED GAMMA-STERILIZED DOG SKULL AT TISSUE CRYOPRESERVATION UNIT, HUE UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY HOSPITAL

Nguyen Phuong Thao Tien, Tran Anh Hung, Le Nghi Thanh Nhan, Le Van Tam,
Nguyen Pham Phuoc Toan, Nguyen Phan Quynh Anh, Vo Thi Hanh Thao, Vo Thi Trang
Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Objective: To evaluate the effect of gamma sterilization and the changes in the durability and the histological structure of cryopreserved gamma-sterilized dog skull. **Subjects and methods:** 50 dog skull fragments had the same size (4 x 4 cm), which were taken at parieto-frontal region, symmetrically through the midline of the skull were divided into two lots. Evident lot consisting of 50 fragments were just cryopreserved, not irradiated by gamma rays. Experimental lot which composed of 50 fragments were cryopreserved and exposed to 25 kGy of gamma radiation. Afterwards, evaluating the changes in the durability, microscopic structure and the effectiveness of sterilization on the dog skull after being cryopreserved at -85 °C in 3 months and exposed a gamma sterilization. **Results:** The durability was decreased of 8.28% compared with the lot of dog skull just cryopreserved at -85 °C and not exposed a gamma sterilization. On histological structure, no difference was found between the two lots and there was no structural change in the irradiated dog skull. All gamma-sterilized dog skull fragments were negative with bacteria culture test. The gamma ray had the ability to kill bacteria completely in the type of bacteria commonly infected tissue. **Conclusion:** After being cryopreserved at -85 °C in 3 months and exposed a gamma sterilization dose of 25 KGy, the durability of dog skull was insignificantly decreased and the microscopic structure was not changed. All irradiated dog skull fragments were negative with bacteria culture test.

Key words: dog skull, gamma, durability, irradiated.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bảo quản lạnh sâu mảnh xương vòm sọ để ghép tự thân cho bệnh nhân bị khuyết sọ sau phẫu thuật sọ não là phương pháp có nhiều ưu điểm và được sử dụng rộng rãi ở các ngân hàng mô trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Trên thế giới, từ năm 1885, William Macewen đã sử dụng các mảnh xương vòm sọ để ghép tự thân cho bệnh nhân. Sau đó, việc sử dụng xương tự thân để ghép xương sọ đã trở nên phổ biến ở giai đoạn đầu thế kỷ 20 [1], [2]. Ở Việt Nam, ghép xương sọ tự thân bắt đầu từ năm 1999. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy kết quả tốt sau phẫu thuật tạo hình khuyết vòm sọ lớn sau mổ giải áp do chấn thương bằng xương vòm sọ tự thân bảo quản lạnh sâu [3]. Ghép xương sọ 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 sọ 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 [4],[5].

Mục đích bảo quản xương sọ là để ghép lại nên tiêu chuẩn tối ưu sau khi được bảo quản là các sản phẩm phải vô khuẩn và không bị mất đi những đặc tính sinh học vốn có của nó. Hầu hết các sản phẩm mô ghép cũng như các vật liệu sinh học thay thế mô đều được khử trùng bằng tia gamma nhờ có những ưu điểm như: loại trừ được mầm bệnh có trong mô, không phá hủy mô ở liều phù hợp và có thể giảm đáng kể tính kháng nguyên của mô. Tại Việt Nam, các Ngân hàng mô của Học viện Quân Y, Đại học Y Phạm Ngọc Thạch và Trung tâm Công nghệ mô ghép Đại học Y Hà Nội đều dùng tia gamma để khử trùng mô ghép. Tuy nhiên, một số nghiên cứu chỉ ra rằng liều chiếu xạ càng cao thì tổn thương mô càng lớn, làm giảm các đặc tính vật lý cần thiết của mô ghép. Theo nghiên cứu năm 2016 của Farzaneh Allaveisi và Majid Mirzaei, liều chiếu 50kGy có thể giảm tới 30% độ bền cơ học của mô xương [6]. Liều chiếu xạ thường dùng tại các Ngân hàng Mô các nước theo tiêu chuẩn của Hiệp hội Ngân hàng Mô Châu Á - Thái Bình Dương là 25kGy. Đây cũng là liều chiếu tia gamma được sử dụng tại Trung tâm Công nghệ Mô ghép - Bộ môn Mô - Phôi, Trường Đại học Y Hà Nội [7], [8].

Vấn đề được nhiều nhà khoa học quan tâm trong quá trình bảo quản lạnh sâu mảnh xương sọ có chiếu tia gamma là chất lượng các mảnh xương sọ sẽ bị ảnh hưởng như thế nào sau bảo quản? Liều chiếu tia gamma tối ưu là bao nhiêu để vừa đạt hiệu quả khử trùng cho mô ghép vừa không làm biến đổi đáng kể cấu trúc vi thể cũng như độ bền của mảnh xương vòm sọ? Đây là một lĩnh vực nghiên cứu rất cần thiết

để đánh giá chất lượng của mô ghép, nhất là mô xương sọ ghép tự thân, nhằm nâng cao chất lượng điều trị. Tuy nhiên, có rất ít nghiên cứu được thực hiện trên xương vòm sọ người do những hạn chế về vấn đề đạo đức y học. Do đó, chúng tôi tiến hành đề tài nghiên cứu thực nghiệm trên chó: “Đánh giá chất lượng mảnh xương sọ chó sau bảo quản theo qui trình bảo quản trên thực nghiệm tại Đơn vị Bảo quản mô - Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế” để đánh giá chất lượng mô xương sọ sau bảo quản, với các mục tiêu:

1. *Đánh giá sự biến đổi về độ bền và cấu trúc vi thể của mảnh xương vòm sọ chó sau bảo quản lạnh sâu có chiếu tia gamma.*
2. *Đánh giá hiệu quả khử khuẩn của tia gamma đối với xương vòm sọ chó sau chiếu xạ.*

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Mảnh xương vòm sọ chó: lấy từ các chó ta khỏe mạnh (không phân biệt đực cái) có trọng lượng khoảng 10 kg/con.

- Tiêu chuẩn chọn mẫu: Chọn vào nhóm nghiên cứu các mảnh xương vòm sọ chó có cấu trúc vi thể bình thường:

- Chất căn bản xương mịn, đồng nhất, có nhiều ổ xương hình bầu dục hoặc hình tròn, thấy được các tế bào xương bên trong ổ xương.
- Cấu trúc của các lá xương rõ.
- Các hốc tủy thông nhau, ngăn cách nhau bởi các vách xương, trong hốc tủy chứa các tế bào máu: hồng cầu, bạch cầu, tế bào nhân khổng lồ...

- Lấy các mảnh xương vòm sọ có kích thước khoảng 4 x 4 cm ở vùng đỉnh trán, theo nguyên tắc đối xứng qua đường dọc giữa.

- Sau khi được cắt rời khỏi cơ thể sống, các mảnh xương được xử lý theo quy trình xử lý xương sọ và bảo quản ở nhiệt độ -85 °C tại Đơn vị Bảo quản Mô, Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế.

2.2. Cỡ mẫu: 50

2.3. Phân lô nghiên cứu

Mỗi mảnh xương vòm sọ chó được được chia thành 2 phần bằng nhau theo đường dọc giữa gồm lô A: lô chứng, chỉ bảo quản ở -85 °C, không chiếu xạ và lô B: lô thực nghiệm, bảo quản ở -85 °C và chiếu xạ liều 25 KGy.

2.4. Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm

2.4.1. Quy trình thu nhận, xử lý và bảo quản lạnh sâu:

- Áp dụng quy trình bảo quản xương vòm sọ người của Hiệp Hội Ngân hàng Châu Á - Thái Bình Dương (APASTB) [9].

- Nhiệt độ bảo quản: -85 °C
- Thời gian bảo quản: 3 tháng

2.4.1. Chiếu xạ:

- Lô xương vòm sọ chó thực nghiệm được chiếu xạ liên tục trong 24 giờ với liều chiếu 25 kGy tại Trung tâm Chiếu xạ quốc gia (Hà Nội). Trước, trong và sau chiếu xạ các mảnh xương vòm sọ chó được bảo quản trong đá khô.

- Liều chiếu 25 kGy là liều chiếu xạ được Hiệp Hội Ngân Hàng Mô Châu Á - Thái Bình Dương khuyến cáo.

2.4.2. Phương pháp đo độ bền xương [10]

Đo lực kháng uốn của các mảnh xương vòm sọ chó theo từng cặp trước và sau chiếu xạ, xác định lực phá hủy (lực kháng uốn) các mẫu xương sọ bằng máy đo độ bền vật liệu phòng thí nghiệm Triaxial load frame 50kN của Mỹ, trong cùng một điều kiện nhiệt độ, độ ẩm với kích thước mỗi mẫu đo là 10mm x 40 mm.

2.4.4. Phương pháp nghiên cứu mô học:

- Kỹ thuật làm tiêu bản mô học: Áp dụng quy trình làm tiêu bản mô học thường quy tại Bộ môn

Mô Phôi, trường Đại học Y Dược Huế

- Quan sát và chụp ảnh vi thể bằng kính hiển vi truyền hình chụp ảnh Nikon. Quan sát cấu trúc vi thể của mảnh xương vòm sọ chó trước và sau chiếu xạ ở độ phóng đại x 100 và x 400.

2.4.5. Phương pháp đánh giá hiệu quả khử trùng của tia gamma:

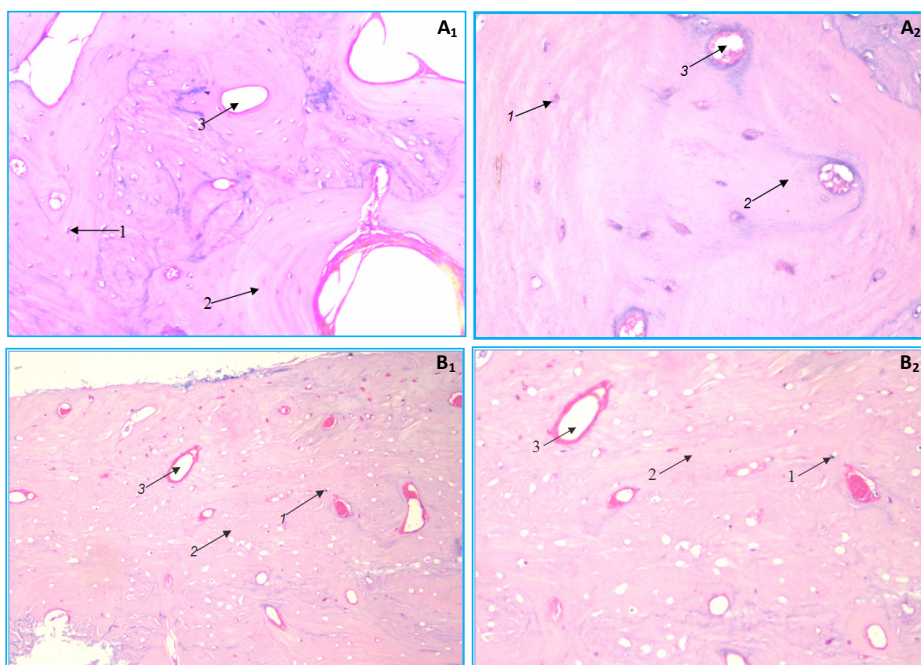
- Nuôi cấy vi khuẩn các mảnh xương vòm sọ lần 1: ngay trước khi thu nhận mảnh xương vòm sọ chó.
- Nuôi cấy vi khuẩn các mảnh xương vòm sọ lần 2 sau khi mảnh xương vòm sọ chó đã được bảo quản lạnh sâu và chiếu xạ.
- Quy trình thực hiện tại Khoa Vi sinh - Bệnh viện Đại học Y Dược Huế.

2.4.6. Chỉ tiêu nghiên cứu

- Kết quả nuôi cấy vi khuẩn của các mảnh xương vòm sọ chó trước và sau chiếu xạ
- Cấu trúc vi thể của mảnh xương vòm sọ chó trước và sau chiếu xạ: Chất nền mô xương, lá xương, tế bào xương, hốc tủy
- Độ bền cơ học mảnh xương vòm sọ chó trước và sau chiếu xạ

3. KẾT QUẢ

3.1. Sự biến đổi về cấu trúc vi thể xương vòm sọ chó sau chiếu xạ



Hình 3. 1. Hình ảnh vi thể mô xương vòm sọ chó (A₁: HE x 100; A₂: HE x 400), lô hấp thụ tia gamma liều 25 kGy (B₁: HE x 100; B₂: HE x 400).

1. Tế bào xương, 2. Chất nền xương, 3. Hốc tủy

Kết quả đánh giá vi thể các mẫu xương vòm sọ chó ở cả lô chứng và lô thực nghiệm, chúng tôi đều nhận thấy mô xương vòm sọ chó có chất căn bản ưa acid, các lá xương chạy song song và có cấu trúc tương đối rõ. Trên các lá xương có nhiều ổ xương hình tròn hay hình bầu dục chứa tế bào xương. Bào tương tế bào xương ưa acid có thể nhìn thấy nhân bắt màu tím, nhân tròn hạt nhân rõ. Tùy vị trí cắt mà ta có thể nhìn thấy rõ bào tương, nhân tế bào xương. Hình thái cấu tạo của sợi collagen vùi trong chất căn bản của mô xương không quan sát được ở mức độ vi thể.

Như vậy quan sát cấu trúc mô vòm xương vòm sọ chó được bảo quản lạnh sâu và chiếu tia gamma liều 25 KGy, ở mức độ vi thể không phát hiện thấy các tổn thương mô và tế bào.

3.2. Sự biến đổi độ bền cơ học của mô xương vòm sọ chó sau bảo quản lạnh sâu và chiếu xạ

Độ bền cơ học của mô xương vòm sọ chó được xác định bằng lực kháng uốn của mô xương

Bảng 3.2. Kết quả đo lực kháng uốn cơ học mô xương vòm sọ chó.

Lô nghiên cứu	Lực kháng uốn (Mpa) X	P
Lô chứng (n = 50)	11,59 ± 0,64	p < 0,001
Lô thực nghiệm (n = 50)	10,63 ± 0,78	

Theo kết quả bảng 3.2, độ bền cơ học giảm có ý nghĩa thống kê sau chiếu xạ. Trung bình lực kháng uốn của các mảnh xương vòm sọ chó sau chiếu xạ thấp hơn các mảnh xương vòm sọ chó trước chiếu xạ là 0,954 Mpa. Mức độ suy giảm độ bền cơ học của mô xương vòm sọ chó sau chiếu xạ là 8,28% (p < 0,001).

3.3. Kết quả nuôi cấy vi khuẩn mô xương vòm sọ chó

Trong 50 mẫu được cấy khuẩn ngay khi thu nhận mẫu, có 39 mẫu xương vòm sọ (78%) có kết quả nuôi cấy vi khuẩn dương tính, 11 mẫu có kết quả âm tính (22%). Sau bảo quản lạnh sâu -85 °C và chiếu xạ liều 25 KGy, tất cả 50 mẫu được kiểm tra vi khuẩn lần 2 đều cho kết quả âm tính (100%).

Bảng 3.3. Kết quả cấy khuẩn các mẫu xương vòm sọ chó

Loại mẫu Kết quả	Trước chiếu xạ n = 50		Sau chiếu xạ n = 50	
	SL	%	SL	%
Âm tính	11	22	50	100
Dương tính	39	78	0	0

4. BÀN LUẬN

4.1. Về sự biến đổi cấu trúc vi thể của mô xương vòm sọ chó sau bảo quản lạnh sâu có chiếu tia gamma

Trong nghiên cứu của chúng tôi, các mảnh xương vòm sọ chó ở cả lô chứng và lô thực nghiệm đều được bảo quản lạnh sâu ở -85 °C trong 3 tháng. Các mảnh xương vòm sọ ở lô thực nghiệm được tiếp tục chiếu xạ liều 25 kGy sau bảo quản lạnh sâu. Trên tiêu bản nhuộm HE, cho thấy không có sự khác nhau về chất căn bản của mô xương giữa các lô chứng và lô thực nghiệm. Quan sát cấu trúc vi thể xương vòm sọ ở cả 2 lô đều thấy chất căn bản mô xương mịn, ưa acid, không có cấu trúc; các lá xương chạy song song tương đối rõ; trên lá xương quan sát được nhiều ổ xương chứa tế bào xương bình thường. Hình thái cấu tạo của sợi collagen trong chất căn bản mô xương không quan sát được ở mức độ vi thể. Theo các nghiên cứu của Fölscha C. và cộng sự (2012), Pelker R.R và cộng sự (1984), các đặc tính vật lý, sinh học của xương không bị ảnh hưởng bất

lợi nào khi bảo quản ở nhiệt độ từ -70 °C đến -196°C [11], [12]. Ngoài ra, các đặc tính của xương vẫn không thay đổi vì enzym bị bất hoạt hoàn toàn khi mô được bảo quản lạnh ở nhiệt độ -80 °C trong 3 năm [11]. Ở nhiệt độ bảo quản lạnh -85 °C trong 3 tháng, mảnh xương vẫn không bị biến tính, cấu trúc mô xương vẫn không bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ và thời gian bảo quản [13].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, lô thực nghiệm được bảo quản lạnh ở -85 °C và được tiệt trùng bằng chiếu xạ tia gamma nguồn Cobalt 60, liều 25 kGy. Hiện nay, chiếu xạ bằng tia gamma là phương pháp vô trùng phổ biến nhất cho mô ghép [13], [15]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ở lô chứng cho thấy không có sự biến đổi cấu trúc vi thể của tất cả các mảnh xương vòm sọ chó sau chiếu xạ bằng tia gamma liều 25 kGy. Ngoài ra, chúng tôi không quan sát được sự đứt gãy của các sợi collagen ở mức độ vi thể. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Lê Thị Hồng Nhung (2010) [7], Bùi Thanh Thủy (2016) [16]. Chúng tôi chưa tìm thấy công trình nghiên cứu

nào chỉ ra sự biến đổi cấu trúc hình thái vi thể của mô xương trước và sau chiếu xạ. Tuy nhiên, một số công trình nghiên cứu đã chỉ ra rằng, với liều chiếu từ 25 kGy trở lên, quan sát dưới kính hiển vi điện tử quét ở mức độ siêu cấu trúc, có thể nhận thấy được sự đứt gãy các sợi collagen trong chất căn bản xương [7], [17]. Nghiên cứu của Lê Thị Hồng Nhung (2006) cho thấy: ở mức độ siêu vi thể, tia gamma liều 10 kGy và 15 kGy không làm biến đổi cấu trúc hệ thống sợi collagen trong chất căn bản xương, nhưng liều 25 kGy làm biến đổi các sợi collagen, đứt và co rút một số sợi collagen [7]. Điều này chứng tỏ rằng có thể có sự đứt gãy các sợi collagen trong chất căn bản của mô xương sọ chó sau bảo quản và chiếu xạ trong nghiên cứu của chúng tôi mà không thể quan sát được dưới kính hiển vi quang học.

Sợi collagen tham gia trực tiếp vào độ chịu lực cơ học của xương, do đó tổn thương sợi collagen sẽ làm giảm độ bền của mô xương. Ngoài ra sợi collagen còn tham gia dẫn tạo xương trong quá trình sinh xương. Do đó, trong thực hành lâm sàng, mô ghép xương tỏ ra chậm liền khi bị chiếu xạ liều cao > 50 kGy [17].

4.2. Sự biến đổi về độ bền cơ học của mô xương vòm sọ chó

Sau khi chiếu xạ mảnh sọ với liều 25 kGy ở nhiệt độ -85 °C, chúng tôi tiến hành đo lực kháng uốn của các mảnh xương sọ chó ở cả lô chứng và lô thực nghiệm ở cùng một điều kiện nhiệt độ, độ ẩm với kích thước mỗi mẫu đo là 10 mm x 40 mm. Kết quả sau đo cho thấy độ kháng uốn trung bình của các mẫu xương sọ chó ở lô chứng là 11,59 Mpa, ở lô thực nghiệm là 10,63 Mpa. Như vậy, sau khi chiếu xạ, độ bền cơ học của mảnh xương vòm sọ chó giảm 8,28% so với nhóm không chiếu xạ. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Kết quả về sự giảm độ kháng uốn mô xương sau chiếu xạ trong nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với các nghiên cứu của các tác giả trước đây như: nghiên cứu của Lê Thị Hồng Nhung 2006 [7] với tỷ lệ suy giảm độ đàn hồi là 8,89%, các nghiên cứu khác của Huỳnh Nguyên, David A.F.Morgan [18] cũng cho kết quả tương tự.

Nguyên nhân của các biến tính cơ lí mô ghép dưới tác dụng của bức xạ chủ yếu do hiện tượng cắt mạch liên kết trên các phân tử collagen của chất căn bản. Bức xạ gamma ảnh hưởng xấu đến đặc tính cơ học, sinh học và tính chất của mô xương. Bức xạ gamma với liều chiếu càng cao thì hiện tượng phân cắt các sợi collagen diễn ra càng nhiều [19], đặc biệt là các sợi collagen chéo (nối giữa các bó sợi collagen). Sợi collagen tham gia trực tiếp vào độ chịu lực cơ học của xương, do đó, sự đứt gãy các sợi collagen làm cho độ bền của mô xương

giảm. Nghiên cứu của Anderson và CS (1992) cho thấy collagen ở trạng thái đông lạnh chiếu liều 25 kGy tan không đáng kể [20]. Nghiên cứu của Loty B. và CS (1990) chiếu liều 27 kGy trên xương đặc người lực nén và modul đàn hồi giảm 20% [2]. Theo nghiên cứu năm 2016 của Farzaneh Allaveisi và Majid Mirzaei, liều chiếu 50kGy có thể giảm tới 30% độ bền cơ học của mô xương [6].

Bức xạ gamma phân chia chuỗi polypeptide làm giải phóng các gốc tự do ở những sợi collagen chéo gây ra hiện tượng đứt và vón cục của sợi collagen dẫn tới làm tổn thương mạng lưới không gian do các sợi collagen tạo nên [21]. Vì vậy khi có lực tác động lên mảnh xương thì khả năng chia sẻ lực tác động lên các cấu trúc mạng lưới collagen bị giảm xuống gây ra hiện tượng giảm đặc tính cơ học của xương. Ngoài ra, việc mạng lưới không gian sợi collagen bị tổn thương tạo điều kiện cho các yếu tố ăn mòn khác hủy hoại chất cơ bản một cách dễ dàng hơn. Trên thực tế việc phục hồi khuyết sọ bằng xương ghép có hai chức năng chính, đó là chức năng sinh xương và chức năng chống đỡ cơ học. Đặc tính này chủ yếu do các sợi liên kết có trong xương, trong đó thành phần chính là sợi collagen đảm nhiệm. Các chất vô cơ nói chung và chất vô cơ có trong xương chủ yếu là CaCO_3 không bị tác động của tia xạ. Thành phần chính chịu tác động của tia xạ là các sợi collagen [22]. Nhiều tác giả cũng chỉ ra rằng, ở liều cao (> 25 kGy) tia xạ có khả năng làm biến đổi các đặc tính sinh học của các sợi collagen, từ đó giảm độ bền cơ học của xương. Ngoài ra, trong thực hành lâm sàng, mô ghép xương tỏ ra chậm liền khi bị chiếu xạ liều cao > 50 kGy [17]. Do đó, trong bảo quản xương sọ để ghép tự thân cần lựa chọn liều chiếu tia gamma phù hợp để không làm giảm độ bền mô xương quá giới hạn cho phép.

4.3. Về hiệu quả khử khuẩn của tia gamma ở liều 25 kGy lên mô xương vòm sọ.

Kết quả kiểm tra vi khuẩn các mẫu xương vòm sọ chó trong cùng một điều kiện cho thấy tất cả các mẫu đều có kết quả âm tính với nuôi cấy vi khuẩn. Kết quả này phù hợp với kết quả của các nghiên cứu của Lê Thị Hồng Nhung (2006) [7], Bùi Thanh Thủy (2015) [16], Thomas F.B (2005) [23]. Điều này chứng tỏ với liều chiếu 25 KGy, tia gamma có khả năng diệt khuẩn hoàn toàn đối với các chủng loại vi khuẩn thường nhiễm trong các loại mô.

Tia gamma là tia có bước sóng ngắn nhưng mang năng lượng lớn, đủ sức tiêu diệt hầu hết vi sinh vật trên đường đi của nó. Theo một số tác giả, ở liều chiếu 10 kGy tia gamma đã có khả năng diệt khuẩn [24], [25]. Tuy nhiên, tính kháng xạ của các vi sinh vật là khác nhau, do đó, vật phẩm bị nhiễm bởi vi

sinh vật có tính kháng xạ cao thì cần phải dùng liều bức xạ ion hóa cao hơn để khử trùng nên ít có Ngân hàng mô sử dụng liều chiếu dưới 25 kGy. Mặt khác, việc khống chế nhiễm các vi sinh vật ban đầu cũng gặp nhiều khó khăn, mặc dù mô được lấy trong điều kiện vô khuẩn ngoại khoa, song quá trình vận chuyển, xử lý, đóng gói cũng có thể bị lây nhiễm. Tại Mỹ, các ngân hàng mô thuộc Hiệp hội Ngân hàng Mô Hoa Kỳ (AATB) sử dụng liều chiếu 15 kGy. Tuy nhiên, tại Việt Nam và các nước có Ngân hàng mô thuộc Hiệp Hội Ngân hàng mô Châu Á - Thái Bình Dương

đều sử dụng liều chiếu an toàn là 25 kGy [14].

5. KẾT LUẬN

Mô xương vòm sọ chó sau chiếu tia gamma liều 25Kgy và bảo quản lạnh sâu ở -85 °C trong 3 tháng tại Đơn vị Bảo quản Mô - Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế:

- Cấu trúc của mô học ở mức độ vi thể không có biến đổi;
- Độ bền cơ học giảm không đáng kể;
- Âm tính với kiểm tra nuôi cấy vi khuẩn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ngô Duy Thìn, Quách Thị Yến (2012). “Đặc điểm dịch tể các mảnh xương vòm 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.
2. Loty B, courpied JP, Tomeno B, Postel M, Forest M, Abelanet R (2005), “Bone allografts sterilized by irradiation. Biological properties, procurement and results of 150 massive allografts”, *Scand J Surg* 94 (1),pp: 67 – 70
3. Nguyễn Công Tô (2009). “Tạo hình khuyết xương vòm sọ bằng mảnh vá carbon “Intost -2”, *Tạp chí Nghiên cứu y học*, 62(3), trang 87-90.
4. Neumann A, Kevenhoerster K (2011). Biomaterials for craniofacial reconstruction, Published online March10.
5. Sultan SM, Davidson EH, Butala P et al (2011). Interval cranioplasty: comparison of current standards, *Plast Reconstr Surg*, May;127(5):1855-1864.
6. Farzaneh Allaveisi và Majid Mirzaei (2016). Effects of high-dose gamma irradiation on tensile properties of human cortical bone: “Comparison of different radioprotective treatment methods”, *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials* 61, p: 475–483.
7. Lê Thị Hồng Nhung (2006). *Nghiên cứu thực nghiệm lựa chọn liều chiếu tia gamma khử trùng cho mảnh xương vòm sọ bảo quản lạnh sâu*, Luận văn Thạc sỹ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
8. 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, trang135-139.
9. APASTB (1989). Asia Pacific Association of Surgical Tissue Banking.
10. Đỗ Quang Thiên, Phan Văn Sỹ (2013), Giáo trình Vật liệu xây dựng, NXB Đại Học Huế
11. Fölsch C, Mittelmeier W, Bilderbeek U et al (2012). “Effect of Storage Temperature on Allograft Bone”, *Transfus Med Hemother*, Feb;39(1): 36- 40.
12. Pelker R.R., Friedlaender G.E., Markham C.T. et al. (1984). “Effects of Freezing and Freeze-Drying on the Biomechanical Properties of Rat Bone”, *Journal of Orthopaedic Research*, 1(4), p405–411.
13. Nguyễn Thị Chuyên (2007). *Biến đổi cấu trúc và khả năng dung nạp sau ghép đồng loại xương tươi, đông khô và bảo quản lạnh sâu trên thực nghiệm*, Luận văn Thạc sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội
14. Dziedzic-Goclawska Anna Et al. (2005), “Irradiation as a Safety Procedure in Tissue Banking” , *Cell and Tissue Banking*, September 2005, Volume 6, Issue 3, pp 201–219
15. Singh R., Singh D., Singh A. (2016), “Radiation sterilization of tissue allografts: A review”. *World J Radiol*, 8(4), p355-369.
16. Bùi Thanh Thủy (2015), *Đánh giá hiệu quả của phương pháp ghép tự thân mảnh xương vòm sọ bảo quản lạnh sâu trên thực nghiệm và ở người*, Luận án tiến sỹ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
17. Burchardt H (1997), “Biology of bone transplantation” *Orthop. Clin. North. Am.*18, pp: 187-196.
18. Nguyen H., Morgan D.A, Forwood M.R. (2007). “Sterilization of allograft bone: is 25 kGy the gold standard for gamma irradiation”. *Cell Tissue Bank*,8(2), p81-91.
19. Artur Kaminski, Anna Jastrzebska et al. (2012), “Effect of gamma irradiation on mechanical properties of human cortical bone: influence of different processing methods”, *Cell Tissue Bank* (2012) 13: p 363–374.
20. Anderson MJ, Keyak JH and Skinner HB (2002). “Compressive mechanical properties of human cancellous bone after gamma irradiation irradiation”, *J Bone Joint Surg*, 74A, 5, p747 – 752
21. Rita Singh, Durgeshwer Singh, Antaryami Singh (2016) “Radiation sterilization of tissue allografts: A review”, *World J Radiol* 2016 April 28; 8(4): p355-369.
22. 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, trang 86-87

23. Thomas F. Baker, Chad J. Ronholdt, MBA and Simon Bogdansky, Ph.D (2005), "Validating low dose gamma sterilization for allografts using iso 111337 method 2B", *Cell and Tissue Banking* 6, pp: 271 -275

24. Aydın S, Kucukyuruk B, Abuzayed B et al (2011).

"Cranioplasty: Review of materials and techniques", *J Neurosci Rural Pract*, Jul – Dec; 2(2): p162 – 167.

25. Rozen B., Brosh T., Salai M. et al. (2009). "The effects of prolonged deep freezing on the biomechanical properties of osteochondral allografts", *Cell and Tissue Banking*, 10(1), p27-31.