

Một số kết quả nghiên cứu ghép tạng thực nghiệm tại Học viện Quân y

Some results of experimental organs transplant at Military Medical University

Đỗ Xuân Hai*, Ngô Minh Đức*
Mai Văn Viện**

*Học viện Quân y,
**Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Tóm tắt

Mục tiêu: Tổng hợp một số kết quả ghép tạng thực nghiệm tại Học viện Quân y. **Đối tượng và phương pháp:** Các nghiên cứu ghép tạng thực nghiệm: Ghép tim, ghép tụy - thận, ghép phổi, thực hiện trong giai đoạn 2010 - 2020. Phương pháp hồi cứu, tổng hợp một số kết quả theo tiêu chí đánh giá đề tài đã được thông qua. **Kết quả:** Tỷ lệ sống sau ghép cao ($\geq 75\%$), nguyên nhân thất bại chủ yếu do tắc mạch ghép và hẹp miệng nối. Các công bố Quốc tế: Ghép tim: Truyền rửa qua tĩnh mạch chủ hiệu quả hơn qua động mạch chủ. Ghép tụy - thận: Xây dựng nhiều mô hình ghép tụy và ghép tụy với mạch máu đảo chiều. Ghép phổi: Xây dựng nhiều mô hình ghép, trong đó có tái tạo khí quản từ vật da và sụn sườn tự thân. Truyền rửa lấy đa tạng theo phương pháp hòa loãng máu: Là mô hình mới, bước đầu có kết quả tạng tốt trên đại thể và vi thể. **Kết luận:** Ghép tạng thực nghiệm có vai trò quan trọng góp phần vào thành công cho ghép tạng trên người.

Từ khóa: Ghép tạng thực nghiệm.

Summary

Objective: To summarize some experimental organ transplant results at Vietnam Military Medical University. **Subject and method:** Experimental organ transplant studies: Heart, pancreas, kidney and lung transplantation, conducted in the period of 2010 - 2020 at the Department of Practical and Experimental Surgery. Method of retrospective, summarizing some results according to the subject evaluation criteria has been adopted. **Result:** The survival rate after transplantation was high ($\geq 75\%$). International publication results: Heart transplant: Washing through the vena cava was better with the aorta. Pancreas - kidney transplant: Successfully build many models of pancreatic transplantation, pancreatic transplantation with reversible blood vessels. Lung transplant: Constructing many transplant models, including regeneration of trachea from skin flap and cartilage itself. Multi-organs transfusion washes were a new model, resulting in well preserved organs through visual and pathological anatomy. **Conclusion:** Experimental organ transplantation is important to the success of human organs transplantation.

Keywords: Experimental organs transplantation.

1. Đặt vấn đề

Ngày nhận bài: 11/01/2021, ngày chấp nhận đăng: 27/01/2021
Người phản hồi: Đỗ Xuân Hai, Email: doxuanhai.vmmu@gmail.com - Học viện Quân y

Ghép tạng thực nghiệm tại Học viện Quân y là nền tảng cho sự phát triển ghép tạng trong Quân đội nói riêng và ngành Y tế nói chung. Các nghiên cứu này nhằm mục đích rèn luyện hiệp đồng tổ chức giữa các bộ phận, kiểm tra quá trình chuẩn bị, rèn luyện các kỹ năng y học và nâng cao trình độ năng lực chuyên môn, phương tiện của Học viện [1], [2]. Từ năm 1991 đến nay, chúng tôi là nơi đầu tiên nghiên cứu và hoàn thiện các qui trình ghép tạng và ghép tạng thực nghiệm gồm: Ghép thận, ghép gan, ghép tim, ghép tụy - thận và ghép phổi. Nhằm tổng hợp lại các kết quả nghiên cứu giai đoạn 2010 - 2020, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm: *Tổng hợp một số kết quả ghép tạng thực nghiệm tại Học viện Quân y.*

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

Các nghiên cứu ghép tạng thực nghiệm (ghép tim, ghép tụy - thận, ghép phổi). Động vật nghiên cứu trưởng thành, khỏe mạnh gồm: Động vật lớn (chó, lợn) và động vật nhỏ (chuột cống, chuột nhắt) thực nghiệm tại Bộ môn Phẫu thuật thực hành, thực nghiệm - Học viện Quân y, trong thời gian từ 2010 - 2020.

2.2. Phương pháp

Phương pháp hồi cứu một số kết quả đề tài nghiên cứu ghép tạng thực nghiệm (ghép tim, ghép tụy - thận, ghép phổi) dựa theo các tiêu chí đánh giá đề tài gồm: Tỷ lệ sống (72 giờ sau ghép), mô hình nghiên cứu và công bố quốc tế.

Các chỉ số trong đề tài: Được thống kê và xử lý bằng phần mềm SPSS 22 theo từng hồ sơ, tính tỷ lệ %, giá trị trung bình, có ý nghĩa với $p < 0,05$.

3. Kết quả

3.1. Tỷ lệ sống động vật sau ghép

Bảng 1. Tỷ lệ sống sau ghép thực nghiệm (đến 72 giờ)

Tạng ghép	Tỷ lệ động vật sống sau ghép (%)			p
	Lợn	Chó	Chuột	
Ghép tim	87,5 (35/40)	-	86,3 (19/22)	>0,05
Ghép tụy - thận	75 (30/40)	80 (4/5)	-	
Ghép phổi	93 (28/30)	87,5 (7/8)	-	

Ghép tim, ghép phổi tỷ lệ thành công cao ($\geq 75\%$) ở cả động vật lớn và động vật nhỏ cao hơn ghép tụy - thận.

Bảng 2. Nguyên nhân chết động vật sau ghép

Tạng ghép	Nguyên nhân chết của động vật			
	Chảy máu	Hẹp miệng nối	Tắc mạch ghép	Không rõ
Lợn (n = 17)	3	6	6	2
Chó (n = 2)	1	1	-	-
Chuột (n = 3)	1	-	-	2

Các trường hợp động vật chết sau ghép chủ yếu tắc mạch ghép và hẹp miệng nối. Có 2 trường hợp ghép tim ở động vật nhỏ chết sau ghép không rõ nguyên nhân.

3.2. Một số kết quả công bố quốc tế

Ghép tim thực nghiệm: Thực hiện theo mô hình ghép của Ono và Lindsey, đánh giá 2 kỹ thuật truyền rửa, bảo quản.

Bảng 3. Kỹ thuật truyền rửa trong ghép tim

Truyền rửa bảo quản	Tỷ lệ % tim ghép đập lại
Nhóm I (truyền rửa qua động mạch chủ)	36 (4/11)
Nhóm II (truyền rửa qua tĩnh mạch chủ)	64 (7/11)

Sử dụng 2 phương pháp truyền rửa, bảo quản nhận thấy tỷ lệ thành công ở nhóm truyền rửa qua tĩnh mạch chủ dưới cao hơn nhóm qua động mạch chủ.

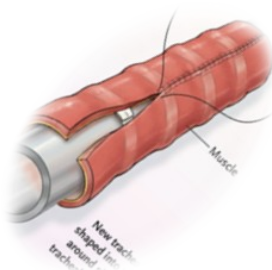
Ghép tụy: Mô hình mạch máu đảo chiều trong ghép tụy thực nghiệm.

Bảng 4. Động mạch nuôi tụy lợn

Động mạch nuôi tụy	Số lượng	Tỷ lệ %
Mạch treo tràng trên	2	20
Động mạch lách	16	37
Động mạch gan chung	19	54
Động mạch thân tạng	3	9

Kết quả nghiên cứu giải phẫu cho thấy tuyến tụy được cấp máu chủ yếu bởi động mạch lách và động mạch gan chung. Từ kết quả này xây dựng mô hình mạch máu đảo chiều với động mạch là động mạch lách.

Ghép phổi: Xây dựng các mô hình ghép phổi, thùy phổi và tái tạo khí quản từ vạt da và sụn sườn tự thân trong ghép phổi thực nghiệm.



Hình 1. Kết quả tái tạo khí quản

Ghép thùy dưới phổi phải cho phổi bên trái (mô hình 1), ghép phổi hiến thùy phổi bên trái xoay 180° ghép vào phổi bên phải (mô hình 2) và ghép phổi với khí quản tái tạo từ vật da và sụn sườn tự thân (mô hình 3). Sau ghép 03 mô hình bước đầu cho kết quả tốt.

Bảng 5. Tỷ lệ sống phổi trái trong 24 giờ sau ghép

Thành phần	Đặc điểm				
	0 giờ	3 giờ	9 giờ	18 giờ	24 giờ
Mạch máu	1+	1+	1+	1+	1+
Màu sắc phổi	1+	1+	1+	1+	1+
Nhiệt độ phổi ghép	39 ± 0,2	39,3 ± 0,2	39,3 ± 0,2	39,2 ± 0,3	39,4 ± 0,1

(1+) màu hồng nhạt: Thang điểm màu sắc.

Phổi ghép theo dõi trong 24 giờ sau ghép màu sắc hồng nhạt, mạch rõ, nhiệt độ bình thường.

Truyền rửa lấy đa tạng theo mô hình hòa loãng máu: Mô hình này động vật được lấy máu qua động mạch đùi, truyền dịch ringerlactat có pha heparin lạnh 4°C với áp lực truyền 150mmHg. Kết quả nghiên cứu trên các tạng: Tim, phổi, gan, tụy, thận cho thấy tốt hơn phương pháp truyền rửa thông thường ($p < 0,05$) trên cả đại thể và vi thể.



Hình 2. Truyền rửa theo mô hình hòa lẫn máu

4. Bàn luận

4.1. Tỷ lệ sống của động vật sau ghép thực nghiệm

Trong vài thập kỷ gần đây, lợn được sử dụng phổ biến trong các mô hình nghiên cứu y sinh học vì những điểm giải phẫu, sinh lý tương đồng với người. Chính vì vậy, hầu hết các nghiên cứu ghép tạng đều sử dụng quy trình trên người cho ghép thực nghiệm nhằm rèn luyện đội ngũ, tổ chức, chuẩn bị và nghiên cứu [1], [2]. Tỷ lệ sống sau ghép cao (> 85%). Kết quả thực nghiệm phụ thuộc vào nhiều yếu tố trong đó có vai trò tổ chức hiệp đồng và ý thức của thành viên nghiên cứu. Các ca thất bại đều là ở giai đoạn đầu của quá trình thực nghiệm khi hiểu biết về giải phẫu động vật chưa được đầy đủ. Động vật chết sau ghép tim liên quan rối loạn huyết động và rối loạn nhịp. Sau ghép phổi liên quan chủ yếu đến vùng tiếp giáp tĩnh mạch phổi và nhĩ trái, khác với trên người vùng tiếp giáp này rộng khoảng 5 - 7mm rất mỏng nên dễ rách khi khâu nối, cùng với áp lực tại miệng nối lớn gây nhiều khó khăn cho phẫu thuật viên [2]. Nguyên nhân thường gặp là chảy máu miệng nối tĩnh mạch cầm máu rất khó khăn do rách chân chỉ mặt sau lợn chết tại giờ thứ 6 sau ghép, ngoài ra có thể do những rối loạn đông máu [3] mà chúng tôi vẫn chưa lí giải được.

4.2. Một số kết quả công bố quốc tế

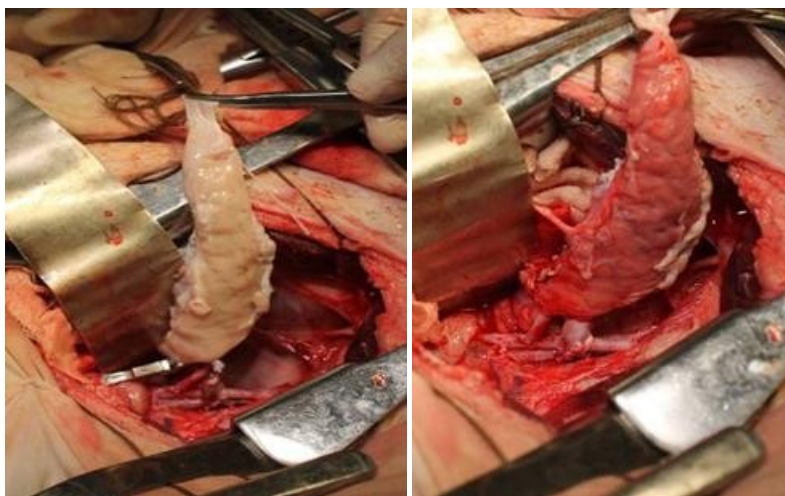
Ghép tim thực nghiệm: Thực hiện trên nhiều loại động vật khác nhau, tùy theo mục đích nghiên cứu. Việc ứng dụng kỹ thuật vi phẫu đã cho phép ghép tim trên các động vật nhỏ như chuột cống, chuột nhắt với mục đích nghiên cứu về miễn dịch và bảo quản tim... [1]. Với mục đích tìm kiếm một

phương pháp truyền rửa tim phù hợp (qua tĩnh mạch hoặc động mạch chủ) cho các trường hợp tim có chất lượng kém, đã ngừng đập và có tổn thương thiếu máu nóng. Nhóm nghiên cứu tiến hành ghép tim theo mô hình Ono và Lindsey. Nhóm nghiên cứu đã đạt tỷ lệ thành công (tim đập lại sau ghép) với 50% các ca ghép, trong đó có 3 trường hợp tim đập lại được đến ngày thứ 3 sau ghép. Qua quá trình thực nghiệm, nhóm nghiên cứu đã xây dựng được quy trình kỹ thuật ghép tim trên chuột và đưa ra được gợi ý về phương pháp truyền rửa tim trong các trường hợp tim có chất lượng kém, đã ngừng đập, điều này có lẽ do có sự khác nhau về áp lực truyền hoặc do các Glycoprotein được tạo ra tại phổi [1], tuy nhiên vấn đề này cần được nghiên cứu tiếp. Công trình nghiên cứu: *Heart procurement from non-heart beating donor initial flush: Via vena cava or via aorta. A study with rat heart transplantation model*, được công bố tại Hội nghị Ghép tạng châu Á.

Ghép tụy: Chúng tôi sử dụng 3 kỹ thuật để xác định vùng cấp máu gồm: Kỹ thuật bơm chất màu, kỹ thuật phẫu tích và kỹ thuật làm đông mạch. Kết quả cho thấy tuyến tụy được cấp máu bởi các nhánh phát sinh chủ yếu từ động mạch thân tạng nên khi bơm xanh methylen chọn lọc vào động mạch thân tạng thì thấy nó cung cấp máu cho toàn bộ tuyến tụy. Động mạch mạc treo tràng trên chỉ cung cấp một phần nhỏ của tụy là thùy nối (20%). Kết nối giữa 2 hệ thống mạch rất nghèo nàn. Phần đuôi tụy chỉ có một nhánh mạch máu nuôi đuôi tụy phát sinh từ động mạch lách chiếm 13/35 (37%), từ động mạch thân tạng là 03/35 (9%) và từ động mạch gan chung 19/35 (54%). Tĩnh mạch: Chạy song song với động mạch và đổ vào tĩnh mạch cửa, tĩnh mạch lách, tĩnh

mạch mạc treo tràng trên. Đáng chú ý, chỉ có 1 tĩnh

mạch tụy, tá tràng đổ về tĩnh mạch cửa là 27/35 (77%) và đổ về tĩnh mạch gan là 08/35 (23%).



Hình 3. Thả clamp mạch máu tụy ghép

Mô hình mạch máu tụy ghép được đảo chiều từ động mạch lách, tạo mô hình ghép tụy mới có kết quả tốt. Các kết quả trên đã được công bố: *Porcine Pancreas: Anatomical Assessment and surgical models of transplantation* và *The first pancreas transplant in Viet Nam - Experience with surgical training and surgical technique* tại Hội nghị Ghép tạng châu Á và Tuần Ghép tạng châu Á đạt giải vàng 2017.

Ghép phổi: Các mô hình ghép phổi với tỷ lệ sống động vật và phổi ghép cao [2], [3]. Tái tạo khí quản từ vật da và sụn sườn tự thân (7, 8, 9) trong ghép phổi thực nghiệm [4]. Đây là kỹ thuật mới, kỹ thuật y khoa phức tạp [5]. Kết quả ban đầu về sự sống của vật da (chủ yếu dựa vào màu sắc) là tốt. Sụn sườn tồn tại trong mô mỡ do thẩm thấu, chúng tôi chưa đánh giá sự tồn tại này theo thời gian. Trong tương lai chúng tôi sẽ tiếp tục nghiên cứu.

Đánh giá phổi ghép dựa trên tình trạng động mạch ghép, thông khí phổi, màu sắc phổi, nhiệt độ bề mặt phổi và chức năng phổi [2], [6], [7]. Ghép thùy trái phổi thông qua mô hình như trên người: Nối khí quản, nối động mạch và tĩnh mạch, kết quả Bảng 5 thấy phổi ghép sống tốt 100%, với động mạch lưu thông tốt, phổi mầu hồng nhạt, nhiệt độ bề mặt bình thường.

Kỹ thuật ghép thùy phổi thực nghiệm là kỹ thuật khó vì giải phẫu tĩnh mạch phổi có nhiều biến thể, rất mỏng dính sát với cột sống [2]. Với khí quản là vật da tái tạo có ưu điểm là không cứng như khí quản nên tạo sự mềm mại cho 3 mối ghép (khí quản, động mạch, tĩnh mạch) [5]. Ngoài ra các sụn sườn có vai trò ổn định cấu trúc ống của vật da tạo thuận lợi cho thông khí ở phổi ghép. Trên thế giới việc sử dụng mô hình ghép phổi một phần từ nguồn cho sống điều trị các bệnh lý đặc biệt ở phổi là xu hướng mới, các nhà nghiên cứu chưa nhận thấy sự thay đổi đáng kể nào ở người cho một phần phổi [7]. Trong nghiên cứu thực nghiệm này chúng tôi cũng thấy rõ điều đó.

Các nghiên cứu: *The first lung transplant in Vietnam - experience with surgical training and Reconstituted trachea from the skin flap in the experimental lung transplant* được báo cáo tại Hội nghị Ghép tạng châu Á, đạt giải Vàng 2017 và giải bạc 2019.

Nghiên cứu lấy da tạng theo phương pháp hòa loãng máu: Có một số nghiên cứu cho rằng hòa loãng máu có tác dụng bảo vệ cơ quan trong phẫu thuật [8]. Lý do có thể là gần oxy tốt hơn và chống tổn thương thiếu máu và tưới máu lại. Chúng tôi giả thiết rằng hòa loãng máu trước khi lấy da tạng sẽ tăng chất lượng của tạng lấy được, giúp đơn giản

hóa kỹ thuật ngoại khoa và khắc phục được tình trạng rối loạn huyết động. Thử nghiệm giả thiết này trên lợn thực nghiệm, cho thấy kết quả tạng được bảo quản tốt.

Tiến hành truyền Ringerlactat 4°C, giảm nhiệt động trung tâm của động vật từ 37,2°C xuống 32,2°C sau đó sử dụng Heparine sau đó truyền dung dịch bảo quản tạng Costodioliol. Tác giả Van't Hoff nghiên cứu hoạt độ của enzyme hay nói cách khác chính là quá trình chuyển hóa, nếu giảm nhiệt độ từ 37°C xuống 33°C hoạt tính của enzyme giảm từ 12 - 14 lần [9].

Đánh giá tạng sau truyền rửa chủ yếu dựa vào trực quan và mật độ [9]. Màu trắng đều, mật độ chắc đều chứng tỏ rửa sạch máu, truyền bảo quản tốt. Mật độ chắc đều sẽ giúp tạng hồi phục chức năng tốt ngay sau ghép vì các tế bào được hệ đệm bảo vệ cung cấp năng lượng tốt trong môi trường pH thích hợp [9]. Làm giải phẫu bệnh chúng tôi chỉ tiến hành ở tụy và thận trong suốt quá trình lấy, rửa và ghép. Kết quả cho thấy tỷ lệ tạng tổn thương vi thể ít hơn ở phương pháp thông thường sự khác biệt ($p < 0,01$) [10], tổn thương nhìn trực quan và vi thể không tương đồng với nhau và không tương đồng với tỷ lệ hoại tử khi mổ ở 24 giờ sau ghép tạng. Ở các nghiên cứu nước ngoài hầu hết người ta đều sinh thiết trước ghép nhưng cũng chỉ ở trường hợp nghi ngờ [10]. Có lẽ nhận xét này là phù hợp với cách làm đó, thường chúng tôi nhận thấy có sự tương đồng giữa mật độ tạng với tổn thương vi thể và tỷ lệ hoại tử. Điều đó giúp các phẫu thuật viên có thể dự đoán chức năng sau ghép cũng như tỷ lệ thành công sau ghép.

Phương pháp lấy đa tạng theo mô hình hòa loãng máu là phương pháp đơn giản có thể triển khai rất nhanh, nhân lực có chuyên môn vừa phải, khắc phục được những rối loạn tim mạch dẫn đến ngừng tim. Với điều kiện nước ta hay các nước tình hình dân số, giao thông khó khăn thì phương pháp này tỏ ra hiệu quả với trang bị đơn giản và có thể triển khai ở đơn vị tuyến dưới.

5. Kết luận

Ghép tạng thực nghiệm có vai trò quan trọng trong nghiên cứu về ghép tạng và sự phát triển của y học. Triển khai đồng bộ ghép tạng thực

nghiệm và ghép tạng trên người sẽ giúp nâng cao trình độ đội ngũ và năng lực của Học viện, góp phần vào thành công ghép tạng trên người trong và ngoài Quân đội.

Tài liệu tham khảo

1. Đặng Ngọc Hùng (2010) *Nghiên cứu ghép tim thực nghiệm*. Đề tài cấp nhà nước, nghiệm thu 2010.
2. Đỗ Quyết (2018) *Nghiên cứu triển khai ghép phổi trên người từ người cho sống và người cho chết não*. Đề tài cấp nhà nước.
3. Mariscal A, Lindsay C (2018) *Pig lung transplant survival model*. Nature 13: 1814-1828.
4. Haykal S, Salna M, Waddell TK et al (2014) *Advances in tracheal reconstruction*. [Plast Reconstr Surg Glob Open 2\(7\)](#).
5. Fabre D, Singhal S, Decante B (2009) *Composite cervical skin and cartilage flap provides a novel large airway substitute after long-segment tracheal resection*. AATS Journals 138(1): 32-39.
6. Hopkins PM, Aboyoun CL, Chajed PN et al (2002) *Prospective analysis of 1235 transbronchial lung biopsies in lung transplant recipients*. J Heart Lung Transplant 21: 1062-1067.
7. Maurer JR, Frost AE (1998) *International guidelines for the selection of lung transplant candidates*. J Heart Lung transplant 17: 1703-1706.
8. Nguyễn Quốc Kính, Trịnh Văn Đồng, Đỗ Danh Quỳnh (2011) *Đánh giá một số thay đổi lâm sàng, cận lâm sàng và rối loạn chức năng tạng của các BN chết não trước khi được hồi sức tích cực*. Y học thực hành, (760), số 4, tr. 16-19.
9. Giáo trình ghép tạng (2004) Học viện Quân y.
10. Đoàn Quốc Hưng, Nguyễn Tiến Quyết (2008) *Mô hình lấy tim, lấy đa tạng trên người tại Bệnh viện Trường Đại học Clermont Ferrand - Cộng hòa Pháp và khả năng ứng dụng tại Việt Nam*. Ngoại khoa, số 2, tr. 1-8.