

Mô hình thực nghiệm tạo hình mỗm cụt đùi ứng dụng kỹ thuật vi phẫu

Experimental model of limb defect reconstruction using microsurgery

Nguyễn Ngọc Huyền, Nguyễn Thế Hoàng*,
Nguyễn Bá Minh và Nguyễn Quang Vịnh

Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá mức độ khả thi của ứng dụng kỹ thuật vi phẫu trong tạo hình mỗm cụt đùi trên thực nghiệm. *Đối tượng và phương pháp:* Mô hình thực nghiệm ghép cấu trúc hỗn hợp có nối mạch nuôi vi phẫu. *Đối tượng:* Nghiên cứu thực hiện trên thỏ có trọng lượng trung bình 2,0kg và tuổi đời 1 năm. *Thiết kế:* Nghiên cứu mô tả cắt ngang, tiến cứu, và can thiệp lâm sàng tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108, bao gồm 16 cặp động vật khỏe mạnh được chăm sóc theo quy định của Ủy ban Quốc tế về Chăm sóc và Sử dụng động vật thí nghiệm. *Đánh giá kết quả dựa trên quan sát lâm sàng, xét nghiệm X-quang và mô bệnh học.* *Kết quả:* Kết quả nghiên cứu cho thấy các mối nối mạch máu vi phẫu không bị tắc. Không có biểu hiện nhiễm trùng và hoại tử tổ chức sau tạo hình. Mô bệnh học điển hình giống như các tổ chức sống bình thường. *Kết luận:* Ứng dụng vi phẫu thuật để tạo hình các mỗm cụt chi thể là khả thi.

Từ khóa: Vi phẫu thuật, mô hình thực nghiệm, tạo hình mỗm cụt chi thể.

Summary

Objective: To evaluate the feasibility of microsurgery in experimental model for defect reconstruction. *Subject and method:* Vascularized composite tissue blocks were freely transferred using microsurgery. *Study subject:* The study was conducted on rabbits with an average weight of 2.0kg and an age of 1 year. *Study design:* This is a cross-sectional, prospective, clinical intervention study conducted at the 108 Military Central Hospital, involving 16 pairs of healthy animals cared for according to the guidelines of the International Committee for the Care and Use of Laboratory Animals. Evaluation of reconstructive results was based on clinical and pre-clinical findings. *Result:* All vascularized reconstructive composite tissues were well-survived postoperatively. All microsurgical anastomoses were not clogged. There was no sign of infection and tissue necrosis. Histology showed typical images resemble normal living structures. *Conclusion:* Application of microsurgery on experimental models is useful and feasible.

Keywords: Microsurgery, experimental model, limb defect reconstruction.

Ngày nhận bài: 10/9/2024, ngày chấp nhận đăng: 10/10/2024

* Tác giả liên hệ: hoangkolpinghaus1@yahoo.com - Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ghép mô tạng được xem là một trong những tiến bộ y học lớn nhất trong Thế kỷ XX¹. Ghép các cấu trúc phức hợp có mạch nuôi dưỡng ứng dụng kỹ thuật vi phẫu (Microvascularized composite tissue graft) là việc sử dụng các tổ chức đồng loại tương đương có nối mạch nuôi để phục hồi các đơn vị chức năng bị khuyết tật hoặc hư hỏng do bệnh lý, do chấn thương, vết thương hoặc do các dị tật bẩm sinh....

Trong bậc thang phẫu thuật tạo hình và phục hồi, đây được xem là can thiệp điều trị phẫu thuật ở mức độ cao nhất và hoàn hảo nhất, phục hồi tối ưu chức năng và hình thể với nhiều cấu trúc mô khác nhau.

Trong Thế kỷ XX, ca phục hồi cấu trúc phức hợp đầu tiên theo cách thức ghép chi thể được thực hiện vào năm 1964². Mặc dù cấu trúc phức hợp này chỉ sống được ba tuần do chưa hoàn thiện được các quy trình liên quan đến kiểm soát thải ghép, tuy nhiên phương pháp cũng đã mở ra những triển vọng to lớn và đầy hứa hẹn cho sự phát triển của phẫu thuật trong những năm tiếp theo. Sau hơn ba thập kỷ nghiên cứu và hoàn thiện về quy trình phẫu thuật cũng như các liệu pháp miễn dịch, ca phẫu thuật thứ hai và thứ ba trên người đã được thực hiện thành công vào năm 1998 và 1999³⁻⁵. Mặc dù ca đầu tiên chỉ tồn tại được 29 tháng do những vấn đề liên quan đến tâm lý của bệnh nhân, tuy nhiên ca ghép lần thứ 3 vẫn còn tồn tại cho đến nay⁵. Hiện tại, ghép cấu trúc phức hợp có mạch nuôi trên lâm sàng theo cách thức này đã được thực hiện ở nhiều nước và được coi là chuẩn mực điều trị cao nhất thay cho việc sử dụng các dụng cụ hỗ trợ không có cảm giác.

Các mô hình nghiên cứu thực nghiệm in vivo trên động vật đã phát triển mạnh mẽ trong nhiều thập kỷ gần đây và trở thành một công cụ khoa học đáng tin cậy và linh hoạt vì nó mang tính tương đồng cao với cơ thể người. Đây là dạng nghiên cứu cơ bản không thể thiếu được trong các nghiên cứu tiềm năng thuộc lĩnh vực ghép mô tạng.

Khác với những tạng đồng loại có các mô tế bào tương đối đồng nhất như: Thận, gan, tim, phổi... các mô tạng hỗn hợp có mạch nuôi là một cấu trúc mô phức hợp bao gồm rất nhiều các cấu trúc khác biệt với tiềm tàng nguy cơ bị thải loại cao¹.

Đã có một số mô hình thực nghiệm trên động vật được các tác giả trên thế giới công bố... tuy nhiên, theo những tài liệu mà chúng tôi tìm được, chưa có một mô hình nghiên cứu nào về phẫu thuật đồng loài trên thỏ được công bố trong y văn quốc tế⁶⁻¹⁵. Do tính tương đồng cao về cấu trúc giải phẫu với người, và do những đặc điểm thuận lợi trong việc nuôi dưỡng và chăm sóc nên chúng là động vật thực nghiệm được chọn lựa trong nghiên cứu này. Nghiên cứu được thực hiện với 2 mục tiêu như sau: (1) *Đánh giá kết quả của mô hình phẫu thuật dịch chuyển tự do một cấu trúc hỗn hợp có nối mạch nuôi ứng dụng kỹ thuật vi phẫu.* (2) *Đánh giá tính khả thi và mức độ tin cậy của vi phẫu thuật trên mô hình thực nghiệm.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Đối tượng

Nghiên cứu này được thực hiện trên thỏ với trọng lượng trung bình là 2,0kg và có tuổi đời là 1 năm.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Đây là một nghiên cứu mô tả cắt ngang, tiến cứu, can thiệp lâm sàng tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108.

2.2.2. Cỡ mẫu

Cỡ mẫu nghiên cứu là 16 cặp động vật khỏe mạnh. Tất cả các động vật nghiên cứu đều được nuôi dưỡng và chăm sóc theo đúng các Quy định của Ủy ban Quốc tế về Chăm sóc và Sử dụng động vật thí nghiệm cho mục đích y học. Nghiên cứu này cũng đã được phê duyệt bởi Hội đồng Y đức của Bệnh viện TƯỚNG 108.

2.3. Phương pháp phẫu thuật

2.3.1. Chuẩn bị phẫu thuật

Hỗn hợp ketamin 40mg/kg và xylazin 4mg/kg được sử dụng để khởi mê qua đường tiêm bắp thịt. Động vật tiếp đó được luồn 1 Catheter vào tĩnh mạch ở vành tai và đặt ống nội khí quản. Một mũi kháng sinh dự phòng tiêm bắp (Cefotaxime) được tiêm dưới da. Toàn bộ vùng đùi và vùng bụng bên phải được cạo lông, chải rửa bằng xà phòng, khử trùng và trải sẵn vô trùng. Tất cả các can thiệp

phẫu thuật được tiến hành theo cách thức vô khuẩn thông thường với dao điện và máy đốt lưỡng cực.

2.3.2. Cách thức phẫu thuật

Lấy tạng: Rạch da vòng quanh đùi theo thiết kế sẵn. Sau khi bóc tách để bộc lộ và đánh dấu các cấu trúc giải phẫu, dùng cưa lắ cắt đứt 1/3G xương đùi. Sau khi lấy ra, mảnh ghép phức hợp được tưới rửa và được bảo quản lạnh cho đến khi nối mạch nuôi. Sau khi đã lấy đùi xong, động vật được gây mê quá liều để gây tử vong bằng thuốc mê theo đường tĩnh mạch.

Dịch chuyển cấu trúc phức hợp ứng dụng kỹ thuật vi phẫu.

Chuẩn bị vùng nhận: Quy trình bộc lộ các cấu trúc giải phẫu cũng được thực hiện giống như ở kíp 1.

Thực hiện phẫu thuật: Sau khi kết hợp xương đùi bằng nẹp khóa, các khối cơ được khâu bằng chỉ Vicryl 3/0. Tiếp đó, cuống mạch máu nuôi được khâu nối tận - tận ứng dụng kỹ thuật vi phẫu chỉ 9/0. Sau khi nối mạch xong, tiến hành khâu da bằng các mũi chỉ Nylon rời 2/0 và băng vô trùng.

2.3.3. Chăm sóc sau phẫu thuật

Động vật được đặt dưới đèn sưởi và ủ ấm trong vòng 24 giờ sau phẫu thuật, được cung cấp thức ăn và nước uống theo nhu cầu. Thuốc sau mổ được sử dụng bao gồm: Kháng sinh (Cefotaxime), thuốc giảm đau, thuốc chống đông và các thuốc chống thải ghép theo phác đồ chuẩn.

2.4. Khoảng thời gian và các tiêu chí đánh giá

Trong nghiên cứu này, sau khoảng thời gian là 7 ngày, kết quả sẽ được đánh giá thông qua các tiêu chí như sau:

Quan sát đại thể: Cấu trúc ghép hỗn hợp được kiểm tra hàng ngày để đánh giá tình trạng toàn thân và sức sống của tạng ghép hỗn hợp.

Xét nghiệm huyết học: Nhằm xác định những biến đổi về sinh hoá và huyết học trước và sau mổ.

Chụp mạch máu chọn lọc: Sử dụng dung dịch micropaque 30% truyền vào cuống động mạch dưới áp lực sinh lý trong 1 giờ. Chụp X-quang được thực hiện trên máy X-quang sẵn có trong bệnh viện (Toshiba, Japan).

Xét nghiệm tổ chức học: Bệnh phẩm được ngâm trong formaline 10% và sau đó được cố định trong nền parafin, được nhuộm bằng haematoxylin-Eosin (HE) và được quan sát dưới kính hiển vi có độ phóng đại từ 10x đến 50x.

III. KẾT QUẢ

Trong nghiên cứu này, tổng cộng có 16 cặp động vật được thực hiện phẫu thuật với khoảng thời gian đánh giá sau mổ là 1 tuần.

3.1. Kết quả quan sát đại thể

Cho đến thời điểm kết thúc nghiên cứu, tất cả các cấu trúc phức hợp có mạch nuôi trong nghiên cứu này đều sống hoàn toàn. Quá trình liền sẹo vết mổ và hiện tượng mọc lông diễn ra một cách sinh lý. Ở 2 động vật có hiện tượng toác nhẹ vết mổ tuy nhiên vấn đề này không gây ảnh hưởng gì đến sức sống và quá trình liền sẹo vết thương.

3.2. Kết quả xét nghiệm huyết học

Xét nghiệm máu sau mổ cho thấy có sự giảm nhẹ số lượng hồng cầu, huyết sắc tố và hematocrit do hiện tượng mất máu trong quá trình phẫu thuật. Không thấy có sự biến đổi đáng kể của các chỉ số sinh hoá.

3.3. Kết quả chụp chọn lọc hệ mạch nuôi

Kết quả chụp chọn lọc động mạch đùi cho thấy thuốc cản quang lưu thông tốt qua mỗi nối mạch máu vi phẫu. Không có trường hợp tắc mạch mỗi nối nào được ghi nhận trong cả hai nhóm nghiên cứu.

3.4. Kết quả nghiên cứu tổ chức học

Cấu trúc da với các lớp tế bào sừng, nang lông, tổ chức liên kết dưới da cũng như lớp cơ và hệ thống mạch máu được sắp xếp theo thứ tự giống như trong các tổ chức sống bình thường. Có hiện tượng xâm nhiễm của các tế bào viêm đơn nhân và đại thực bào. Không quan sát thấy hiện tượng hoại tử mô và tổ chức ở chi ghép trên tất cả các bệnh phẩm nghiên cứu.

IV. BÀN LUẬN

Dịch chuyển các cấu trúc hỗn hợp có mạch nuôi vi phẫu là một lựa chọn điều trị ở mức cao nhất trong bậc thang phẫu thuật tạo hình ứng dụng kỹ

thuật vi phẫu. Phương pháp cho phép tái tạo lại các tổ chức giống như nguyên bản nhằm phục hồi tối ưu chức năng và hình thể ở nơi nhận¹.

Dịch chuyển các cấu trúc hỗn hợp đồng loài có mạch nuôi được xây dựng và phát triển dựa trên những thành tựu của vi phẫu tạo hình cũng như những tiến bộ của các liệu pháp ức chế miễn dịch trong những thập kỷ gần đây. Những thành tựu này được minh chứng rõ rệt thông qua sức sống và khả năng tồn tại lâu dài của chúng trong cơ thể vật chủ^{6,8,13}.

Cho dù cho có những khác biệt, nghiên cứu trên mô hình động vật thực nghiệm luôn được xem là một phương pháp đặc biệt có giá trị, được xem là nghiên cứu cơ bản bắt buộc trước khi áp dụng trong thực tế lâm sàng¹⁰⁻¹³.

Cho đến nay, đã có nhiều mô hình thực nghiệm trên các loài động vật khác nhau (chuột, chó, lợn...) ⁶⁻¹⁶. Nhìn lại y văn, chuột là loài động vật được sử dụng nhiều nhất, tuy nhiên chúng cũng có điểm bất lợi là đường kính mạch máu nhỏ nên phẫu thuật sẽ đặc biệt khó khăn. Thứ hai, tỷ lệ tử vong cao cũng có thể ảnh hưởng tiêu cực đến kết quả nghiên cứu¹⁶. Bên cạnh đó, do hệ thống miễn dịch của chuột khác với người nên phần lớn chúng được sử dụng để nghiên cứu về hiệu quả tác dụng và tác dụng phụ của các thuốc chống thải ghép^{1,8,16}.

Bên cạnh mô hình chuột, một số mô hình động vật lớn khác cũng được sử dụng, tuy nhiên do những khó khăn liên quan đến chi phí, công tác chăm sóc... nên các mô hình này ít được sử dụng¹⁰⁻¹⁵.

Trong nghiên cứu này, động vật được lựa chọn có tính tương đồng cao về mặt giải phẫu, có kích thước rất phù hợp cho việc nghiên cứu cũng như quan sát và theo dõi sau mổ. Kích thước mạch máu cũng rất phù hợp cho việc khâu nối vi phẫu thuật. Ngoài ra, chi phí kinh tế hợp lý và việc chăm sóc trước không quá phức tạp cũng là những yếu tố quan trọng được cân nhắc trong nghiên cứu này.

Kết quả của nghiên cứu đã cho thấy rằng, tất cả các cấu trúc ghép hỗn hợp đều sống cho tới thời điểm kết thúc nghiên cứu. Sức sống tốt của chúng được thể hiện qua màu sắc và hồi lưu mao mạch rõ. Kết quả chụp X-quang cho thấy các mối nối đều

thông tốt. Chúng tôi cho rằng, kỹ thuật khâu nối vi phẫu mạch máu chuẩn mực kết hợp với việc dùng các thuốc theo quy trình chuẩn là những yếu tố quyết định cho thành công của phẫu thuật.

Trên các bệnh phẩm mô học, cấu trúc da và tổ chức dưới da của cấu trúc ghép điển hình giống như các tổ chức sống bình thường với các lớp tế bào biểu bì da và các tế bào sợi xơ sắp xếp song song. Hiện tượng xâm nhiễm của các tế bào viêm đơn nhân và đại thực bào vào tổ chức dưới da và tổ chức cơ ở các mức độ khác nhau là có thể chứng minh được trên các bệnh phẩm tổ chức học. Đây được xem là một thử nghiệm tiền lâm sàng có giá trị trước khi áp dụng trên người.

Nghiên cứu thực nghiệm này tuy nhiên vẫn còn tồn tại một số hạn chế. Thứ nhất là, nghiên cứu mới chỉ đánh giá được khả năng sống của cấu trúc hỗn hợp có mạch nuôi trong một khoảng thời gian hạn chế là 7 ngày. Để tương ứng với thực tế lâm sàng thì những nghiên cứu thực nghiệm tiếp theo với thời gian sống dài hơn là cần thiết. Thứ hai là, do chi phí của các bộ xét nghiệm miễn dịch (kit test) quá cao nên nghiên cứu này không định lượng và định tính được sự biến đổi của các dấu ấn (marker) trong hệ thống miễn dịch của vật chủ. Đây chính là những nội dung nghiên cứu tiếp theo của đề tài nhằm phát triển và hoàn thiện mô hình thực nghiệm với mục đích làm tăng tỷ lệ sống khi ứng dụng lâm sàng.

V. KẾT LUẬN

Mô hình thực nghiệm này là một mô hình tiền lâm sàng có tính thực tiễn và khả thi. Kết quả của nghiên cứu đã cho thấy rằng, kỹ thuật vi phẫu chuẩn mực kết hợp với việc sử dụng thuốc phù hợp là những yếu tố tiên quyết giúp đảm bảo cho thành công của phẫu thuật. Nghiên cứu này mở ra một triển vọng hiện thực cho ứng dụng lâm sàng trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lee WP, Mathes DW (1999) *Hand transplantation: pertinent data and future outlook*. J Hand Surg Am 24(5): 906-913.

2. Gilbert R (1964) *Transplant is successful with a cadaver forearm*. Med Trib Med News 5: 20-23.
3. Dubernard JM, Owen E, Herzberg G, et al (1999) *Human hand allograft: report on first 6 months*. Lancet 353(9161): 1315-1320.
4. Dubernard JM, Owen E, Lefrançois N, et al (2000) *First human hand transplantation. Case report*. Transpl Int 13(1): 521-524.
5. Jones JW, Gruber SA, Barker JH, Breidenbach WC (2000) *Successful hand transplantation. One-year follow-up. Louisville hand transplant team*. N Engl J Med 343(7): 468-473.
6. Sucher R, Lin CH, Oberhuber R, et al (2012) *Hemiface allotransplantation in the mouse*. Plast Reconstr Surg 129(4): 867-870.
7. Sucher R, Lin CH, Zanoun R, et al (2010) *Mouse hind limb transplantation: A new composite tissue allotransplantation model using nonsuture supermicrosurgery*. Transplantation 90(12): 1374-1380.
8. Zhang F, Shi DY, Kryger Z, Moon W, Lineaweaver WC, Buncke HJ (1999) *Development of a mouse limb transplantation model*. Microsurgery 19(5): 209-213.
9. Shapiro RI, Cerra FB (1978) *A model for reimplantation and transplantation of a complex organ: the rat hind limb*. J Surg Res 24(6): 501-506.
10. Goldwyn RM, Beach PM, Feldman D, Wilson RE (1966) *Canine limb homotransplantation*. Plast Reconstr Surg 37(3): 184-195.
11. Lance EM, Inglis AE, Figarola F, Veith FJ (1971) *Transplantation of the canine hind limb. Surgical technique and methods of immunosuppression for allotransplantation. A preliminary report*. J Bone Joint Surg Am 53(6): 1137-1149.
12. Ustüner ET, Zdichavsky M, Ren X, et al (1998) *Long-term composite tissue allograft survival in a porcine model with cyclosporine/mycophenolate mofetil therapy*. Transplantation 66(12): 1581-1587.
13. Daniel RK, Egerszegi EP, Samulack DD, Skanes SE, Dykes RW, Rennie WR (1986) *Tissue transplants in primates for upper extremity reconstruction: A preliminary report*. J Hand Surg Am 11(1): 1-8.
14. Samulack DD, Dykes RW, Munger BL (1988) *Neurophysiologic aspects of allogeneic skin and upper extremity composite tissue transplantation in primates*. Transplant Proc 20(2- 2): 279-290.
15. Stark GB, Swartz WM, Narayanan K, Møller AR (1987) *Hand transplantation in baboons*. Transplant Proc 19(5): 3968-3971.
16. Furtmüller GJ, Oh B, Grahammer J, et al (2016) *Orthotopic hind limb transplantation in the mouse*. J Vis Exp 12 (108): 53483.