

Nghiên cứu khả năng kích thích liền xương của vật liệu ZK60 khi được phủ hydroxyapatite (HA) trên thực nghiệm

Investigation of the effects of hydroxyapatite (HA)-coated ZK60 materials on bone healing in experimental animals

Lê Văn Hải^{1*}, Nguyễn Trọng Toàn²
và Lê Hanh³

¹Bệnh viện Quân y 103,
²Quân đoàn 12 - Bộ Quốc Phòng,
³Bệnh viện Trung Ương Quân đội 108

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá khả năng kích thích liền xương của vật liệu ZK60 phủ HA trên thực nghiệm. **Đối tượng và phương pháp:** 84 thỏ trắng khỏe mạnh được chia ngẫu nhiên thành 3 nhóm: Nhóm 1 (n = 28): Được cấy nẹp vít Mg ZK60 phủ HA; nhóm 2 (n = 28) được cấy nẹp vít ZK60 không phủ HA; nhóm 3 (n = 28) được cấy nẹp vít Titan. Thỏ ở các nhóm được cấy nẹp vít vào xương đùi thỏ được gây mô hình khuyết xương. Trước và sau phẫu thuật 3 ngày, 7 ngày, 30 ngày, 60 ngày, 90 ngày và 180 ngày, tiến hành chụp phim X-quang kỹ thuật số để phân tích bóng xương và làm mô học để phân tích quá trình can xương trên thỏ. **Kết quả:** Trên hình ảnh X-quang, từ ngày thứ 30, nhóm ZK60 phủ HA, tỷ lệ có bóng xương và bóng xương dày đều cao hơn so với nhóm ZK60 không phủ HA và nhóm Titan. Trên hình ảnh mô học, ở ngày 30 chỉ có nhóm ZK60 phủ HA có can xương mềm, đến ngày thứ 60 đã can xương chắc ở tất cả các mẫu trong khi ở hai nhóm còn lại can xương mềm chỉ xuất hiện ở ngày thứ 60 sau phẫu thuật. **Kết luận:** Vật liệu ZK60 phủ HA có khả năng kích thích liền xương tốt nhất trong các nhóm nghiên cứu.

Từ khóa: Liền xương, vật liệu ZK60, hydroxyapatite, thỏ.

Summary

Objective: To evaluate the effects of hydroxyapatite (HA)-coated ZK60 materials on bone healing in experimental animals. **Subject and method:** 84 healthy white rabbits were randomly divided into three groups: Group 1 (n = 28): Implanted with HA-coated ZK60 magnesium alloy bone plates and screws. Group 2 (n = 28): Implanted with uncoated ZK60 bone plates and screws. Group 3 (n = 28): Implanted with titanium bone plates and screws. All rabbits underwent femoral bone defect surgery, where bone plates were implanted into the femur. Digital X-ray imaging was performed before surgery and at 3, 7, 30, 60, 90, and 180 days post-operation to assess bone shadow formation. Histological analysis was also conducted at these time points to evaluate the bone healing process. **Result:** On X-ray images, from 30th day, the HA-coated ZK60 group showed a higher rate of bone shadow presence and more uniform bone density compared to the uncoated ZK60 and titanium groups. Histologically, at 30th day, only the HA-coated ZK60 group exhibited the formation of soft callus. At 60th day, all samples in this group showed mature (hard) callus formation, whereas the other two groups only began to show soft callus at day 60.

Ngày nhận bài: 5/5/2025, ngày chấp nhận đăng: 24/6/2025

* Tác giả liên hệ: bshaibv103@gmail.com - Bệnh viện Quân y 103

Conclusion: HA-coated ZK60 material demonstrated the highest bone-healing stimulation potential among all experimental groups.

Keywords: Bone-healing, ZK60 implants, hydroxyapatite, rabbits.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vật liệu tự tiêu đang được nghiên cứu và phát triển trong những thập niên gần đây. Các vật liệu kết xương tự tiêu hiện nay đều tập trung vào 3 hệ vật liệu chính là AZ, WE và ZK¹. Trong đó, hệ vật liệu ZK60 được bổ sung 2 kim loại là Zinc (Zn, 6%) và Zirconium (Zr, $\leq 1\%$)² theo thành phần nguyên tử. Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng hệ vật liệu ZK60, ngoài những đặc điểm ưu việt như trên, chúng còn có đặc tính hữu dụng sinh học: Thúc đẩy quá trình liền xương, tính tương thích sinh học tốt, tăng cơ tính của vật liệu nền³. Vì vậy, vật liệu hợp kim ZK60 được xem là một vật liệu tiềm năng ứng dụng sản xuất vật liệu kết xương tự tiêu. Tuy nhiên, ảnh hưởng của tốc độ tự tiêu của vật liệu kết xương nên các vật liệu này chỉ được sử dụng hạn chế trong nha khoa. Vì vậy, việc tìm kiếm phương pháp làm tăng tính tương thích sinh học vừa làm chậm tốc độ tự tiêu của vật liệu nói trên sẽ làm tăng tiềm năng sử dụng của vật liệu tự tiêu trong chấn thương chỉnh hình. Một trong những phương pháp được đưa ra là phủ một lớp hydroxyapatite (HA) lên bề mặt vật liệu. Tuy nhiên, tính tương thích sinh học thể hiện qua khả năng kích thích quá trình liền xương của vật liệu vẫn là một đặc điểm quan trọng của vật liệu để có thể sử dụng trên lâm sàng. Vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm mục đích: *Đánh giá khả năng kích thích liền xương của vật liệu ZK60 phủ HA.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Đối tượng

84 thỏ trắng trưởng thành, khỏe mạnh (trọng lượng từ 1,8-2,3kg) được sử dụng trong nghiên cứu này. Thỏ được chia ngẫu nhiên thành 3 nhóm: Nhóm 1 (n = 28): Thỏ được cấy nẹp vít ZK60 có phủ HA; nhóm 2 (n = 28): Thỏ được cấy nẹp vít ZK60 không phủ HA và nhóm 3 (n = 28): thỏ được cấy nẹp vít Titan. Ở các thời điểm 30 ngày, 60 ngày, 90 ngày và 180 ngày sau phẫu thuật cấy đĩa, 7 thỏ ở mỗi nhóm được gây mê và phẫu thuật lấy nẹp vít và phần mềm xung quanh để nghiên cứu hình ảnh giải phẫu bệnh. Vì vậy, số thỏ sẽ giảm dần qua các thời điểm nghiên cứu nói trên.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Phẫu thuật cấy nẹp vít ZK60 vào xương đùi thỏ

Cạo sạch lông vùng đùi thỏ và sát trùng bằng dung dịch betadin 10% và cồn 70 độ. Sau đó, tiến hành gây mê bằng truyền tĩnh mạch propofol 1%, liều 15mg -25mg /kg/giờ. Rửa da vùng đùi trước ngoài thỏ dài 4cm. Bóc tách tổ chức dưới da và tìm khe cơ giữa cơ vùng đùi trước và đùi sau của thỏ. Bóc tách theo khe cơ để tìm và bóc lộ xương đùi thỏ. Dùng kim bóc tách và bóc hết màng xương đùi thỏ. Cưa đứt 1 thành xương đùi thỏ. Đặt nẹp vít 4 lỗ lên mặt ngoài xương đùi, đánh dấu các vị trí khoan xương tương ứng với các lỗ của nẹp. Dùng khoan đường kính 1,8mm khoan qua thành xương đùi thỏ ở các vị trí đánh dấu. Nẹp vít được đặt sát vào thành xương đùi thỏ sao cho các lỗ trên nẹp tương ứng với các lỗ khoan trên thành xương. Bắn vít vào các lỗ khoan đến chắc chắn. Dùng chỉ y khoa khâu kín các lớp để đóng kín vết mổ. Chờ thỏ tỉnh táo đưa vào chuồng nuôi chăm sóc và theo dõi tiếp. Do được chăm sóc tốt và điều trị kháng sinh dự phòng nên không có thỏ chết trong quá trình nghiên cứu.

2.2.2. Đánh giá thay đổi hình dạng của vật liệu bằng hình ảnh X-quang

Thỏ được cố định trên bàn cố định động vật. Bóc lộ hoàn toàn vùng đã phẫu thuật, không có vải hoặc vật che chắn. Đưa đèn chiếu tia X-quang vào gần vùng phẫu thuật, với khoảng cách cố định 20cm tính từ đèn chiếu tia. Chụp phim X-quang với độ phân giải 3200×1200 pixels và liều chụp 60kV, I = 35mAs (máy CanoScan, hãng Vikomed- Việt Nam).

2.2.3. Đánh giá quá trình liền xương qua hình ảnh giải phẫu bệnh

Ở các thời điểm 30 ngày, 60 ngày, 90 ngày và 180 ngày sau phẫu thuật cấy nẹp vít vào xương đùi thỏ, tiến hành gây mê 7 chuột ở mỗi nhóm. Sát trùng vùng đùi thỏ bằng betadin 10%, cồn y tế 70°. Sau đó, rửa da đùi thỏ ở vị trí vết mổ cũ, bóc tách cân cơ vùng đùi thỏ để tìm vị trí đặt nẹp vít, bóc lộ vị

trí này. Tiếp theo, tháo vít, tháo nẹp, rửa lấy đoạn xương tại vị trí đặt nẹp vít (chiều dài 2cm), cho vào lọ có chứa dung dịch cố định formaldehyd 10% x 48 giờ. Sử dụng dung dịch làm mềm xương, cắt bệnh phẩm thành các lát mỏng và nhuộm HE, quan sát dưới hình hiển vi quang học ở vật kính 40x.

2.3. Chỉ số nghiên cứu

Hình ảnh X-quang xương đùi: Không có bóng xương, có bóng xương và bóng xương dày.

III. KẾT QUẢ

3.1. Kết quả kích thích quá trình liền xương trên hình ảnh X-quang

Thời điểm	Nhóm 1	Nhóm 2	Nhóm 3
7 ngày			
30 ngày			
60 ngày			
90 ngày			

Đặc điểm can xương trên giải phẫu bệnh: Can xương mềm, can xương chắc, tái tạo xương.

2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được đánh giá dựa trên tỷ lệ phần trăm ở các nhóm nghiên cứu. Thống kê sử dụng phương pháp so sánh khi bình phương. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

180 ngày

**Hình 1.** Hình ảnh X-quang xương đùi thỏ sau phẫu thuật kết xương

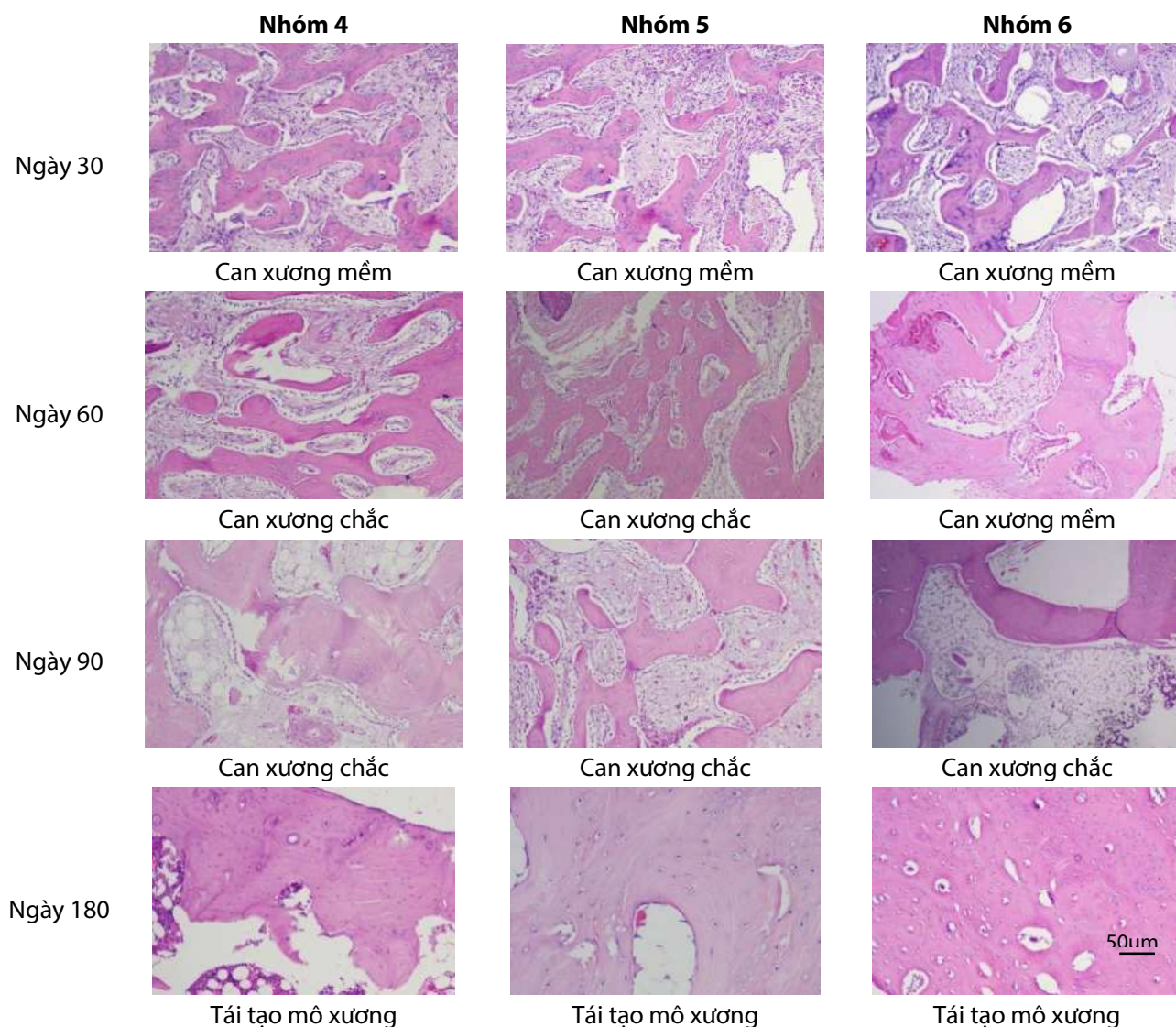
Nhận xét: Kết quả trong Hình 2 cho thấy bóng xương bắt đầu xuất hiện từ ngày thứ 30 sau phẫu thuật ở tất cả các nhóm nghiên cứu. Trong đó, bóng xương dày xuất hiện từ ngày thứ 90 sau phẫu thuật ở nhóm 1 và nhóm 2 trong khi nhóm 3 không thấy bóng xương dày.

Bảng 1. Hình ảnh xương đùi thỏ trên phim X-quang sau phẫu thuật kết xương

Thời điểm sau phẫu thuật	Nhóm thỏ	Hình dạng xương (n, %)		
		Không có bóng xương	Có bóng xương	Bóng xương dày
Ngày 7	Nhóm 1 (n = 28)	28 (100%)	0	0
	Nhóm 2 (n = 28)	28 (100%)	0	0
	Nhóm 3 (n = 28)	28 (100%)	0	0
p		p>0,05		
Ngày 30	Nhóm 1 (n = 28)	4 (14,3%)	21 (75%)	3 (14,7%)
	Nhóm 2 (n = 28)	12 (42,9%)	16 (57,1%)	0
	Nhóm 3 (n = 28)	20 (71,4%)	8 (28,6%)	0
p		p<0,01 (X ² test)		
Ngày 60	Nhóm 1 (n=21)	0	0	21 (100%)
	Nhóm 2 (n=21)	0	9 (42,9%)	12 (57,1%)
	Nhóm 3 (n=21)	1 (4,8)	17 (81,0%)	3 (14,2%)
		p<0,01 (X ² test)		
Ngày 90	Nhóm 1 (n=14)	0	0	14 (100%)
	Nhóm 2 (n=14)	0	3 (27,3%)	11 (72,7%)
	Nhóm 3 (n=14)	0	6 (42,9%)	8 (57,1%)
p		p<0.05 (X ² test)		
Ngày 180	Nhóm 1 (n=7)	0	0	7 (100%)
	Nhóm 2 (n=7)	0	0	7 (100%)
	Nhóm 3 (n=7)	0	0	7 (100%)
p		p>0.05 (X ² test)		

Nhận xét: Kết quả trong Bảng 1 chỉ ra ở thời điểm 7 ngày sau phẫu thuật kết xương, hình ảnh “không bóng xương” xuất hiện bóng xương ở tất cả các nhóm nghiên cứu. Từ thời điểm ngày 30 trở đi sau phẫu thuật kết xương, bóng xương bắt đầu xuất hiện với tỷ lệ lần lượt ở nhóm 4, 5, 6 lần lượt là 21 (75%), 16 (57,1%), 8 (28,6%). Đến ngày 180 sau phẫu thuật, 100% số thỏ có hình ảnh bóng xương dày, rõ rệt trên phim X-quang.

3.2. Biến đổi cấu trúc mô xương sau phẫu thuật kết xương



Hình 1. Hình ảnh mô xương đùi thỏ sau phẫu thuật kết xương

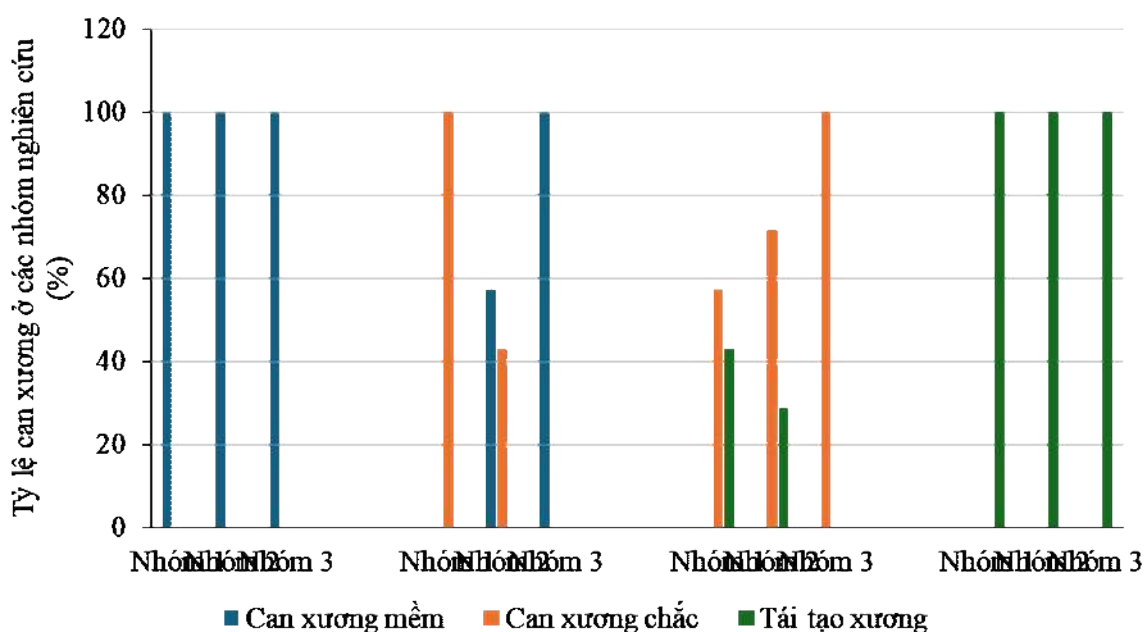
Nhận xét: Ở thời điểm ngày 30 sau phẫu thuật kết xương, hình ảnh mô cho thấy xương đùi thỏ mới chỉ can xương mềm, ở tất cả các nhóm. Đến ngày 60 sau phẫu thuật kết xương, nhóm 6 vẫn còn can xương mềm nhưng nhóm 4, 5 đã can xương chắc: Hai lỗ vít xuyên qua thân xương có phản ứng tạo xương nhẹ ở vùng màng ngoài xương và ở ống tủy với các lá xương lớn nhỏ và mô liên kết sợi non. Các hốc tủy rộng, chứa nhiều tế bào máu. Trong ống tủy có nơi chứa các tế bào máu, máu đông và tạo cốt bào.

Đến ngày 90, xương đã can chắc: Hai lỗ vít xuyên qua thân xương có phản ứng tạo xương nhẹ ở vùng màng ngoài xương và ở ống tủy với các lá xương trưởng thành lớn nhỏ. Các hốc tủy giãn rộng với nhiều tế

bào liên kết. Đến ngày 180 thì xương đã tái tạo hoàn chỉnh: Hai lỗ vít xuyên qua thân xương có phản ứng tạo xương nhẹ ở vùng màng ngoài xương và ở ống tủy với các lá xương trưởng thành. Các ống Haver đã hình thành trong các lá xương.

Bảng 2. Đặc điểm can xương trên hình ảnh mô xương đùi

Thời điểm sau phẫu thuật	Nhóm thử	Đặc điểm can xương		
		Can xương mềm	Can xương chắc	Tái tạo xương
Ngày 30	Nhóm 1 (n=7)	7	0	0
	Nhóm 2 (n=7)	7	0	0
	Nhóm 3 (n=7)	7	0	0
p		p>0,05 (X ² test)		
Ngày 60	Nhóm 1 (n=7)	0	7	0
	Nhóm 2 (n=7)	4	3	0
	Nhóm 3 (n=7)	7	0	0
p		p<0,05 (X ² test)		
Ngày 90	Nhóm 1 (n=7)	0	4	3
	Nhóm 2 (n=7)	0	5	2
	Nhóm 3 (n=7)	0	7	0
p		p>0,05 (X ² test)		
Ngày 180	Nhóm 1 (n=7)	0	0	7
	Nhóm 2 (n=7)	0	0	7
	Nhóm 3 (n=7)	0	0	7
p		p>0,05 (X ² test)		



Biểu đồ 1. Tỷ lệ can xương sau phẫu thuật

Nhận xét: Ở thời điểm ngày 30 sau phẫu thuật kết xương, các thỏ đều mới chỉ can xương mềm ở cả ba nhóm nghiên cứu. Đến thời điểm ngày 60, nhóm 4 và 5 đã xuất hiện can xương chắc, nhóm 6 không có ca nào có can xương chắc. Từ ngày 90 trở đi, tất cả các nhóm đã có can xương chắc và tái tạo xương.

IV. BÀN LUẬN

Về hiệu quả liền xương, kết quả nghiên cứu ở Bảng 1, Bảng 2 và Hình 1 cho thấy: Có bóng xương và bóng xương dày xuất hiện. Sự xuất hiện bóng xương ở các nhóm nghiên cứu bắt đầu từ ngày thứ 30 sau phẫu thuật. Kết quả này phù hợp với hình ảnh mô học cho thấy can xương cũng bắt đầu hình thành từ thời điểm sau phẫu thuật kết xương 30 ngày ở các nhóm nghiên cứu. Trong đó, ở thời điểm này tỷ lệ có bóng xương ở nhóm kết xương nẹp vít ZK60 có phủ HA cao nhất, tiếp đến nhóm kết xương nẹp vít ZK60 không phủ HA và thấp nhất là ở nhóm nẹp vít titan với tỷ lệ bóng xương tại chỗ ở ba nhóm nghiên cứu trên lần lượt là 21/28 (75%), 16/28 (57,1%) và 8/28 (28,6%). Đặc biệt, ở thời điểm này ở nhóm kết xương nẹp vít ZK60 phủ HA đã có bóng xương dày với 3/28 (14,7%). Từ thời điểm 60 ngày đến 180 ngày sau phẫu thuật kết xương, tỷ lệ xuất hiện bóng xương tăng dần ở tất cả các nhóm nghiên cứu với sự tăng nhanh nhất vẫn ở nhóm kết xương nẹp vít ZK60 phủ HA, rồi đến nhóm kết xương nẹp vít ZK60 không phủ HA, cuối cùng là ở nhóm kết xương nẹp vít Titan. Đến thời điểm 180 ngày sau phẫu thuật kết xương, 100% có bóng xương dày. Điều này gợi ý quá trình can xương đã cơ bản hoàn thành ở thời điểm 180 ngày sau phẫu thuật ở tất cả các nhóm nghiên cứu.

Kết quả trên hình ảnh X-quang ở thời điểm nói trên phù hợp với dữ liệu hình ảnh mô học chúng tôi thu được. Kết quả mô học cho thấy, ở thời điểm 30 ngày cho thấy chỉ có can xương mềm ở tất cả các nhóm nghiên cứu, với đặc điểm ở ống tủy với các lá xương lớn nhỏ và mô liên kết sợi non. Từ thời điểm sau 60 ngày phẫu thuật kết xương, can xương chắc đã xuất hiện ở nhóm kết xương nẹp vít ZK60 có phủ HA, không phủ HA với tỷ lệ lần lượt là 7/7 (100%) và 3/7 (42,9%). Từ thời điểm ngày 90 đến thời điểm ngày 180 sau phẫu thuật có quá trình can xương

chắc (với đặc điểm ở ống tủy với các lá xương trưởng thành lớn nhỏ) và tái tạo xương (với đặc điểm ở ống tủy với các lá xương trưởng thành và các ống Haver đã hình thành trong các lá xương) của tất cả thỏ ở tất cả các nhóm nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với nghiên cứu của Dang và CS (2019), nhóm tác giả đánh giá phản ứng của xương khi được cấy ghép vít hợp kim (Mg-Ca). Kết quả cho thấy, có sự hình thành can xương rõ trên thỏ ở thời điểm 3 tháng sau cấy vít vào xương đùi thỏ⁴. Tương tự, Ma và CS (2023) khi nghiên cứu về sự liền xương khi được kết xương bằng vật liệu titan trên thỏ cũng cho thấy tại thời điểm 4 tuần sau phẫu thuật chưa có sự hình thành lớp xương mới trong khi ở 12 tuần đã có sự can xương mềm được thấy trên hình ảnh mô học⁵. Tuy nhiên, Sadek và CS (2022) lại cho thấy khi cấy vật liệu nano UiO-66, ở tuần thứ 4 đã có quá trình can xương mềm và ở tuần thứ 12 đã có can xương chắc⁶.

Như vậy, với kết quả trên phim X-quang và hình ảnh mô học đều cho thấy nhóm thỏ được phẫu thuật kết xương bằng nẹp vít ZK60 phủ HA có tỷ lệ liền xương nhanh nhất (bóng xương, hình bóng xương dày, can xương sớm). Sau đó là đến nhóm thỏ được phẫu thuật kết xương bằng bộ nẹp vít ZK60 không phủ HA và sau cùng là nhóm titan.

Hạn chế của nghiên cứu: Trong nghiên cứu này, khả năng kích thích liền xương và sự liền xương của vật liệu có ảnh hưởng bởi khả năng tốc độ tự tiêu của vật liệu. Tuy nhiên, trong bài báo này chưa đánh giá được sự tự tiêu của vật liệu qua thời gian hoặc cũng như phản ứng viêm có thể xảy ra khi cấy vật liệu vào cơ thể động vật. Vấn đề này, cần được nghiên cứu ở các nghiên cứu tiếp theo.

V. KẾT LUẬN

Hiệu quả liền xương nhóm nẹp vít ZK60 có phủ HA là cao nhất, tiếp đến là nẹp vít ZK60 không phủ HA và cuối cùng là nẹp vít Titan với biểu hiện xuất hiện bóng xương trên phim X-quang và sự can xương trên hình ảnh mô bệnh học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Festas A, Ramos A, Davim J (2020) *Medical devices biomaterials - A review. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers. Journal of*

- Materials: Design and Applications 234(1): 218-228.
2. Calado LM, Carmezim MJ, Montemor MF (2022) *Rare Earth Based Magnesium Alloys. A Review on WE Series* 8:2296-8016.
 3. Shirani M, Azadnasab R, Baradaran M et al (2023) *A Review of Toxicity Studies of Zirconium and Its Derivatives*. Jundishapur J Nat Pharm Prod 18(4): e137464.
 4. Dang LHN, Kim YK, Kim SY et al (2019) *Radiographic and histologic effects of bone morphogenetic protein-2/hydroxyapatite within bioabsorbable magnesium screws in a rabbit model*. J Orthop Surg Res 14: 117.
 5. Ma Z, Liu B, Li S et al (2023) *A novel biomimetic trabecular bone metal plate for bone repair and osseointegration*. Regen Biomater 10:rbad003.
 6. Sadek AA, Abd-Elkareem M, Abdelhamid HN et al (2022) *Enhancement of critical-sized bone defect regeneration using UiO-66 nanomaterial in rabbit femurs*. BMC Vet Res 18: 260.