NHẬN XÉT QUÁ TRÌNH RỬA VÀ BẢO QUẢN TIM LỢN TRONG GHÉP TIM THỰC NGHIỆM TẠI HỌC VIỆN QUÂN Y

Trịnh Hoàng Quân*; Trịnh Cao Minh*; Nguyễn Quang Trung*
Phạm Quốc Đại*; Trần Ngọc Anh*; Đỗ Xuân Hai*; Ngô Thị Đông*

TÓM TẮT

Qua 35 ca ghép tim thực nghiệm, quá trình rửa và bảo quản tim có vai trò rất quan trọng. Tim ghép phải chịu tổn thương thiếu máu và tưới máu lại nên cần được làm liệt hoàn toàn và bảo quản trong dung dịch lạnh 4 - 6^0C để làm giảm chuyển hoá và ngăn chặn sự hình thành các gốc tự do.

Thành phần dịch bảo quản gồm 2 loại chính: giống nội bào và giống ngoại bào, có khác nhau về tỷ lệ ion Na^+ và K^+, nhưng đều có chung các thành phần cung cấp năng lượng cho tế bào và trung hoà các gốc tự do sinh ra trong quá trình thiếu máu và tưới máu lại. Dịch giống ngoại bào custodiol được sử dụng phổ biến hơn. Chưa có tổn thương tế bào cơ tim sau 6 giờ bảo quản.

* Từ khóa: Ghép tim thực nghiệm; Rửa tim; Bảo quản tim.

REMARK ON PERFUSION AND PRESERVATION OF SWINE HEARTS IN EXPERIMENTAL HEART TRANSPLANTATION AT MILITARY MEDICAL UNIVERSITY

SUMMARY

Observating 35 swine heart experimental transplantation cases showed that perfusion and preservation of heart were an important progress. The hearts had to stand myocardial ischemia - reperfusion injury. Because of that, the hearts must be perfused with cardioplegia and cold preservate 4 - 6^0C to reduce cells metabolism and prevent oxydants creating.

There were two preservation solutions: extracellular and intracellular solutions distinguished by the rate of Na^+ and K^+ ion. But there were some factors to supply cell energy and neutralize oxydants. Extracellular solutions custodiol, for example, to be use usually. We didn't observe myocardial ischemia - reperfusion injury after 6 hours of prevservation.

** Key words: Heart transplantation; Heart perfusion; Heart preservation.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ năm 2008, Học viện Quân y tiến hành đề tài cấp Nhà nước "Nghiên cứu một số vấn đề ghép tim thực nghiệm trên động vật, tiến tới ghép tim trên người tại Việt Nam". Trong đề tài này, quy trình rửa và bảo quản tim được đặt ra như một yêu cầu cần thiết phục vụ cho phẫu thuật ghép tim, đóng vai trò quan trọng trong thành công của ca mổ.

** Học viện Quân y*

Phản biện khoa học: PGS. TS. Ngô Văn Hoàng Linh
PGS. TS. Mai Văn Viện

Tim ghép chịu tác động của nhiều yếu tố gây hại khác nhau. Trước hết, khi còn ở cơ thể cho, nó bị ảnh hưởng của quá trình chết não. Trong khi lấy tim, hệ mạch vành không cung cấp máu nuôi dưỡng tim, phải chịu tổn thương thiếu máu. Khi được ghép lại vào cơ thể nhận, tim chịu ảnh hưởng của tổn thương tưới máu lại. Các yếu tố này sẽ làm tổn thương tế bào cơ tim ở những mức độ khác nhau và gây ảnh hưởng đến hoạt động của tim ghép.

Qua bài báo này, chúng tôi có một số nhận xét về kết quả rửa và bảo quản tim ghép được tiến hành tại Học viện Quân y trong quá trình thực hiện đề tài trên.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu.

35 cặp lợn được mổ để ghép tim, tiến hành tại Bộ môn Phẫu thuật Thực hành, Học viện Quân y từ tháng 05 - 2008 đến 08 - 2009.

2. Phương pháp nghiên cứu.

** Quy trình làm liệt tim:*

Sau khi bóc tách xong các mạch cuống tim, đặt kim 14G vào quai động mạch (ĐM) chủ. Tiêm 30.000 UI heparin vào tĩnh mạch (TM), cắt TM chủ dưới để làm giảm áp buồng tim, sau 3 - 4 nhịp đập, tiến hành kẹp ĐM chủ sát trên chỗ đặt kim, đồng thời bơm ringer lactat 4^0C có cardioplegia với áp lực 140 mmHg. Khi tim nhạt màu, mềm và ngừng đập hoàn toàn, lấy tim ra, đưa vào bảo quản.

** Quy trình bảo quản tim:*

Đặt tim trong 3 lần túi polyethylen vô khuẩn: 2 túi ngoài đựng 500 ml đá ringer lactat, túi thứ 3 đựng tim ngâm trong 500 ml dung dịch bảo quản. Như vậy, tim chỉ tiếp xúc với dịch bảo quản ở nhiệt độ 4^0C nhờ đá đang tan ở túi ngoài mà không tiếp xúc trực tiếp với đá. Tất cả được đặt trong hộp bảo ôn.

Lấy mẫu cố định và cắt làm hình ảnh siêu cấu trúc tại Bộ môn Mô phôi, Học viện Quân y sau 2, 4 và 6 giờ.

Cố định vật phẩm 2 giờ trong glutaraldehyte 4%, cố định trong osmic 1%, làm mất nước, sau đó tẩm hỗn hợp propylenoxide - epon 812. Cắt thành các lát siêu mỏng 50 nm, nhuộm uranyl acetat 5% và citrat chì. Quan sát và chụp ảnh trên kính hiển vi điện tử JEM - 1011 ở điện thế 80 - 100 kV.

Theo dõi các chỉ tiêu:

- Thời gian thiếu máu (tính từ khi truyền dung dịch liệt tim tới khi đưa vào bảo quản).

- Hình ảnh tổn thương tế bào cơ tim sau bảo quản 2, 4 và 6 giờ trên 2 loại dịch bảo quản.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Thời gian thiếu máu.

Thời gian từ khi làm liệt tim và đưa vào bảo quản: 10 - 15 phút: 15 ca (42,9%); 16 - 20 phút: 9 ca (25,7%); 21 - 25 phút: 8 ca (22,8%); 26 - 30 phút: 3 ca (8,6%).

Thời gian mổ cắt xong các mạch máu lớn của tim lợn cho trong nhóm nghiên cứu trung bình 19,3 ± 5,7 phút, nhanh nhất 10 phút, lâu nhất 30 phút, đa số trường hợp (15/35 = 42,9%) chỉ mất 10 - 15 phút.

2. Hình ảnh tổn thương trên giải phẫu bệnh và siêu cấu trúc.

Với thời gian thiếu máu khi lấy tim trung bình 19,3 phút và trong điều kiện hạ nhiệt độ, trên hình ảnh siêu cấu trúc thấy mô cơ tim không có tổn thương. Thời gian thiếu máu trong giai đoạn làm liệt tim lạnh và lấy tim không ảnh hưởng tới mô cơ tim.

Những mẫu tim được bảo quản trong dung dịch custodiol trong 6 giờ cho thấy

toàn bộ thành tim đều không có biến đổi rõ rệt cả ở màng trong tim, màng ngoài tim và mô cơ tim, vì custodiol và một số loại dịch bảo quản khác đã được công nhận trên cơ sở bảo quản tim nói riêng và bảo quản tạng nói chung trên thế giới.

BÀN LUẬN

1. Phương pháp bảo quản tim.

** Các phương pháp bảo quản tim:*

- Bảo quản tim lạnh: hiện nay trên thế giới chủ yếu sử dụng phương pháp bảo quản tim lạnh ở 4 - 6^0C để giảm chuyển hóa của cơ tim. Bên cạnh đó, trong dung dịch bảo quản có các thành phần như adenosin, histidin, tryptophan, ketoglutarat vừa cung cấp năng lượng cho cơ tim, vừa ngăn chặn các sản phẩm chuyển hóa không hoàn toàn và gốc tự do hình thành trong quá trình thiếu máu, đồng thời trung hòa chúng như vai trò của hệ đệm trong cơ thể. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp bảo quản tim lạnh phù hợp với thực tế và điều kiện ở Việt Nam.

- Bảo quản tim ấm bằng truyền liên tục: hệ thống truyền liên tục máu có cung cấp oxy được áp dụng dưới dạng nối tắt tim phổi (CPB) (cardiopulmonay bypass), tương tự như tuần hoàn ngoài cơ thể hiện nay, bao gồm hệ thống bơm hút có sử dụng heparin, đảm bảo cho tim vẫn được cung cấp máu và oxy khi đã cắt rời khỏi cơ thể chủ và vẫn đập trong thời gian bảo quản. Bên cạnh đó, dung dịch làm liệt tim cũng được nối sẵn, có thể làm liệt tim ngay trước khi tiến hành ghép vào cơ thể nhận. Như vậy, thời gian thiếu máu sẽ giảm đi nhiều.

** Quá trình bảo vệ cơ tim:*

2. Các dung dịch bảo quản tim.

- Ngăn chặn trao đổi Na^+/H^+: quá trình trao đổi ion Na^+ và ion H^+ diễn ra nhờ "bơm Na^+" và "bơm Ca^{++}" trong giai đoạn tái khử cực của cơ tim. Việc ngăn cản trao đổi ion Na^+ và ion H^+ không cho ion Ca^{++} tải trở lại nội bào, từ đó, điện thế màng tế bào không được hoạt hoá và cơ tim ngừng hoạt động, dẫn đến giảm tiêu thụ năng lượng ở mức tối đa. Điều này thực hiện ở quá trình làm liệt tim. Tuy nhiên, nó lại gây toan hóa nội bào và tăng hấp thu nước, làm tế bào bị trương phù, màng tế bào bị phá vỡ và hoại tử tế bào.

- Adenosin: adenosin trong tế bào bình thường đóng vai trò trong "bơm Na^+" dưới dạng ATP hoạt hóa. Có ít nhất 4 týp adenosin, gồm A_1, A_{2a}, A_{2b} và A_3. Trong đó, các thụ cảm thể A_1 và A_{2a} có mặt nhiều nhất ở cơ tim. Khi các thụ cảm thể A_1 được hoạt hóa sẽ giảm hoạt động tế bào và giảm nhu cầu tiêu thụ năng lượng. Bên cạnh đó adenosin hoạt hóa thụ cảm thể A_1 còn chống lại các độc tố sinh ra trong giai đoạn thiếu máu và tưới máu lại.

- Nitơ oxid (NO): khi lấy và ghép, tim sẽ chịu ảnh hưởng của tổn thương thiếu máu - tưới máu lại và sự hình thành các gốc tự do có hoạt tính sinh học mạnh gây hại cho tế bào. Các hợp chất có chứa gốc NO, arginin, tryptophan, histidin, glutathion… trung hòa và ngăn cản hình thành gốc tự do tương tự như hệ đệm của tế bào.

- Nhiệt độ: ở nhiệt độ 4 - 6^0C, quá trình chuyển hoá của tế bào cơ tim giảm đi chỉ còn 10% so với nhiệt độ thường, nhu cầu sử dụng oxy và năng lượng giảm, chuyển hóa dạng yếm khí của cơ tim chỉ còn ở mức tối thiểu. Từ đó, hạn chế sự xuất hiện của các sản phẩm chuyển hóa không hoàn toàn và gốc tự do.

** Dung dịch dạng nội bào:*

Có nhiều loại dung dịch bảo quản tim dạng giống nội bào có chung đặc điểm là nồng độ ion kali cao và ion natri thấp. Glucose, adenosin, một số axít amin cũng được đưa thêm vào nhằm cung cấp năng lượng và bảo vệ tế bào cơ tim khỏi ảnh hưởng của gốc tự do.

University of Wisconsin (UW)

Pentafraction	50 g
Lactobinate	100 mmol/l
Phosphate	25 mmol/l
Magnesium sulfate	5 mmol/l
Adenosin	5 mmol/l
Allopurinol	1 mmol/l
Insulin	40 UI
Dexamethasone	16mg
Potasium	120 mmol/l
Sodium	30 mml/l
Cl^-	50 mEqval

** Dung dịch dạng ngoại bào:*

Điển hình của dạng này là dung dịch HTK và một số dịch khác như Stanford, Saint Thomas, Hopkins… Đặc điểm chung là nồng độ ion Na^+ cao đạt khoảng 100 mmol/l, nồng độ ion K^+ thấp dưới 30 mmol/l. Các hợp chất khác được bổ sung tương tự như dung dịch dạng giống nội bào. Chúng tôi sử dụng loại dịch này cho bảo quản tim thực nghiệm.

Custodiol (HTK) 1.000 ml

	gr	Mmol/l
Natri chloride	8,766	150
Kali chloride	0,6710	9,0
K.H_2O-ketoglutarate	0,1842	1,0
Mg chloride .6H_2O	0,8132	4,0
Histidin .HCL .H_2O	3,7733	18,0
Histidin	27,9289	180,0
Tryptophan	0,4085	2,0
Mannitol	5,4651	30,0
Ca Chloride - 2H_2O	0,0022	0,015

KẾT LUẬN

1. Phương pháp rửa và bảo quản tim trên thực nghiệm.

** Phương pháp rửa tim:*

Cần phải rửa tim để làm sạch máu trong buồng tim và hệ mạch vành. Thông qua rửa tim, làm liệt tim để làm giảm chuyển hoá và chuyển hoá yếm khí của cơ tim, ngăn ngừa sự hình thành các sản phẩm chuyển hóa không hoàn toàn và gốc tự do có hại cho tế bào cơ tim.

Bên cạnh đó, việc giảm nhiệt độ cũng được thống nhất để giảm chuyển hóa tế bào, giảm mức tiêu thụ năng lượng trong điều

kiện thiếu máu. Nhiệt độ sử dụng nhiều nhất là 4 - 6^0C (nhiệt độ nước đá đang tan).

Dung dịch làm liệt tim là loại dung dịch có nồng độ ion K^+ cao, truyền vào gốc ĐM chủ sau khi đã truyền heparin và kẹp ở phía trên vị trí đặt kim. Áp lực truyền khoảng 100 mmHg, đủ cho dung dịch có thể vào hệ mạch vành. Đồng thời, cắt TM chủ dưới để xả máu trong buồng tim, giúp cho tim rỗng để dịch liệt tim có thể vào buồng tim.

** Phương pháp bảo quản tim:*

Thời gian bảo quản hiện nay mới đạt tới 6 giờ. Có nhiều phương pháp bảo quản tim, nhưng phương pháp có thể dùng trong điều kiện thực nghiệm ở Việt Nam là bảo quản tim lạnh.

- Hạ nhiệt độ tim.

- Ngăn hoạt động của bơm Na^+/H^+, chống tái khử cực.

- Ngăn chặn sự hình thành đồng thời trung hòa các sản phẩm chuyển hóa không hoàn toàn và gốc tự do.

- Cung cấp năng lượng cho tế bào.

2. Các loại dịch bảo quản tim.

Có 2 dạng dung dịch bảo quản tim cơ bản: dung dịch bảo quản dạng giống nội bào và dung dịch dạng giống ngoại bào. Về giá trị bảo quản, hai loại trên không khác nhau đáng kể, nhưng xu hướng chung hay dùng dung dịch dạng giống nội bào. Cụ thể, loại dịch hay được dùng là dung dịch University of Wisconsin (UW), custodiol (HTK).

Qua theo dõi thực nghiệm, có thể thấy loại dịch giống nội bào, cụ thể là custodiol có hiệu quả bảo vệ cơ tim trong 6 giờ mà không có tổn thương tế bào cơ tim. Tuy nhiên, theo nhiều tài liệu, cả 2 loại dịch giống nội bào và ngoại bào đều có thể sử dụng để bảo quản tim.

Trong quá trình bảo quản, cần để tim ngập hoàn toàn trong dịch, tránh không khí lọt vào hệ mạch vành. Có thể truyền rửa bổ sung bằng dịch bảo quản lạnh mà không cần pha thêm dung dịch làm liệt tim.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Học viện Quân y. Nghiên cứu một số vấn đề ghép tim thực nghiệm. Đề tài nghiên cứu khoa học cấp Bộ Quốc phòng. Nghiệm thu 5 - 2009.

2. Abhinav Humar, Arthur J. Matas and William D. Payne. Atlas of organ transplantation. Copyright Springer - Verlag London Limited. 2006.

3. Alvarez L, Saucedo R, Aranega A, Melguizo C, Velez C, Aranega A.E. The swine heart: the papillo - tendinovalvular system of the right ventricle. Anatomia Histologia Embryologia. 1993, 22, pp.319-323.

4. Bethea B.T, David D, Yuh, John V, Conte, Baumgartner W. A. Heart tranplantation Cardiac Surgery in the Adult. Mc Graw Hill. New York. 2003.