

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

Trần Thị Hằng<sup>1</sup>, Nguyễn Văn Chính<sup>1\*</sup>, Dương Đức Hùng<sup>1,2,3</sup>, Nguyễn Sỹ Lành<sup>1</sup>

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

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

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

Ngày nhận bài 20/1/2025; ngày chuyển phân biện 23/1/2025; ngày nhận phân biện 30/1/2025; ngày chấp nhận đăng 6/2/2025

## Tóm tắt:

Các dữ liệu về bảo quản khí quản và kết quả đánh giá sau bảo quản vẫn còn hạn chế trong y văn hiện nay tại Việt Nam. Nghiên cứu này nhằm mô tả đặc điểm khí quản được bảo quản lạnh sâu tại Ngân hàng Mô. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả, tiến cứu trên 13 mẫu mô khí quản từ người hiến chết não được bảo quản tại Ngân hàng Mô, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức. Kết quả nghiên cứu cho thấy, 13 mẫu khí quản được thu nhận từ 13 người hiến chết não, độ tuổi trung bình  $35,2 \pm 15,2$ , gồm 9 nam (69,2%) và 4 nữ (30,8%). Xét nghiệm huyết thanh học âm tính với HIV 13/13 (100%), HCV 13/13 (100%), HBV 12/13 (92,4%). Trong giai đoạn thu nhận, mô khí quản có tỷ lệ nhiễm khuẩn là 100% (13/13 mẫu). Sau khử nhiễm, tỷ lệ cấy khuẩn âm tính là 69,2% (9/13 mẫu). Vi khuẩn phổ biến nhất là *Acinetobacter baumannii* (8/18 chủng) và *Klebsiella pneumoniae* (6/18 chủng). 13/13 (100%) mẫu khí quản giữ được cấu trúc đại thể và cấu trúc vi thể sau rã đông trong thời gian bảo quản từ 1 đến 12 tháng. Mô khí quản sau bảo quản lạnh sâu đã được ghép thành công cho một bệnh nhân bị sẹp hẹp thanh khí quản do chấn thương, cho kết quả khả quan sau 1-3 tháng.

**Từ khóa:** ghép khí quản, khí quản đồng loài, ngân hàng mô.

**Chỉ số phân loại:** 3.1, 3.5

## An initial observation on the characteristics of cryopreserved tracheal allografts tissues at the Tissue Bank of Viet Duc University Hospital

Thi Hang Tran<sup>1</sup>, Van Chinh Nguyen<sup>1\*</sup>, Duc Hung Duong<sup>1,2,3</sup>, Sy Lanh Nguyen<sup>1</sup>

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

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

<sup>3</sup>University of Medicine and Pharmacy, Vietnam National University - Hanoi, 144 Xuan Thuy Street, Dich Vong Hau Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 20 January 2025; revised 30 January 2025; accepted 6 February 2025

## Abstract:

Data on tracheal preservation and post-preservation evaluation remain limited in the current medical literature in Vietnam. This study aims to describe the characteristics of tracheal tissues stored under in deep cryopreservation conditions at the Tissue Bank. Subjects and methods: Descriptive, prospective study on 13 tracheal tissue samples from brain-dead donors preserved at the Tissue Bank of Viet Duc Hospital. Results showed that 13 tracheal samples were collected from 13 brain-dead donors, with an average age of  $35.2 \pm 15.2$ , including 9 males (69.2%) and 4 females (30.8%). Serological tests were negative for HIV 13/13 (100%), HCV 13/13 (100%), and HBV 12/13 (92.4%). During the recovery phase, the infection rate of tracheal tissue was 13/13 (100%). After decontamination, the negative culture rate was 9/13 (69.2%). The most common bacteria were *Acinetobacter baumannii* (8/18 strains) and *Klebsiella pneumoniae* (6/18 strains). 13/13 (100%) tracheal specimens retained their gross and microscopic structures after thawing for a storage period of 1-12 months. The cryopreserved tracheal tissue was successfully transplanted into a patient with post-traumatic laryngotracheal stenosis, showing positive outcomes within 1-3 months post-transplantation.

**Keywords:** tissue bank, tracheal allograft, tracheal transplant.

**Classification numbers:** 3.1, 3.5

\*Tác giả liên hệ: Email: chinhmu@gmail.com

## 1. Đặt vấn đề

Thương tổn hẹp tắc khí quản là một dạng bệnh lý ngoại khoa rất nặng và khá thường gặp, đa số là thứ phát, do nhiều nguyên nhân như các u ác tính (u tế bào biểu mô vảy, u nang tuyến), rò khí quản thực quản, chấn thương, phẫu thuật các bệnh lý lành tính thất bại, hẹp khí quản bẩm sinh (hiếm). Phương pháp điều trị ngoại khoa hiệu quả nhất vẫn là cắt nối trực tiếp tận tận. Trong trường hợp không thể cắt nối được hoặc sau phẫu thuật nối tận - tận bị thất bại, thì ghép khí quản là một giải pháp đã được các thầy thuốc trên thế giới nghĩ tới và quan tâm nghiên cứu từ hơn 50 năm nay. Khó khăn lớn nhất của giải pháp là vật liệu ghép, do cấu trúc khí quản không có hệ mạch nuôi riêng biệt như các mô cơ quan khác (mạch rất nhỏ, đến từ nhiều nguồn), nguy cơ nhiễm khuẩn cao và chức năng sinh lý giải phẫu phức tạp [1, 2].

Vật liệu thay thế khí quản trong các nghiên cứu được báo cáo chia làm 5 nhóm: Vật liệu nhân tạo tổng hợp (synthetic prosthesis); Ghép tổ chức tự thân (autologous); Ghép khí quản homograft (tracheal transplantation); Ghép bằng tổ chức đồng loài (allograft); Tái tạo mô (tissue engineering) [1, 3]. Tuy nhiên, các nghiên cứu ứng dụng và đánh giá hiệu quả của các nhóm vật liệu rất ít và rời rạc, chủ yếu do kết quả không tốt hoặc không chắc chắn. Do vậy cho tới nay vẫn chưa thể tìm ra một phương pháp thay thế khí quản ưu việt nhất. Hạn chế chính của các phương pháp có lẽ là khả năng rất khó tái tạo tổ chức khí quản sau ghép, sinh lý bệnh còn chưa được nghiên cứu và hiểu rõ. Ghép khí quản từ tế bào gốc, tuy có thể là kỹ thuật mang tính cách mạng, song vẫn đang trong giai đoạn nghiên cứu [4]. Mô ghép khí quản đồng loài (homograft) được lấy từ người hiến chết não, đưa vào ngân hàng mô bảo quản. Có nhiều phương pháp bảo quản như sử dụng hóa chất, bảo quản lạnh sâu có chiếu xạ, bảo quản lạnh sâu sử dụng chất bảo quản và hạ nhiệt độ kiểm soát, mỗi kỹ thuật ghép khí quản tương ứng với phương pháp bảo quản lại có ưu điểm và tồn tại [2].

Bảo quản lạnh sâu có sử dụng môi trường bảo quản và hạ nhiệt độ kiểm soát, đã có nhiều nghiên cứu thực nghiệm cho kết quả khá tốt, đây là kỹ thuật mà Ngân hàng Mô, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức áp dụng hiện nay. Thế giới chưa ghi nhận ca ghép nào trên lâm sàng. Theo các kết quả nghiên cứu thực nghiệm, khí quản bảo quản lạnh sâu bảo tồn tế bào sống giải quyết được một số vấn đề sau: Thứ nhất, khả năng sinh miễn dịch của mảnh ghép khí quản đồng loài đã bị giảm đi do bảo quản lạnh và việc ghép đồng loài khí quản được bảo quản lạnh đã thành công trên động vật linh trưởng, không sử dụng ức chế miễn dịch [5]. Thứ hai, khả năng sống sót của sụn khí quản sau bảo quản lạnh còn 67 đến 76%. Thứ ba, khí quản sau bảo quản còn tồn tại biểu mô, tuy nhiên biểu mô này không còn chức năng mất đi 20 ngày sau ghép tạo điều kiện để hình thành biểu mô vật chủ 50 ngày sau khi cấy ghép (hình thành khoảng 75%) [6].

Từ năm 2023, Ngân hàng Mô, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức bắt đầu thực hiện bảo quản khí quản để sử dụng cho việc ghép ứng dụng lâm sàng. Chúng tôi nhận thấy rằng, cần có tổng kết, mô tả kết quả sau một thời gian thực hiện, phục vụ cho mục đích cải tiến quy trình. Bảo quản khí quản và kết quả đánh giá sau bảo quản là những dữ liệu còn thiếu trong y văn hiện nay tại Việt Nam. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu: “Mô tả đặc điểm khí quản được bảo quản lạnh sâu tại Ngân hàng Mô, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức”.

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng

13 mẫu mô khí quản đồng loài được bảo quản tại Ngân hàng Mô, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức.

*Tiêu chuẩn lựa chọn:* Tất cả mẫu mô khí quản đồng loài được thu nhận, xử lý và bảo quản tại Ngân hàng Mô.

*Tiêu chuẩn loại trừ:* Các mẫu mô thiếu hồ sơ, không đủ thông tin nghiên cứu.

*Cách chọn mẫu:* Thuận tiện.

### 2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

*Thời gian nghiên cứu:* Từ tháng 10/2024 đến 12/2024.

*Địa điểm nghiên cứu:* Ngân hàng Mô, Khoa Vi sinh, Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức.

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

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

*Chỉ tiêu nghiên cứu:* Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu: tuổi, giới tính người hiến.

*Đặc điểm mô khí quản sau thu nhận, xử lý và bảo quản:* Kết quả sàng lọc bệnh truyền nhiễm; Kết quả đánh giá nhiễm khuẩn (trước và sau xử lý); Kết quả đánh giá mô bệnh học mẫu mô tươi và mô sau bảo quản; Đặc điểm mẫu khí quản sau bảo quản và ghép trên lâm sàng.

### 2.4. Xét nghiệm và tiêu chuẩn sử dụng trong nghiên cứu

*Lấy mẫu xét nghiệm cấy vi sinh:* Cách thức lấy mẫu: Phương pháp lấy mẫu mô đồng hành, lấy xi lanh vô trùng hút 5 ml dịch ngâm rửa mô và một vài mảnh mô (mô đồng hành). Cấy khuẩn được thực hiện ở hai thời điểm trước và sau khử nhiễm mô ghép.

*Lấy mẫu xét nghiệm đánh giá mô bệnh học:* Mẫu khí quản sau khi lấy từ người hiến chết não được cắt một đoạn để đánh giá mô tươi. Sau đó được xử lý và bảo quản theo quy trình; mỗi mô khí quản từ một người hiến sẽ được cắt thành một mẫu chính để bảo quản cho mục đích ghép và 4 đoạn mô chứng để lấy mẫu đánh giá mô bệnh học mô khí quản sau bảo quản.

**Phương tiện nghiên cứu:** Thiết bị bảo quản mô: tủ lạnh sâu -86°C, tủ ATSH cấp 2-A2. Thiết bị nuôi cấy vi sinh: Máy định danh vi khuẩn Phoenix M50/BD - Hoa Kỳ.

**Quy trình bảo quản:** Quy trình chuẩn đã ban hành nội bộ của Ngân hàng Mô, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức trên cơ sở quy trình của Hiệp hội Ngân hàng Mô châu Á - Thái Bình Dương và Hiệp hội Ngân hàng Mô Hoa Kỳ [2, 7].

**Xử lý khí quản trước bảo quản:** Rửa khí quản nhiều lần bằng dung dịch nước muối đẳng trương, ngâm trong RPMI 1640 có bổ sung kháng sinh amikacin (100 µg/ml), vancomycin (50 µg/ml), colistin (500 IU/ml) và caspofungin (100 µg/ml) ở 4°C trong 48-56 giờ.

**Bảo quản lạnh sâu khí quản:** Khí quản sau khi xử lý được đưa vào dung dịch bảo quản lạnh gồm: RPMI 1640, DMSO 15%; 4% albumin người. Đóng gói vô trùng và đưa vào hạ nhiệt độ theo chương trình. Tốc độ hạ nhiệt 1°C/phút tới -86°C, sau đó đưa vào bảo quản. Định kỳ 1 và 3 tháng, 6 và 12 tháng rã đông để đánh giá chất lượng (mẫu chứng).

**Rã đông khí quản:** Sử dụng kỹ thuật rã đông nhanh: Mô bảo quản lấy ra được chìm trong bể nước được duy trì 37°C cho tới khi tan đông hoàn toàn. Mô sau khi rã đông sẽ được loại bỏ chất bảo vệ lạnh bằng cách rửa trong dung dịch nước muối sinh lý.

**Quy trình nuôi cấy vi sinh, định danh vi khuẩn ái khí, nấm và kỵ khí:** Được thực hiện tại phòng xét nghiệm tiêu chuẩn ISO 15189 Khoa Vi sinh, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức. Các bước cơ bản như sau: nuôi cấy tăng sinh, nhuộm gram, cấy song song vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí, phân lập vi khuẩn, kiểm tra khuẩn lạc, ủ và phân lập vi khuẩn, định danh vi khuẩn.

**Đánh giá mô bệnh học:** Phương pháp nhuộm HE thực hiện tại Khoa Giải Phẫu bệnh, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức. Đọc tiêu bản bởi bác sỹ chuyên khoa giải phẫu bệnh.

**Đánh giá kết quả:**

**Đánh giá vi sinh:** Mẫu mô được xác định nhiễm khuẩn khi có kết quả cấy vi sinh dương tính với vi khuẩn ái khí, kỵ khí, hoặc vi nấm.

**Đánh giá mô bệnh học:** Biểu mô phủ hô hấp; cấu trúc mô học lớp sụn; các tuyến phụ thuộc và tổ chức dưới niêm mạc, mô liên kết.

**2.5. Phương pháp xử lý số liệu**

Xử lý số liệu bằng các thuật toán thống kê y học.

**2.6. Đo đạc nghiên cứu**

Được đảm bảo theo quy định, các quy trình sử dụng trọng nghiên cứu đều đã được thông qua hội đồng khoa học của bệnh viện; các số liệu thu thập được từ kết quả nghiên cứu chỉ nhằm mục đích phục vụ nghiên cứu khoa học.

**3. Kết quả**

**Bảng 1. Đặc điểm chung của nhóm người hiến mô.**

Đặc điểm người hiến	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Giới tính	Nam	9	69,2
	Nữ	4	30,8
	Tổng	13	100
Tuổi	Mean±SD	Min - max	
	35,2±15,2	16-65	

Kết quả bảng 1 cho thấy, 100% người hiến là người bệnh chết não, nam giới chiếm chủ yếu với 69,2%. Tuổi trung bình của người hiến là 35,2±15,2, người hiến nhỏ tuổi nhất là 16 tuổi, người hiến cao tuổi nhất là 65 tuổi.

**Bảng 2. Đặc điểm về sàng lọc bệnh truyền nhiễm (n=13).**

Xét nghiệm huyết thanh học	Âm tính (n, %)	Dương tính (n,%)
HIV	13 (100)	0 (0)
HBV	12 (92,4)	1 (7,6)*
HCV	13 (100)	0 (0)

\*HBV-DNA: Không phát hiện virus, virus không hoạt động; HIV: Virus gây suy giảm miễn dịch ở người, HBV: Virus viêm gan B; HCV: Virus viêm gan C.

Kết quả bảng 2 cho thấy, 100% người hiến khí quản có xét nghiệm huyết thanh học âm tính với HIV, HCV. 1 trường hợp (7,6%) người hiến có kết quả xét nghiệm huyết thanh học dương tính với HBV, trường hợp này khi làm xét nghiệm chuyên sâu tải lượng virus HBV-DNA cho kết quả không phát hiện thấy virus, virus không hoạt động.

**Bảng 3. Đặc điểm đại thể mô khí quản được thu nhận (n=13).**

Tiêu chí	Phân loại	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Màu sắc	Trắng hồng	13	100
	Biến sắc/máu tụ	0	0
Tính chất	Sạch	13	100
	Máu tụ	0	0
Độ nguyên vẹn	Nguyên vẹn	13	100
	Không nguyên vẹn (rách, thủng, rập...)	0	0
Tổng		13	100

Kết quả bảng 3 cho thấy, 13/13 (100%) khí quản thu nhận có màu sắc trắng hồng, sạch và nguyên vẹn không bị rách, thủng rập, đứt đoạn.

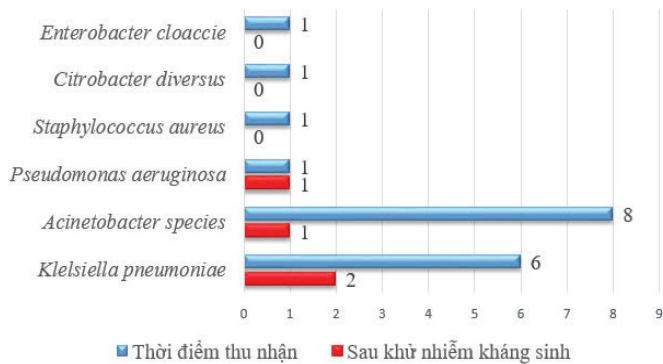
**Bảng 4. Đặc điểm kích thước khí quản thu nhận (n=13).**

Tiêu chí	TB±SD (mm)	Lớn nhất (mm)	Nhỏ nhất (mm)
Chiều dài	74±9,3	82	60
Đường kính (ngoài)	22,3±2,3	25,5	17,5

Kết quả bảng 4 cho thấy, chiều dài trung bình đoạn khí quản thu nhận được là  $74 \pm 9,3$  mm; đường kính trung bình (ngoài) là  $22,3 \pm 2,3$  mm.

**Bảng 5. Kết quả đánh giá tình trạng nhiễm khuẩn của khí quản thu nhận và sau xử lý bảo quản.**

Loại vi sinh vật	Thời điểm thu nhận		Thời điểm sau xử lý kháng sinh	
	Âm tính	Dương tính	Âm tính	Dương tính
Vi khuẩn ái khí	0 (0%)	13 (100%)	9 (69,2%)	4 (30,8%)
Vi khuẩn kỵ khí	13 (0%)	0 (0%)	13 (100%)	0 (0%)
Vi nấm	13 (0%)	0 (0%)	13 (100%)	0 (0%)



**Biểu đồ 1. Phân loại các chủng vi khuẩn phân lập được trên mô khí quản ở thời điểm thu nhận mô và thời điểm sau xử lý khử nhiễm bằng kháng sinh.**

Kết quả bảng 5 và biểu đồ 1 cho thấy, 13/13 (100%) mẫu khí quản cấy khuẩn tại thời điểm trước khử nhiễm cho kết quả dương tính. Sau khử nhiễm có 4/13 (30,8%) mẫu cấy khuẩn dương tính. 5/13 (38,5%) dương tính từ 2 loại vi khuẩn trở lên. Trong số 4/13 mẫu cấy khuẩn dương tính sau khử nhiễm, có 3/5 (60%) mẫu dương tính với phác đồ kháng sinh ban đầu; 1/8 (12,5%) với phác đồ bổ sung colistin.

Trong các vi khuẩn phân lập được, hầu hết là vi khuẩn đa kháng: *Klebsiella pneumoniae* (7/7); *Pseudomonas aeruginosa* (4/5); *Staphylococcus aureus* MRSA (8/13), *Enterobacter cloacae* (13/14). 3 chủng vi khuẩn *Klebsiella pneumoniae* và *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter species* xuất hiện ở cả hai thời điểm trước và sau khử nhiễm trên mẫu mô.

Kết quả bảng 6 cho thấy, 13/13 (100%) mẫu đều giữ được nguyên cấu trúc mô học đối với tế bào sụn, tế bào sợi thần kinh, các mạch máu và các tuyến nhầy phụ thuộc, sau thời gian bảo quản từ 1, 3, 6 và 12 tháng so với mẫu tươi. 100% (13/13) các mẫu có bong mắt cấu trúc biểu mô sau bảo quản.

**Bảng 6. Kết quả đánh giá mô học mẫu mô tươi và mẫu mô sau bảo quản (n=13).**

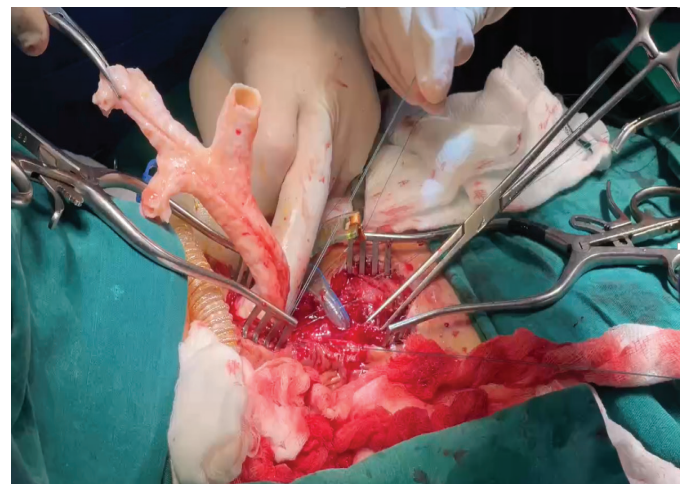
Chỉ tiêu	Kết quả	
	Mô tươi	Mô sau bảo quản*
Biểu mô phủ	Nguyên vẹn: 100% (13/13)	Bong mắt cấu trúc biểu mô 100% (13/13)
Tuyến nhầy phụ thuộc	Nguyên vẹn: 100% (13/13)	Nguyên cấu trúc, tế bào nhân cô đặc, bào tương hóc hóa nhẹ 100% (13/13)
Tế bào sụn	Nguyên cấu trúc: 100% (13/13)	Nguyên cấu trúc; nhân cô đặc, hóc hóa quanh nhân mức độ nhẹ 100% (13/13)
Tế bào sợi thần kinh	Nguyên cấu trúc: 100% (13/13)	Nguyên cấu trúc; nhân cô đặc nhẹ, bào tương hóc hóa nhẹ 100% (13/13)
Các mạch máu	Nguyên cấu trúc: 100% (13/13)	Nguyên cấu trúc; tế bào cơ trơn nhân cô đặc nhẹ 100% (13/13)

\*: Tổng số 13 mẫu được đánh giá mô học, thời gian đánh giá sau bảo quản: 1 tháng: 3 mẫu; 3 tháng: 4 mẫu; 6 tháng: 3 mẫu; 12 tháng: 3 mẫu.

**Ca lâm sàng ghép khí quản:** Bệnh nhân nam 25 tuổi, được chẩn đoán sẹp hẹp thực quản, sẹp hẹp thanh khí quản sau chấn thương, bệnh nhân được ghép khí quản ngày 7/5/2024 (hình 1) sử dụng mẫu khí quản sau bảo quản 8 tháng (từ 11/9/2023).

Sau ghép 3 tháng: Bệnh nhân đã tăng 10 kg với thể trạng khoẻ mạnh, tự thở qua mũi, tự ăn.

Đoạn khí quản sau ghép: Hồng, không xung huyết, không hoại tử, không hẹp.



**Hình 1. Ca ghép khí quản từ khí quản sau bảo quản 9 tháng tại Ngân hàng Mô, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức.**

## 4. Bàn luận

### 4.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Từ tháng 9/2023 đến tháng 9/2024, nhóm nghiên cứu đã thực hiện được bảo quản 13 ca khí quản. 13/13 (100%) trường hợp được thu nhận từ người hiến sau khi chết não.

Đây là những trường hợp hiến đa mô tạng sau chết não, và việc thu nhận khí quản được thực hiện sau khi lấy đa tạng khác như gan, tim, thận. Cũng giống như tạng tim, khí quản cũng là cơ quan duy nhất của cơ thể và chỉ có thể thực hiện lấy ghép theo hình thức hiến tạng sau khi người bệnh đã chết, chết não. Đối với một số tạng khác như gan, thận, phổi thì có thể thực hiện đối với người hiến sống, hay một số loại mô như thần kinh, da, gân... có thể lấy từ nguồn hiến tự thân. Trong nghiên cứu, 100% trường hợp được thu nhận từ người hiến chết não. Trên thế giới, khí quản cũng có thể đến từ nguồn hiến tử thi. S. Kunachak và cs (2000) [8] đã thực hiện lấy, bảo quản khí quản từ người hiến tử thi sau khi chết trong vòng 24 giờ và sử dụng ghép cho người bệnh. Trong số 13 người hiến mô, nam giới chiếm chủ yếu với 69,2%, tuổi trung bình là  $35,2 \pm 15,2$ , trong đó người hiến nhỏ tuổi nhất 16 tuổi, người hiến lớn tuổi nhất là 65 (bảng 1). Hiện nay trên thực tế, pháp luật có giới hạn tuổi của người có quyền đăng ký hiến mô tạng là từ 18 tuổi trở lên, điều này gây lãng phí nguồn tạng hiến tạng cũng như không đáp ứng được tâm nguyện của nhiều gia đình người chết não. Nhiều hội thảo về chủ đề điều phối mô tạng cũng đã kiến nghị cần điều chỉnh nội dung liên quan đến độ tuổi hiến tạng theo hướng mở rộng độ tuổi đối với người hiến tạng mô, tạng sau chết não, qua đó góp phần hạn chế tình trạng khan hiếm. Trong y văn thế giới đa phần đều không có giới hạn về tuổi của người hiến đối với hầu hết các loại mô, tạng [7]. Các nghiên cứu về bảo quản khí quản cho mục đích ghép của một số tác giả có độ tuổi người hiến khác nhau: S. Kunachak và cs (2000) [8] người hiến từ 19 đến 39 tuổi, E.J. Propst và cs (2011) [9] người hiến từ 16 đến 60 tuổi, tương tự như nghiên cứu của chúng tôi. Nhìn chung, không có giới hạn nào về độ tuổi của người hiến, tuy nhiên theo kinh nghiệm của chúng tôi, để đảm bảo chất lượng của mô ghép khí quản thì độ tuổi từ 16 đến 65 là phù hợp.

Tất cả người hiến mô đều được sàng lọc bệnh truyền nhiễm, với kết quả cho thấy 100% người hiến mô khí quản có xét nghiệm huyết thanh học âm tính với HIV và viêm gan C. Đối với viêm gan B trong 13 người hiến, có 12 (92,4%) trường hợp có kết quả sàng lọc âm tính, trong khi có 1 (7,6%) trường hợp cho kết quả HBV dương tính. Tuy nhiên trường hợp này khi chúng tôi thực hiện bằng phương pháp tải lượng virus thì xác định đây là trường hợp virus không hoạt động, không phát hiện thấy HBV-DNA trong máu. Trong tình trạng khan hiếm nguồn mô tạng, chúng tôi vẫn tiến hành bảo quản đối với trường hợp này vì hai lý do: thứ nhất, xét nghiệm HBV-DNA xác định đây là virus không hoạt động, thứ hai trong tình huống người bệnh không còn lựa chọn khác, có thể sử dụng mô này để ghép cho người bệnh đã nhiễm viêm gan B và cần ghép khí quản để cứu tính

mạng. Mặc dù vậy, chúng tôi cũng nhấn mạnh rằng 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. Điều này đều đã được nhấn mạnh trong các tiêu chuẩn về ngân hàng mô của các hiệp hội về bảo quản mô như: Hiệp hội Ngân hàng mô Hoa Kỳ (AATB) [7], Cục Quản lý Chất lượng Dược và Chăm sóc sức khỏe châu Âu (EDQM) [10].

#### 4.2. Xử lý và bảo quản khí quản

Khí quản sau thu hồi từ người hiến, vận chuyển về ngân hàng mô được rửa, cắt lọc mô liên kết thừa. Đánh giá đại thể ban đầu, 13/13 (100%) khí quản thu nhận có màu sắc trắng hồng, sạch và nguyên vẹn không bị rách, thủng rập, đứt đoạn (bảng 3). Chiều dài trung bình đoạn khí quản thu nhận được là:  $74 \pm 9,3$  mm; đường kính trung bình  $22,3 \pm 2,3$  mm (bảng 4). Trên thực tế khí quản là ống bán linh hoạt có kích thước khoảng 5 cm ở trẻ em dưới 3 tháng tuổi và đạt 10-13 cm ở người lớn [3], tuy nhiên rất khó để có thể lấy hết được toàn bộ chiều dài của khí quản trong quá trình thu hồi mô từ người hiến, mặc dù vậy chúng tôi cố gắng lấy tối đa có thể, và chiều dài tối thiểu cũng phải đạt 60 mm vì hầu hết các trường hợp ghép khí quản đều là những người bệnh có tổn thương đoạn dài  $\geq 60$  mm. Như vậy với chiều dài trung bình  $74 \pm 9,3$  mm là phù hợp với hầu hết các tổn thương, hẹp tắc khí quản của người bệnh có nhu cầu ghép.

Về quy trình khử nhiễm, hiện nay Ngân hàng Mô, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức thực hiện bảo quản khí quản bằng phương pháp lạnh sâu, hạ nhiệt độ theo chương trình, trong đó phương pháp khử nhiễm bằng cách ngâm mô với dung dịch kháng sinh. Quy trình khử nhiễm bằng kháng sinh được tham khảo từ Ngân hàng Mô Singapore. Cụ thể quy trình khử nhiễm như sau: Xử lý khử nhiễm trong dung dịch RPMI có pha kháng sinh (100 ug/ml amikacin, 50 ug/ml vancomycin and 0,02 mg/ml amphotericin B) ở điều kiện 4-8°C/48-56 giờ [2]. Ngoài ra, trong một nghiên cứu thực nghiệm trên động vật linh trưởng, tác giả T. Murakawa và cs (2002) [5] sử dụng 4 loại kháng sinh để thực hiện khử nhiễm cho các mẫu khí quản: cefmetazole natri, 240  $\mu$ g/ml; lincomycin hydrochloride, 120  $\mu$ g/ml; vancomycin hydrochlorua, 50  $\mu$ g/ml; và polymixin B sulfat, 1000 U/ml trong 24 giờ ở 4°C. Tuy nhiên, có lẽ vì đây là nghiên cứu thực nghiệm nên tác giả đã không báo cáo kết quả về các chủng vi sinh vật phân lập được trên mẫu khí quản bảo quản. Kinh nghiệm của Ngân hàng Mô Singapore thực hiện bảo quản 4 mẫu khí quản, sử dụng hai phác đồ kháng sinh khác nhau. Phác đồ có penicillin và streptomycin không hiệu quả, vì vi khuẩn và nấm vẫn tồn tại. Phác đồ có amikacin, vancomycin và

amphotericin B hiệu quả hơn. *Klebsiella* đã được phân lập và nhạy cảm với amikacin, vi khuẩn vẫn không bị loại bỏ hoàn toàn. Mặc dù, tác giả đã thành công trong việc thu được kết quả nuôi cấy vi sinh âm tính sau khử nhiễm ở một mảnh ghép khác được xử lý bằng quy trình trên, nhưng do số lượng mô bảo quản ít gây khó khăn cho việc xác định liệu phác đồ kháng sinh có thực sự hiệu quả không [2].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ nhiễm khuẩn trước khử nhiễm là 13/13 (100%) (bảng 5); vi khuẩn phổ biến là *Acinetobacter baumannii* (8/18 chủng) và *Klebsiella pneumoniae* (6/18 chủng) (biểu đồ 1). Trong các vi khuẩn phân lập được hầu hết là vi khuẩn đa kháng: *Klebsiella pneumoniae* (kháng 7/7 loại kháng sinh thử nghiệm); *Pseudomonas aeruginosa* (4/5); *Enterobacter cloacae* và *Staphylococcus aureus MRSA* (8/13), các vi khuẩn đa kháng này còn nhạy với colistin. Ở giai đoạn sau khử nhiễm trong 5 mẫu đầu tiên chúng tôi phát hiện vi khuẩn tại thời điểm sau khử nhiễm bằng kháng sinh đối với 3/5 (60%) mẫu cho thấy quy trình khử nhiễm kháng sinh (100 ug/ml amikacin, 50 ug/ml vancomycin and 0,02 mg/ml amphotericin B) chưa thực sự hiệu quả khi chỉ thành công trên 2 trong 5 mẫu khí quản và thất bại ở 3 mẫu còn lại. Như vậy, với dữ liệu ban đầu, chúng tôi đã xem xét lựa chọn lại loại kháng sinh và liều lượng để phù hợp với phổ vi khuẩn đã phân lập trên 5 mẫu đầu tiên tại Ngân hàng Mô. Từ mẫu thứ 6, chúng tôi bổ sung colistin nồng độ 500 IU/ml. Với hỗn hợp kháng sinh mới đã hiệu quả hơn, kết quả nhóm nghiên cứu đã khử nhiễm thành công 7/8 trường hợp tiếp theo, chỉ thất bại ở 1/8 trường hợp. Trong số các vi khuẩn phân lập được, có hai chủng vi khuẩn là trực khuẩn mũ xanh - *Pseudomonas aeruginosa*, và tụ cầu vàng kháng methicillin - *Staphylococcus aureus MRSA* được xếp vào nhóm vi khuẩn có khả năng gây bệnh và có độc lực cao theo danh sách khuyến nghị của Hiệp hội Ngân hàng Mô Hoa Kỳ (AATB) [7] và Cục quản lý chất lượng dược và chăm sóc sức khỏe châu Âu (EDQM) [10] cần được hủy bỏ nếu xuất hiện ở bất cứ giai đoạn nào trong quá trình xử lý và bảo quản mô.

Về quy trình bảo quản, chúng tôi sử dụng quy trình bảo quản khí quản bằng phương pháp lạnh sâu hạ nhiệt độ theo chương trình có sử dụng chất bảo quản, trong đó dung dịch bảo quản lạnh là hỗn hợp bao gồm: Dung dịch RPMI 1640, 15% DMSO, và 4% albumin người. Quy trình này đã được áp dụng thành công bởi một số tác giả trong việc bảo quản khí quản. Nghiên cứu của J.Y. Mabrut và cs (2001) [11] cho thấy, các đặc điểm mô học và cơ học của khí quản được duy trì sau khi đông lạnh bằng cách sử dụng albumin, DMSO làm chất bảo vệ lạnh, quy trình sau đó cũng được áp dụng thành công bởi tác giả W.L. Heng và cs (2013) [2] trong

việc bảo quản khí quản tại Ngân hàng Mô Singapore. Trước đó nhiều nghiên cứu thực nghiệm khác đều đã chứng minh các khía cạnh khác nhau của việc bảo quản khí quản bằng phương pháp lạnh sâu. T. Murakawa và cs (2002) [5] báo cáo về khả năng sinh miễn dịch của mảnh ghép khí quản đồng loài đã bị giảm đi do bảo quản lạnh và việc ghép đồng loài khí quản bảo quản lạnh đã thành công mà không sử dụng ức chế miễn dịch. K. Kushibe và cs (2001) [12] đánh giá về việc duy trì khả năng sống của sụn khí quản bằng bảo quản lạnh lâu dài, kết luận rằng khả năng sống của sụn khí quản sau bảo quản lạnh còn 67 đến 76%. Tác giả T. Mukaida và cs (1998) [13] khi đánh giá về nguồn gốc của biểu mô tái sinh trong ghép khí quản đông lạnh, cho thấy biểu mô ở mảnh ghép mất đi 20 ngày sau ghép, biểu mô vật chủ sẽ bao phủ 50 ngày sau khi cấy ghép. Như vậy, bằng các nghiên cứu thực nghiệm, các tác giả khác nhau đã xác nhận tính khả thi của quy trình bảo quản khí quản bằng phương pháp bảo quản lạnh, mang lại những hiệu quả như: giảm tính sinh miễn dịch, duy trì đặc điểm mô học và cơ học, duy trì khả năng sống của sụn cũng như tạo điều kiện cho việc biểu mô hóa sau khi ghép [5, 11-13]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, đánh giá mô học được thực hiện cho 13 mẫu khí quản tươi trước khi bảo quản và 13 mẫu được đánh giá mô học sau bảo quản lạnh, trong đó 3 mẫu sau 1 tháng; 4 mẫu sau 3 tháng; 3 mẫu sau 6 tháng và 3 mẫu sau 12 tháng để so sánh cấu trúc mô học với mẫu tươi. Kết quả cho thấy, 13/13 (100%) mẫu đều giữ được nguyên cấu trúc mô học đối với tế bào sụn, tế bào sợi thần kinh, các mạch máu và các tuyến phụ thuộc, sau thời gian bảo quản từ 1 đến 12 tháng (bảng 6). Riêng đối với cấu trúc lớp biểu mô, cả 13/13 mẫu đều bị bong từ mức độ nhẹ đến toàn bộ, điều này có lợi cho việc ghép khí quản sau này vì làm giảm tính sinh miễn dịch của mô ghép như đã được báo cáo ở một số tác giả [2, 5].

#### 4.3. Ghép khí quản

Ghép, tái tạo khí quản, vật liệu thay thế khí quản trong các nghiên cứu được báo cáo chia làm 5 nhóm: Vật liệu nhân tạo tổng hợp (synthetic prosthesis); Ghép tổ chức tự thân (autologous); Ghép khí quản homograft (tracheal transplantation); Ghép bằng tổ chức đồng loài (allograft); Tái tạo mô (tissue engineering) [1, 3]. Tuy nhiên, các nghiên cứu ứng dụng và đánh giá hiệu quả của các nhóm vật liệu rất ít và rời rạc, chủ yếu do kết quả không tốt hoặc không chắc chắn. Do vậy cho tới nay vẫn chưa thể tìm ra một phương pháp thay thế khí quản ưu việt nhất. Trong nghiên cứu tổng hợp có hệ thống của A.M. Greaney và cs (2021) [14], tất cả các báo cáo đã công bố về ghép khí quản để sửa chữa các khiếm khuyết chu vi đoạn dài ở người, từ báo cáo đầu tiên vào năm 1898 đến báo cáo gần đây nhất vào năm 2018, tổng

cộng có 290 trường hợp lâm sàng. Nhóm vật liệu tổng hợp được sử dụng đầu tiên vào trước năm 1960, gồm khí quản nhân tạo dạng cứng (*Solid prosthesis*) và khí quản nhân tạo dạng xốp (*Porous prosthesis*) tuy nhiên các nghiên cứu áp dụng đều cho kết quả hạn chế, tỷ lệ biến chứng, tỷ lệ tử vong cao sau ghép, hiện nay không còn là lựa chọn khả thi [1, 3]. Khí quản mô ghép đồng loài được lấy từ người hiến chết não, đưa vào ngân hàng mô bảo quản. Có nhiều phương pháp bảo quản như sử dụng hóa chất, bảo quản lạnh sâu có chiếu xạ, bảo quản lạnh sâu sử dụng chất bảo quản và hạ nhiệt độ kiểm soát. Ghép bằng khí quản bảo quản bằng phương pháp xử lý hóa chất: tỷ lệ sống sau ghép 89-90%, tỷ lệ biến chứng và tỷ lệ phải can thiệp lại cao 61,5%. Thế giới ghi nhận khoảng 40 trường hợp [2, 9]. Khí quản bảo quản lạnh sâu có chiếu xạ 25 kGy được báo cáo bởi S. Kunachak và cs (2000) [8], có 4 bệnh nhân, thời gian theo dõi: 18-20 tháng, tỷ lệ thành công 3/4 (75%), 1 bệnh nhân nhiễm trùng, tái hẹp. Ghép khí quản tái tạo mạch, khí quản người hiến được vùi dưới một bộ phận khác của cơ thể để tăng tân tạo mạch, sau đó được ghép lại cho người bệnh. Kết quả khá tốt với khoảng 72 trường hợp được báo cáo, thời gian theo dõi >10 năm [14]. Khí quản bảo quản lạnh sâu sử dụng môi trường bảo quản và hạ nhiệt độ kiểm soát, đã có nhiều nghiên cứu thực nghiệm cho kết quả khá tốt, đây là kỹ thuật mà Ngân hàng Mô, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức áp dụng hiện nay. Thế giới chưa ghi nhận ca ghép nào trên lâm sàng. Trong số 13 mẫu khí quản bảo quản, sau khi đánh giá mô ghép đủ tiêu chuẩn bao gồm vô trùng và cấu trúc mô học, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức đã thực hiện ghép lần đầu tiên cho bệnh nhân nam 25 tuổi, được chẩn đoán sẹp hẹp thực quản, sẹp hẹp thanh khí quản sau chấn thương (hình 1). Sau ghép một tháng, bệnh nhân đã tự thở được bình thường, nói được (âm lượng nhỏ), ăn uống bình thường, vết mổ tại khí quản khô, liền sẹo tốt. Sau ghép 3 tháng, bệnh nhân đã tăng 10 kg với thể trạng khoẻ mạnh, tự thở qua mũi, tự ăn. Đoạn khí quản ghép: hồng, không xung huyết, không hoại tử, không hẹp.

## 5. Kết luận

Nghiên cứu đã thực hiện bảo quản 13 đoạn khí quản từ người hiến chết não. Mô khí quản được thu hồi, xử lý và bảo quản lạnh sâu có 9/13 (69,2%) mẫu mô đảm bảo vô khuẩn, xét nghiệm huyết thanh học âm tính; 13/13 (100%) giữ được cấu trúc đại thể và cấu trúc vi thể sau rã đông trong thời gian bảo quản từ 1 đến 12 tháng. Mô khí quản sau bảo quản được ghép thành công cho một người bệnh sẹp hẹp thanh khí quản sau chấn thương, kết quả sau ghép 1-3 tháng tốt. Số lượng ca bệnh còn hạn chế, thời gian theo dõi ngắn cần có những nghiên cứu tiếp theo để phân tích kết quả ghép trong dài hạn.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] H. Etienne, D. Fabre, A.G. Caro, et al. (2018), "Tracheal replacement", *Eur. Respir. J.*, **51(2)**, DOI: 10.1183/13993003.02211-2017.
- [2] W.L. Heng, H.O. Boon, P.L. Yeong, et al. (2013), "Human tracheal allograft banking: A Singapore experience and review on recent progress", *Journal of Transplantation Technologies & Research*, **3(2)**, DOI: 10.4172/2161-0991.1000123.
- [3] D. Adamo, G. Galaverni, V.G. Genna, et al. (2022), "The growing medical need for tracheal replacement: Reconstructive strategies should overcome their limits", *Front. Bioeng. Biotechnol.*, **10**, DOI: 10.3389/fbioe.2022.846632.
- [4] J. Virk, H. Zhang, R. Nouraei, et al. (2017), "Prosthetic reconstruction of the trachea: A historical perspective", *World J. Clin. Cases*, **5(4)**, pp.128-133, DOI: 10.12998/wjcc.v5.i4.128.
- [5] T. Murakawa, J. Nakajima, N. Motomura, et al. (2002), "Successful allotransplantation of cryopreserved tracheal grafts with preservation of the pars membranacea in nonhuman primates", *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **123(1)**, pp.153-160, DOI: 10.1067/mtc.2002.119056.
- [6] E.M. Genden, B.A. Miles, T.J. Harkin, et al. (2021), "Single-stage long-segment tracheal transplantation", *Am. J. Transplant*, **21(10)**, pp.3421-3427, DOI: 10.1111/ajt.16752.
- [7] American Association of Tissue Banks (2017), *AATB Standards For Tissue Banking*, 14<sup>th</sup> Edition, 178pp.
- [8] S. Kunachak, B. Kulapaditharom, M. Rochanawutanon, et al. (2000) "Cryopreserved, irradiated tracheal homograft transplantation for laryngotracheal reconstruction in human beings", *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, **122(6)**, pp.911-916, DOI: 10.1067/mhn.2000.102404.
- [9] E.J. Propst, J.D. Prager, J.M. Derr, et al. (2011), "Pediatric tracheal reconstruction using cadaveric homograft", *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, **137(6)**, pp.583-590, DOI: 10.1001/archoto.2011.85.
- [10] S. Keitel (2019), *Guide to The Quality and Safety of Tissues and Cells for Human Application*, 4<sup>th</sup> Edition, European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care of the Council of Europe.
- [11] J.Y. Mabrut, M. Adham, J. Bourgeot, et al. (2001), "Mechanical and histological characteristics of human trachea before and after cryopreservation: An opportunity for tracheal tissue banking", *Transplant Proc.*, **33(1-2)**, pp.609-611, DOI: 10.1016/s0041-1345(00)02166-7.
- [12] K. Kushibe, K. Nezu, K. Nishizaki, et al. (2001), "Tracheal allotransplantation maintaining cartilage viability with long-term cryopreserved allografts", *Ann. Thorac. Surg.*, **71(5)**, pp.1666-1669, DOI: 10.1016/s0003-4975(01)02530-9.
- [13] T. Mukaida, N. Shimizu, M. Aoe, et al. (1998), "Origin of regenerated epithelium in cryopreserved tracheal allotransplantation", *The Annals of Thoracic Surgery*, **66(1)**, DOI: 10.1016/s0003-4975(98)00154-4.
- [14] A.M. Greaney, L.E. Niklason (2021), "The history of engineered tracheal replacements: Interpreting the past and guiding the future", *Tissue Eng. Part B Rev.*, **27(4)**, pp.341-352, DOI: 10.1089/ten.TEB.2020.0238.