

Bước đầu nhận xét đặc điểm mô dây thần kinh đồng loài bảo quản lạnh sâu tại Ngân hàng Mô, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức

Đỗ Thanh Hòa¹, Nguyễn Văn Chính¹, Trần Thị Hằng^{1*}, Dương Đức Hùng^{1,2,3},
Hoàng Minh Anh³, Nguyễn Thị Diễm¹, Nguyễn Sỹ Lánh¹

¹Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức, 40 Tràng Thi, phường Hàng Bông, quận Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Đại học Y Hà Nội, 1 Tôn Thất Tùng, phường Trung Tự, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

³Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, phường Dịch Vọng, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 3/12/2024; ngày chuyển phản biện 5/12/2024; ngày nhận phản biện 26/12/2024; ngày chấp nhận đăng 2/1/2025

Tóm tắt:

Mô dây thần kinh đồng loài bảo quản lạnh sâu đang được nghiên cứu và sử dụng trong ghép tái tạo dây thần kinh bị tổn thương, khắc phục những hạn chế của mô ghép tự thân. Nghiên cứu này nhằm mô tả đặc điểm thu hồi, xử lý, bảo quản, phân phối mô dây thần kinh đồng loài bảo quản lạnh sâu tại Ngân hàng Mô, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức. Nghiên cứu sử dụng phương pháp nghiên cứu mô tả, tiền cứu. Kết quả cho thấy, 32 mô dây thần kinh được thu nhận từ 8 người hiến chết não có độ tuổi trung bình là 34 ± 13 (từ 16 đến 50 tuổi). 100% người hiến mô dây thần kinh đều âm tính với HIV, HBV, HCV. 32/32 (100%) mô dây thần kinh thu nhận có màu sắc trắng ngà và nguyên vẹn, không bị biến sắc hay tưa rách, đứt đoạn. Trong đó, có 16 mô (50%) là dây thần kinh hiển với chiều dài từ 210 đến 320 mm và 16 mô (50%) là thần kinh chày với chiều dài từ 100 đến 380 mm. Tất cả mô dây thần kinh có kết quả nuôi cấy vi sinh âm tính. Ba mô dây thần kinh được ghép cho bệnh nhân có cấu trúc sợi bình thường, chưa thoái hóa sau rã đông.

Từ khóa: bảo quản lạnh sâu, mô dây thần kinh, ngân hàng mô.

Chỉ số phân loại: 3.1, 3.5

An initial evaluation of characteristics of cryopreserved allogeneic nerve tissues at Tissue Bank, Viet Duc University Hospital

Thanh Hoa Do¹, Van Chinh Nguyen¹, Thi Hang Tran^{1*}, Duc Hung Duong^{1,2,3},
Minh Anh Hoang³, Thi Diem Nguyen¹, Sy Lanh Nguyen¹

¹Viet Duc University Hospital, 40 Trang Thi Street, Hang Bong Ward, Hoan Kiem District, Hanoi, Vietnam

²Hanoi Medical University, 1 Ton That Tung Street, Trung Tu Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

³University of Medical and Pharmacy, Vietnam National University - Hanoi, 144 Xuan Thuy Street, Dich Vong Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 3 December 2024; revised 26 December 2024; accepted 2 January 2025

Abstract:

Cryopreservation of allogeneic nerve tissue has been researched and applied in peripheral nerve reconstruction, overcoming the limitations of autografts. This study aims to describe the characteristics of recovery, processing, cryopreservation and distribution of cryopreserved allogeneic nerve tissue at the Tissue Bank, Viet Duc University Hospital. The study uses a descriptive and prospective study method. The results showed that 32 nerve tissues were harvested from 8 brain-death donors. The average age of donors was 34 ± 13 (range from 16 to 50 years old). All donors tested negative for HIV, HBV, and HCV. 32/32 (100%) nerve tissues were ivory-white in colour, intact, without discolouration, tearing, or breakage. Among these, 16 tissues (50%) were saphenous nerve tissues with lengths ranging from 210 to 320 mm and 16 tissues (50%) were tibial nerves with lengths ranging from 100 to 380 mm. All the microbiological culture tests were negative. Three nerve allografts have been transplanted into patients with the normal nerve fibre structures after thawing.

Keywords: cryopreservation, nerve tissue, tissue bank.

Classification numbers: 3.1, 3.5

*Tác giả liên hệ: Email: hanghhtm@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Chấn thương dây thần kinh ngoại biên là những tổn thương dây thần kinh ngoại biên do bị thâm nhập, nghiền nát, kéo căng hoặc cắt đứt. Bệnh nhân bị chấn thương dây thần kinh ngoại biên, đặc biệt là chấn thương nặng, thường phải đối mặt với tái tạo thần kinh kém và phục hồi chức năng không đầy đủ. Các phương pháp điều trị tổn thương dây thần kinh ngoại biên bao gồm: khâu nối trực tiếp, ống dẫn thần kinh kết hợp liệu pháp tế bào và yếu tố tăng trưởng, ghép thay thế bằng mô thần kinh tự thân hoặc mô đồng loài. Với các tổn thương nghiêm trọng khi mà sửa chữa ban đầu không thể thực hiện được vì sự căng quá mức, ghép dây thần kinh tự thân được coi là kỹ thuật “tiêu chuẩn vàng”. Tuy nhiên, việc sử dụng ghép mô tự thân bị hạn chế đối với các trường hợp đoạn thần kinh cần ghép thay thế có độ dài lớn, kéo dài thời gian phẫu thuật, tỷ lệ mắc bệnh tại chỗ như dị cảm giác quan, u thần kinh hoặc hình thành sẹo, mất chức năng thần kinh, khác biệt về kích thước và cấu trúc mô. Việc sử dụng mô đồng loài từ người hiến chết não hoặc hiến xác đã thu hút nhiều sự quan tâm trong những năm gần đây, như một giải pháp thay thế khắc phục những hạn chế của mô tự thân. Việc tiên xử lý bằng các phương pháp bảo quản lạnh và ức chế miễn dịch đã được nghiên cứu để tối đa hóa sự tái sinh sợi trục và giảm thiểu thải ghép. Mô dây thần kinh đồng loài bảo quản lạnh sâu cung cấp các lợi thế bổ sung như: rút ngắn thời gian phẫu thuật, cho phép bảo tồn khả năng tồn tại của tế bào trong một khoảng thời gian dài tạo điều kiện lập kế hoạch phẫu thuật tốt hơn, cung cấp nguồn mô ghép thần kinh đa dạng và giảm tính sinh miễn dịch thông qua việc bảo quản lạnh [1-3].

Ca ghép dây thần kinh đồng loài đầu tiên được ghi nhận thực hiện bởi Eduard Albert vào năm 1876, tuy nhiên ca ghép đã không thành công trong việc hồi phục chức năng vận động và cảm giác của thần kinh ghép [4]. Đã có nhiều nghiên cứu được tiến hành sau đó về phương pháp ghép dây thần kinh đồng loài để tái tạo thần kinh, nhưng ứng dụng ghép trên bệnh nhân vẫn còn bị hạn chế bởi hiệu quả hồi phục thần kinh liên quan phản ứng miễn dịch và thải ghép. Một số nghiên cứu gần đây về việc tiên xử lý mô dây thần kinh trước ghép bằng phương pháp bảo quản lạnh, giúp làm giảm biểu hiện kháng nguyên HLA, từ đó giảm đáp ứng miễn dịch và nguy cơ thải ghép, tăng khả năng tái tạo sợi trục và hồi phục chức năng thần kinh, mang lại hiệu quả ghép cao hơn. Kết quả này cho thấy, việc sử dụng mô dây

thần kinh đồng loài trong tái tạo thần kinh sẽ là một chiến lược phẫu thuật phù hợp, an toàn và hiệu quả [2, 5, 6]. Tại Việt Nam, hiện chưa có nhiều báo cáo về vấn đề này. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu “Bước đầu nhận xét đặc điểm mô dây thần kinh đồng loài bảo quản lạnh sâu tại Ngân hàng Mô, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức” với mục tiêu mô tả đặc điểm thu hồi, xử lý, bảo quản, phân phối mô dây thần kinh đồng loài bảo quản lạnh sâu.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

32 mô dây thần kinh được bảo quản tại Ngân hàng Mô, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức.

Tiêu chuẩn lựa chọn: Mô dây thần kinh được thu nhận, xử lý và bảo quản tại Ngân hàng Mô, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức.

Tiêu chuẩn loại trừ: Không đầy đủ hồ sơ bảo quản.

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 3/2023 đến tháng 10/2024.

Địa điểm nghiên cứu: Ngân hàng Mô, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả, tiến cứu.

Cỡ mẫu và chọn mẫu: Mẫu thuận tiện, tất cả mẫu mô dây thần kinh được bảo quản lạnh sâu tại Ngân hàng Mô, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức.

Các quy trình kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu:

Quy trình sàng lọc người hiến mô:

+ Tuân thủ các thủ tục pháp lý theo yêu cầu của pháp luật (Luật số 75/2006/QH11 của Quốc hội: Luật hiến, lấy, ghép mô, bộ phận cơ thể người và hiến, lấy xác) [7].

+ Người hiến mô có bệnh sử rõ ràng, không thuộc nhóm người trong tiêu chuẩn loại trừ người hiến mô theo quy định của Bộ Y tế [8].

+ Không mắc các bệnh lý dây thần kinh.

Quy trình thu nhận, xử lý, bảo quản và phân phối mô:

+ Mô dây thần kinh được thu nhận từ người hiến chết não, tại phòng mổ của Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức.

+ Vận chuyển nhanh về Ngân hàng Mô bằng thùng vận chuyển chuyên dụng (2-8°C) và được xử lý ngay.

+ Thời gian thiếu máu nóng: ≤15 giờ sau chết/nhiệt độ phòng và ≤24 giờ sau chết/phòng lạnh. Thời gian thiếu máu lạnh: ≤24 giờ. Tổng thời gian thu hồi: ≤48 giờ.

+ Rửa, cắt lọc và ngâm hỗn hợp kháng sinh khử khuẩn (Roswell Park Memorial Institute Medium - RPMI 1640 + hỗn hợp kháng sinh: amikacin 50 µg/ml + vancomycin 100 µg/ml + amphotericin B 20 µg/ml) 24 giờ.

+ Thêm dung dịch bảo quản lạnh có chứa chất bảo vệ lạnh: RPMI 1640 + DMSO 10% + human albumin 2% .

+ Hạ nhiệt độ theo chương trình: tốc độ hạ nhiệt -1°C/phút cho tới khi đạt nhiệt độ của thiết bị bảo quản.

+ Bảo quản lạnh sâu ở nhiệt độ -86°C.

+ Phân phối mô theo chỉ định, sử dụng phương pháp rã đông nhanh: Đimm ngập mô trong bể rã đông duy trì nhiệt độ 37-40°C cho tới khi vừa hết tan đá hoàn toàn.

Biến số và chỉ số nghiên cứu:

- Tuổi, giới người hiến mô;
- Kết quả xét nghiệm huyết thanh học người hiến mô: HIV, HBV, HCV;

- Đặc điểm đại thể mô dây thần kinh thu nhận: màu sắc, độ nguyên vẹn;

- Phân loại và kích thước mô dây thần kinh;

- Kết quả xét nghiệm vi sinh trước và sau xử lý kháng sinh;

- Đặc điểm bệnh nhân ghép mô dây thần kinh: tuổi, giới, vị trí ghép, độ dài đoạn thay thế;

- Đặc điểm mô dây thần kinh được ghép cho bệnh nhân: Loại mô, thời gian bảo quản, kết quả vi sinh sau rã đông, cấu trúc vi thể sau rã đông được đánh giá bởi bác sỹ chuyên khoa giải phẫu bệnh sử dụng phương pháp nhuộm HE.

2.4. Phân tích số liệu

Bằng các thuật toán thống kê y học, sử dụng các chỉ số: trung bình, độ lệch chuẩn, tỷ lệ.

2.5. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện đúng quy định, mọi số liệu thu thập được chỉ nhằm mục đích phục vụ nghiên cứu khoa

học. Quy trình thực hiện được thông qua và phê duyệt bởi Hội đồng khoa học Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức.

3. Kết quả

Bảng 1. Đặc điểm người hiến mô dây thần kinh (n=8).

Tuổi	Min	16
	Max	50
	±SD	34±13
Giới	Nam (n, %)	5 (62,5)
	Nữ (n, %)	3 (37,5)

Kết quả bảng 1 cho thấy, 8 người hiến mô dây thần kinh có độ tuổi từ 16 đến 50. Trong đó, nam giới là chiếm 62,5%, nữ giới chiếm 37,5%.

Bảng 2. Kết quả xét nghiệm huyết thanh học người hiến mô dây thần kinh (n=8).

Xét nghiệm huyết thanh học	Dương tính (n, %)	Âm tính (n, %)
HIV	0 (0)	8 (100)
HBV	0 (0)	8 (100)
HCV	0 (0)	8 (100)

Kết quả bảng 2 cho thấy, 100% người hiến mô dây thần kinh có xét nghiệm huyết thanh học âm tính với HIV, HBV và HCV.

Bảng 3. Đặc điểm đại thể mô dây thần kinh được thu nhận (n=32).

Tiêu chí	Phân loại	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Màu sắc	Trắng ngà	32	100
	Biến sắc/máu tụ	0	0
Độ nguyên vẹn	Nguyên vẹn	32	100
	Không nguyên vẹn (tura, rách, đứt đoạn...)	0	0
Tổng		32	100

Kết quả bảng 3 cho thấy, 32/32 (100%) mô dây thần kinh thu nhận màu sắc trắng ngà và nguyên vẹn, không bị biến sắc hay tura, rách, đứt đoạn. Hình 1 là hình ảnh đại thể của mô dây thần kinh hiến và mô dây thần kinh chày thu nhận được.

(A)



(B)



Hình 1. Hình ảnh đại thể mô dây thần kinh được thu nhận. (A) Mô dây thần kinh hiển; (B) Mô dây thần kinh chày.

Bảng 4. Đặc điểm phân loại và kích thước các mô dây thần kinh.

Loại mô	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	Chiều dài (mm)		
			Min	Max	±SD
Thần kinh hiển	16	50	210	320	258±34
Thần kinh chày	16	50	100	380	220±58
Tổng	32	100			

Bảng 5. Kết quả xét nghiệm vi sinh mô dây thần kinh được thu nhận*.

Giai đoạn	Vi khuẩn hiếu khí		Vi khuẩn kỵ khí		Nấm	
	Dương tính	Âm tính	Dương tính	Âm tính	Dương tính	Âm tính
Giai đoạn trước kháng sinh (n, %)	0 (0)	8 (100)	0 (0)	8 (100)	0 (0)	8 (100)
Giai đoạn sau kháng sinh (n, %)	0 (0)	8 (100)	0 (0)	8 (100)	0 (0)	8 (100)

*: 32 mô dây thần kinh thu nhận từ 8 người hiến, được xét nghiệm vi sinh theo lô thu hồi, 1 người hiến là 1 lô thu hồi.

Kết quả bảng 4 cho thấy, 32 mô dây thần kinh thu hồi bao gồm: 16 mô (50%) thần kinh hiển với chiều dài từ 210 đến 320 mm và 16 mô (50%) thần kinh chày với chiều dài từ 100 đến 380 mm.

Kết quả bảng 5 cho thấy, 8/8 (100%) lô dây thần kinh có kết quả nuôi cấy vi sinh giai đoạn trước và sau ngâm kháng sinh đều âm tính.

Kết quả bảng 6 cho thấy, đã sử dụng 1 mô dây thần kinh hiển và 2 mô dây thần kinh chày ghép cho các bệnh nhân, với thời gian bảo quản từ 13 đến 15 tháng, có kết quả vi sinh sau rửa đông đều âm tính với vi khuẩn ái khí, kỵ khí và nấm.

Bảng 6. Đặc điểm mô dây thần kinh đã được sử dụng ghép trên bệnh nhân.

Stt	Loại mô	Thời gian bảo quản	Kết quả vi sinh sau rửa đông	Cấu trúc vi thể sau rửa đông
1	Thần kinh hiển	13 tháng	Âm tính	Cấu trúc sợi bình thường, chưa thoái hóa
2	Thần kinh chày	13 tháng	Âm tính	Cấu trúc sợi bình thường, chưa thoái hóa
3	Thần kinh chày	15 tháng	Âm tính	Cấu trúc sợi bình thường, chưa thoái hóa

Bảng 7. Ca lâm sàng ghép dây thần kinh đồng loài bảo quản lạnh sâu.

Đặc điểm bệnh nhân ghép				Đặc điểm mô dây thần kinh ghép			
Case	Giới	Tuổi	Vị trí thần kinh tổn thương	Thời gian đã ghép	Loại mô	Vị trí thay thế	Độ dài đoạn thay thế
Bệnh nhân 1	Nam	6 tháng	Tổn thương hoàn toàn đám rối thần kinh cánh tay trái	3 tháng	Thần kinh hiển	Chuyên ghép rễ C6 cho rễ C8, T1	3 cm
					Thần kinh chày	Chuyên ghép rễ C5 cho thần kinh trên đám rối cánh tay	3 cm
Bệnh nhân 2	Nam	50 tuổi	Mất đoạn thần kinh giữa, thần kinh trụ do tai nạn lao động lưỡi cưa cặng tay	2 tháng	Thần kinh chày	Thần kinh giữa trái	3,5 cm
					Thần kinh chày	Thần kinh trụ trái	4,2 cm
Bệnh nhân 3	Nam	14 tuổi	Mất đoạn phần chày thần kinh ngồi phải do kính đâm	1 tháng	Thần kinh chày	Phần chày thần kinh ngồi	6,5 cm (2 đoạn)

Tất cả kết quả giải phẫu bệnh đánh giá cấu trúc sợi mô dây thần kinh sau rã đông bình thường, chưa thoái hóa.

Kết quả bảng 7 cho thấy, có 3 bệnh nhân được ghép mô dây thần kinh, có độ tuổi từ 6 tháng đến 50 tuổi, với các tổn thương thần kinh và vị trí ghép tái tạo dây thần kinh khác nhau. 3/3 bệnh nhân không có hiện tượng thải ghép sau 1 đến 3 tháng theo dõi.

4. Bàn luận

4.1. Thu nhận mô dây thần kinh

Ngân hàng Mô, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức được thành lập từ năm 2018, bảo quản nhiều loại mô tự thân và đồng loài khác nhau. Với nhu cầu thực tiễn và tiềm năng của phương pháp ghép mô dây thần kinh đồng loài trong chấn thương thần kinh, bảo quản mô dây thần kinh được nghiên cứu và triển khai từ năm 2023. Tính đến hiện tại, 100% nguồn hiến mô dây thần kinh ở Ngân hàng Mô, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức là từ người hiến chết não, nam giới chiếm nhiều hơn nữ giới (bảng 1). Ngoài nguồn hiến từ người cho chết não, trên thế giới, nguồn hiến mô dây thần kinh còn từ người hiến xác hoặc người cho sống [2, 6]. Tất cả người hiến mô đều được sàng lọc bệnh lây truyền, với kết quả 100% người hiến mô dây thần kinh có kết quả xét nghiệm huyết thanh học âm tính với HIV, HBV, HCV (bảng 2). Một trong những rủi ro của ghép mô đồng loài là nhiễm chéo bệnh lây truyền. Việc đảm bảo an toàn tránh lây nhiễm là vô cùng quan trọng và bắt buộc. Xét nghiệm sàng lọc đảm bảo nguồn mô sạch và an toàn cho người được ghép. Mô dây thần kinh được thu hồi bởi các bác sĩ ngoại khoa tại phòng mổ bệnh viện. Mẫu mô đã thu nhận được đựng trong túi kín vô trùng, chứa dung dịch bảo quản và được vận chuyển nhanh trong thùng chuyên dụng 2-8°C về Ngân hàng Mô trong vòng 24 giờ để xử lý.

4.2. Xử lý và bảo quản mô dây thần kinh

Mô dây thần kinh sau khi vận chuyển về ngân hàng mô được rửa, cất lọc mô liên kết thừa. Đánh giá đại thể ban đầu, 32 mô thu nhận đều đảm bảo màu sắc bình thường (trắng ngà - trắng vàng nhạt) không bị biến sắc hay máu tụ, còn nguyên vẹn tron lán, không có hiện tượng tua rách hay đứt đoạn (bảng 3, hình 1). Trong số 32 mô dây thần kinh thu hồi

được, có 16 mô (50%) là thần kinh hiển với chiều dài từ 210 đến 320 mm và 16 mô (50%) là thần kinh chày với chiều dài từ 100 đến 380 mm (bảng 4). Các báo cáo trên thế giới khi thu hồi mô dây thần kinh từ người hiến xác cũng thường lấy dây thần kinh chi dưới và chi trên. Dây thần kinh chày (dây thần kinh hỗn hợp) và thần kinh hiển (dây thần kinh cảm giác) là những dây thần kinh ở vị trí giải phẫu dễ lấy, có thể đáp ứng đa dạng về kích thước mô cho nhu cầu ghép [2, 6].

Để kiểm soát tình trạng vô khuẩn của mẫu mô, chúng tôi đảm bảo điều kiện xử lý mô vô trùng, ngâm khử khuẩn bằng hỗn hợp kháng sinh 24 giờ và xét nghiệm cấy khuẩn vi sinh (vi khuẩn ái khí, kỵ khí và nấm) 3 thời điểm: trước ngâm kháng sinh, sau ngâm kháng sinh và sau rã đông (trước ghép). Kháng sinh đồ phải được thực hiện khi kết quả cấy khuẩn dương tính, để theo dõi và xem xét điều chỉnh kháng sinh phù hợp (nếu cần). Đối với 2 thời điểm trước và sau ngâm kháng sinh, một lô dây thần kinh từ một người hiến có các yếu tố liên quan đến thu hồi và xử lý giống nhau như: thời gian, địa điểm, quy trình, hóa chất vật tư, nhân viên thực hiện, nên xét nghiệm vi sinh được chúng tôi thực hiện theo lô thu hồi. Kết quả bảng 5 cho thấy, 8/8 (100%) lô dây thần kinh có kết quả nuôi cấy vi sinh giai đoạn trước và sau ngâm kháng sinh đều âm tính. Việc thu hồi mô từ người hiến chết não tại phòng mổ bởi các phẫu thuật viên trong điều kiện vô trùng, cùng với sự kiểm soát vô khuẩn trong toàn bộ quá trình xử lý và ngâm khử khuẩn bằng hỗn hợp kháng sinh là những yếu tố đã giúp hạn chế tối đa sự nhiễm khuẩn mô. Hiện chúng tôi chưa tìm được tài liệu báo cáo về tỷ lệ nhiễm khuẩn đối với mô dây thần kinh của các ngân hàng mô khác. Tuy nhiên, so sánh tình trạng nhiễm khuẩn của một số loại mô khác, chúng tôi nhận thấy có một tỷ lệ nhiễm khuẩn khác nhau tùy từng loại mô và ngân hàng mô, dẫn đến việc phải loại bỏ mô. Các nguyên nhân làm tăng nguy cơ nhiễm khuẩn mô là: nguồn hiến, thời gian thu hồi và xử lý, số lượng nhân viên thực hiện. Tại Ngân hàng Mô châu Âu (2013), thống kê trong vòng 20 năm, có 27,2% mô mạch máu bị loại bỏ do nhiễm khuẩn [9]. Tại Ngân hàng Mô Victoria, Úc (2005), có 15,7% mẫu da, 15,1% mẫu van tim và 5,8% mẫu cơ xương khớp có kết quả nuôi cấy dương tính, chủng vi sinh vật phân lập được là khác nhau tùy loại mô nhưng phổ biến nhất là loài *Staphylococcus* [10]. Với

thời điểm sau rã đông (trước ghép), xét nghiệm vi sinh thực hiện cho từng mẫu mô được sử dụng. Đã có 3 mẫu mô dây thần kinh được rã đông để sử dụng ghép cho bệnh nhân, xét nghiệm vi sinh cũng đều cho kết quả âm tính với vi khuẩn ái khí, kỵ khí và nấm (bảng 6). Yêu cầu về kết quả vi sinh cho mô dây thần kinh được bảo quản để phát ghép bệnh nhân là phải âm tính giai đoạn sau kháng sinh. Tuy nhiên, nếu kết quả vi sinh dương tính với một số vi khuẩn độc lực cao vào bất cứ giai đoạn nào của quá trình xử lý và bảo quản cũng đều phải loại bỏ [11]. Với kết quả cấy khuẩn hiện tại, tuy rằng cỡ mẫu còn hạn chế, bước đầu cho thấy quy trình của chúng tôi đã đảm bảo được điều kiện vô khuẩn cho mẫu mô để ghép cho bệnh nhân.

Phương pháp bảo quản mô dây thần kinh hiện tại áp dụng tại Ngân hàng Mô, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức là phương pháp bảo quản lạnh sâu hạ nhiệt độ theo chương trình và có sử dụng chất bảo vệ lạnh DMSO. Phương pháp này cũng đã được ứng dụng trong bảo quản nhiều mô khác như: van tim, mạch máu, khí quản. Xử lý bằng chất bảo vệ lạnh, tốc độ làm mát thích hợp, điều kiện bảo quản và rã đông phù hợp là yếu tố tiên quyết cần thiết để bảo quản thành công mẫu mô. Bảo quản lạnh sâu mô dây thần kinh đồng loài có thể cung cấp nguồn mô ghép đa dạng về đặc điểm mô, được sử dụng trong tái tạo dây thần kinh ngoại biên và cho phép lưu trữ lâu dài. Vai trò của xử lý mô và bảo quản lạnh trong tính sinh miễn dịch là vấn đề đang còn tranh luận. Một số nghiên cứu trên động vật đã chứng minh rằng, việc bảo quản lạnh và kiểm soát đông lạnh bảo tồn khả năng sống của tế bào Schwann, duy trì màng đáy, làm giảm phản ứng miễn dịch và nguy cơ thải ghép ở người nhận bằng cách giảm sự biểu hiện kháng nguyên HLA, từ đó hỗ trợ tái tạo sợi trục [12, 13]. Nhiều nghiên cứu cũng đã đưa ra kết luận, phương pháp bảo quản lạnh có sử dụng chất bảo vệ lạnh DMSO kết hợp phương pháp rã đông nhanh có thể kéo dài đáng kể thời gian bảo quản mô mà vẫn bảo tồn được cấu trúc, tính chất hóa lý và sinh học của mô để sử dụng cho ghép [2, 14, 15]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, mỗi mẫu mô trước khi ghép cho bệnh nhân đều được phẫu thuật viên cắt 1 đoạn gửi giải phẫu bệnh tức thì. Kết quả giải phẫu bệnh đánh giá cấu trúc sợi của các mẫu mô dây thần kinh sau rã đông bình thường, chưa có dấu hiệu thoái hóa (bảng 6).

4.3. Ứng dụng ghép mô dây thần kinh đồng loài cho bệnh nhân

Tại Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức, hiện đã có 3 bệnh nhân được ghép mô dây thần kinh đồng loài. Các bệnh nhân có độ tuổi từ 6 tháng đến 50 tuổi, với các mức độ tổn thương thần kinh và vị trí ghép tái tạo dây thần kinh khác nhau (bảng 7). 3 mẫu mô được rã đông nhanh ở 37°C và sử dụng cho bệnh nhân ghép gồm 1 thần kinh hiển và 2 thần kinh chày, với thời gian bảo quản từ 13 đến 15 tháng. Mô thần kinh hiển được ghép cho bệnh nhân 6 tháng tuổi với tổn thương hoàn toàn đám rối cánh tay trái. Mô thần kinh chày được sử dụng cho 1 bệnh nhân mất đoạn thần kinh giữa, thần kinh trụ do tai nạn lao động lưỡi cưa căng tay và 1 bệnh nhân mất đoạn phần chày thần kinh ngồi phải do kính đâm. Khoảng cách các đoạn thay thế khác nhau, từ nhỏ nhất là 3 cm và lớn nhất là 6,5 cm. Các bệnh nhân đang được theo dõi sau ghép, với bệnh nhân được ghép sớm nhất là 3 tháng. Hiện không có tình trạng thải ghép ở cả 3 bệnh nhân. Để đánh giá hiệu quả ghép, chúng tôi cần thêm thời gian theo dõi và nghiên cứu. Trên thế giới, có một số báo cáo hiệu quả ghép mô dây thần kinh đồng loài cho bệnh nhân chấn thương thần kinh. Nghiên cứu của G. Squintani và cs (2013) [2] sử dụng các đoạn mô dây thần kinh bảo quản lạnh với thời gian trung bình là 9 tháng, để ghép tái tạo thần kinh cho 10 bệnh nhân với các tổn thương thần kinh khác nhau có các khuyết thần kinh dài tối đa là 10 cm và không sử dụng ức chế miễn dịch. Tất cả bệnh nhân đều có những cải thiện về lâm sàng, sinh lý thần kinh và không có bất kỳ phản ứng thải ghép sau 1 đến 2 năm theo dõi. Nghiên cứu của A.I. Elkwood và cs (2011) [6] trên 8 bệnh nhân chấn thương đám rối cánh tay được ghép mô dây thần kinh từ người hiến xác, hoặc người cho sống cùng huyết thống, có sử dụng ức chế miễn dịch bắt đầu tại thời điểm phẫu thuật và dừng sau 1 năm, hoặc khi có dấu hiệu tái tạo rõ ràng. Kết quả, có 7 bệnh nhân có dấu hiệu tái tạo thần kinh thể hiện qua sự cải thiện chức năng cảm giác hoặc vận động, 1 bệnh nhân không tuân thủ phác đồ điều trị [6]. Bên cạnh kết quả mức độ hồi phục thần kinh khác nhau thì vấn đề sử dụng phác đồ ức chế miễn dịch vẫn đang có nhiều tranh luận và khác nhau giữa các tác giả. Nhưng với các ưu điểm mà mô dây thần kinh đồng loài mang lại, các tác giả đều tin rằng, ghép mô dây thần kinh đồng loài sẽ là một phương pháp điều trị hiệu quả để tái tạo thần kinh.

5. Kết luận

Từ tháng 3/2023 đến tháng 10/2024, Ngân hàng Mô, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức đã bảo quản 32 mô dây thần kinh từ người hiến chết não. Bước đầu nhận xét mô dây thần kinh được thu hồi, xử lý và bảo quản lạnh sâu đảm bảo vô khuẩn, xét nghiệm huyết thanh học HIV, HBV, HCV âm tính; giữ được cấu trúc đại thể và cấu trúc vi thể sau rã đông. Tuy nhiên, cỡ mẫu còn hạn chế, cần nghiên cứu thêm với cỡ mẫu lớn hơn và theo dõi dài hạn tình trạng thái ghép và hiệu quả ghép trên lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] R. Li, Z. Liu, Y. Pan, et al. (2014), "Peripheral nerve injuries treatment: A systematic review", *Cell Biochem. Biophys.*, **68(3)**, pp.449-454, DOI: 10.1007/s12013-013-9742-1.
- [2] G. Squintani, B. Bonetti, D. Paolin, et al. (2013), "Nerve regeneration across cryopreserved allografts from cadaveric donors: A novel approach for peripheral nerve reconstruction", *J. Neurosurg.*, **119(4)**, pp.907-913, DOI: 10.3171/2013.6.JNS121801.
- [3] M. Siemionow, E. Sonmez (2007), "Nerve allograft transplantation: A review", *J. Reconstr. Microsurg.*, **23(8)**, pp.511-520, DOI: 10.1055/s-2007-1022694.
- [4] G. Schmidt (1993), "Eduard Albert and the beginning of human nerve grafting", *Acta Chir. Austriaca*, **25(4)**, pp.287-288, DOI: 10.1007/BF02602129.
- [5] T.L. Carlson, R.D. Wallace, P. Konofaos (2018), "Cadaveric nerve allograft: Single center's experience in a variety of peripheral nerve injuries", *Ann. Plast. Surg.*, **80**, Suppl 6, pp.S328-S332, DOI: 10.1097/SAP.0000000000001470.
- [6] A.I. Elkwood, N.R. Holland, S.M. Arbes, et al. (2011), "Nerve allograft transplantation for functional restoration of the upper extremity: Case series", *J. Spinal Cord Med.*, **34(2)**, pp.241-247, DOI: 10.1179/107902611X12972448729521.
- [7] National Assembly of Vietnam (2006), *Law No. 75/2006/QH11 Law on Donation, Removal and Transplantation of Human Tissues and Organs and Donation and Recovery of Cadavers* (in Vietnamese).
- [8] Ministry of Health (2012), *Circular No. 28/2012/TT-BYT of Ministry of Health on Regulations on The List of Diseases in Which Patients Are Not Allowed to Have Their Tissues or Body Parts Taken for Transplantation to Other Patients* (in Vietnamese).
- [9] R. Jashari, B.V. Hoeck, R. Ngakam, et al. (2013), "Banking of cryopreserved arterial allografts in Europe: 20 years of operation in the European Homograft Bank (EHB) in Brussels", *Cell Tissue Bank*, **14(4)**, pp.589-599, DOI: 10.1007/s10561-012-9359-4.
- [10] L. Ireland, D. Spelman (2005), "Bacterial contamination of tissue allografts - Experiences of the Donor Tissue Bank of Victoria", *Cell Tissue Bank*, **6(3)**, pp.181-189, DOI: 10.1007/s10561-005-7365-5.
- [11] European Committee (Partial Agreement) on Organ Transplantation (CD-P-TO) (2019), *Guide to The Quality and Safety of Tissues and Cells for Human Application*, 4th edition, 666pp.
- [12] A. Atchabahian, S.E. Mackinnon, D.A. Hunter (1999), "Cold preservation of nerve grafts decreases expression of ICAM-1 and class II MHC antigens", *J. Reconstr. Microsurg.*, **15(4)**, pp.307-311, DOI: 10.1055/s-2007-1000107.
- [13] I.K. Fox, A. Jaramillo, D.A. Hunter, et al. (2005), "Prolonged cold-preservation of nerve allografts", *Muscle Nerve*, **31(1)**, pp.59-69, DOI: 10.1002/mus.20231.
- [14] Y.Y. Huang, X.L. Xu, X.J. Huang, et al. (2018), "Various changes in cryopreserved acellular nerve allografts at -80°C", *Neural Regen. Res.*, **13(9)**, pp.1643-1649, DOI: 10.4103/1673-5374.237138.
- [15] M. Fortea, P. Jain, I. Demedts, et al. (2021), "Live imaging of primary neurons in long-term cryopreserved human nerve tissue", *eNeuro*, **8(6)**, DOI: 10.1523/ENEURO.0388-21.2021.