

ẢNH HƯỞNG CỦA LIỆU PHÁP TRỊ LIỆU OZONE LÊN MỘT SỐ CHỈ SỐ HUYẾT HỌC TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Vũ Quốc Bình*; Hồ Anh Sơn**; Nguyễn Linh Toàn**

TÓM TẮT

Tác dụng kháng khuẩn mạnh của ozone được biết đến từ lâu, cũng như trị liệu bằng sục ozone máu tự thân (OAHT) được sử dụng rộng rãi trong điều trị bệnh. Tuy nhiên, sử dụng ozone trong y học ở Việt Nam vẫn là một điều khá mới và còn nhiều tranh luận. Để đánh giá tác dụng sinh học và tác dụng không mong muốn của OAHT, chúng tôi xây dựng quy trình OAHT trên động vật thực nghiệm. Cho tiếp xúc 10 ml máu tĩnh mạch thỏ với hỗn hợp khí oxy-ozone trong 5 phút và lắc nhẹ, truyền tĩnh mạch trả lại toàn bộ máu tiếp xúc ozone cho động vật. Sau 6 chu trình trị liệu trong 2 tuần liên tục, kết quả cho thấy: không có thay đổi đáng kể nào liên quan đến số lượng hồng cầu, huyết sắc tố, hematocrit và nhiệt độ cơ thể trong và sau liệu trình OAHT.

* Từ khóa: Trị liệu ozone, Sục ozone vào máu tự thân.

INFLUENCE OF OZONE AUTOHEMOTHERAPY ON HAEMATOLOGICAL INDEX ON EXPERIMENTAL ANIMALS

SUMMARY

The powerful disinfecting action of ozone has long been recognized and also, ozone autohemotherapy (OAHT) have been used worldwide in treatment of various diseases. However, in Vietnam, medical ozone therapy is still freshly new and controversies. To evaluate the biological and side-effects of OAHT, we established an OAHT procedure in experimental animals, by which 10 ml rabbit vein blood were exposed to oxygen-ozone for five minutes with gentle mixedness and then, this whole blood was retransfused into intravenous rabbit donors. The data did not show any significant change in number of erythrocytes, hemoglobin, hematocrite and body temperature with 6 sessions within 2 consecutive weeks.

* Key words: Ozone therapy, Ozone autohemotherapy.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Tác dụng khử khuẩn mạnh của ozone đã được ứng dụng rất sớm trong điều trị

nhiễm khuẩn gây hoại thư sinh hơi từ Chiến tranh Thế giới Thứ nhất [1]. Từ đó đến nay, ozone được sử dụng khá phổ biến trong y

* Cục Quân y

** Học viện Quân y

Phản biện khoa học: PGS. TS. Lê Văn Sơn

học tại nhiều nước với nhiều phương pháp trị liệu khác nhau, trong đó có phương pháp trị liệu bằng sục ozone máu tự thân (OAHT). Hiện tại, nhiều cơ sở điều trị trên thế giới đã và đang áp dụng OAHT để điều trị nhiều loại bệnh lý như: nhiễm khuẩn, suy giảm miễn dịch, đái tháo đường, thiếu máu cục bộ, nhiễm virus, nhiễm trùng mạn tính do vi khuẩn và nấm, các bệnh thông thường như thoái hóa võng mạc mắt trong đái tháo đường, viêm xương khớp, nha khoa... [2, 8]. Nhiều nghiên cứu trên thế giới cũng cho thấy OAHT có chi phí rẻ, an toàn, có thể nâng cao khả năng miễn dịch của cơ thể.

Tại Việt Nam, mặc dù đã bước đầu tiếp cận sử dụng ozone phục vụ đời sống xã hội, nhưng chủ yếu mới chỉ dừng ở phạm vi khử độc, khử khuẩn trong thực phẩm, nước uống [1]. Chưa có cơ sở y tế nào nghiên cứu ứng dụng ozone trong lĩnh vực điều trị y học. Do vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu: *Đánh giá tác động của OAHT trên một số chỉ tiêu huyết học và mức độ an toàn của trị liệu ozone trên động vật thực nghiệm.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu.

Thỏ khỏe mạnh, lông mượt, nhanh nhẹn, trọng lượng trung bình 2 kg/con. Thỏ thực nghiệm được nuôi trong điều kiện đầy

đủ thức ăn, nước uống, chuồng trại bảo đảm vệ sinh trong suốt thời gian nghiên cứu. Tổng số 18 con (cả đực và cái), chia ngẫu nhiên thành 3 nhóm, mỗi nhóm 6 con:

Nhóm 1: thỏ được tiến hành OAHT, liều ozone khởi đầu 20 mcg/ml.

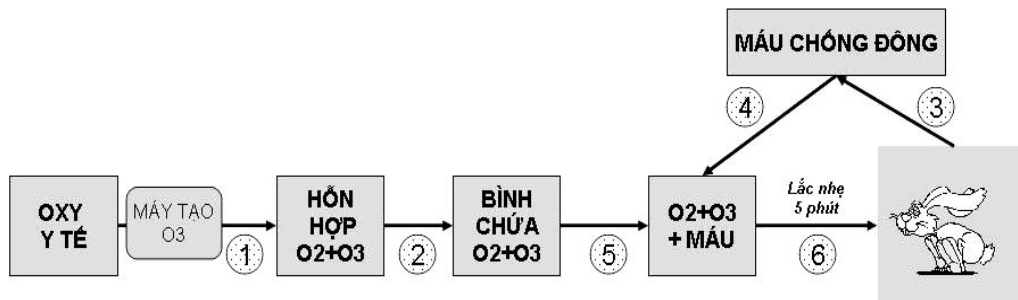
Nhóm 2: thỏ được tiến hành OAHT, liều ozone khởi đầu 50 mcg/ml.

Nhóm 3: thỏ được tiến hành OAHT, liều ozone khởi đầu 80 mcg/ml.

2. Phương pháp nghiên cứu.

** Phương pháp trị liệu bằng OAHT:*

Sau khi cố định thỏ, hút máu tĩnh mạch tai thỏ với lượng tương ứng 5 ml/kg thể trọng vào bơm tiêm có chứa chất chống đông (natri citrat 3,8%). Song song với quá trình lấy máu thỏ, khí ozone được tạo ra bằng cách cho khí oxy y tế đi qua máy tạo ozone (Viện Vật lý Việt Nam). Giữ hỗn hợp khí này trong bình chứa (*hình 1*). Kiểm tra nồng độ ozone (tính bằng mcg/ml) được bằng máy đo nồng độ ozone (Model A-21ZX, Eco Sensor.Inc, Hoa Kỳ), lúc này, bơm máu thỏ từ xy lanh vào bình nhựa chứa hỗn hợp khí ozone-oxy với liều tương ứng với từng nhóm trị liệu. Đặt bình nhựa lên máy lắc tần số thấp (25 chu kỳ/phút) trong vòng 5 phút. Sau đó, rút máu trở lại xy lanh và truyền lại cho thỏ. Quá trình thao tác bảo đảm vô khuẩn, sản phẩm máu không có bọt khí và không tạo cục máu đông (*hình 1*).

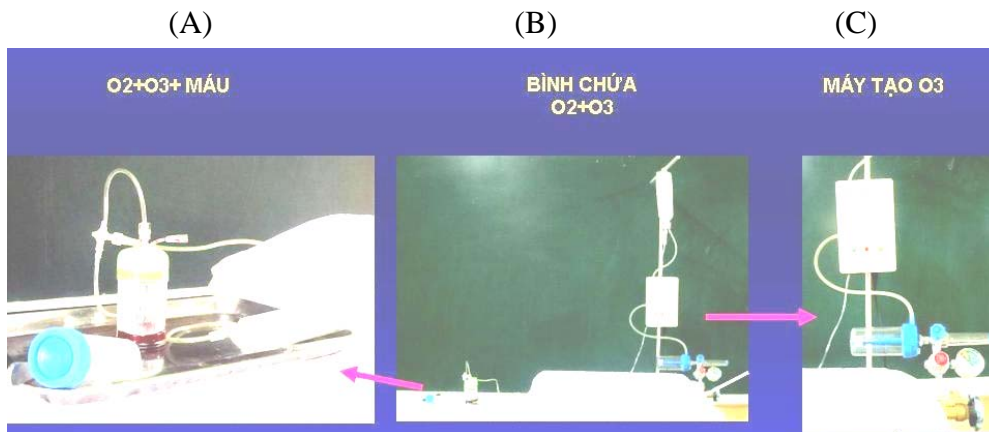


Hình 1: Sơ đồ tóm tắt quy trình sục ozone vào máu tự thân trên thỏ.

Quá trình trị liệu bằng phương pháp OAHT tiến hành tổng số 6 lần, 3 lần/tuần, liều ozone tăng lên 50% sau 2 lần trị liệu (Bocci, 2005).

2. Hệ thống tạo sục hỗn hợp khí O_2/O_3 .

Hệ thống tạo sục hỗn hợp khí O_2/O_3 (hình 2B) gồm: bình chứa oxy y tế, nối với máy tạo ozone qua hệ thống ống nhựa và van điều áp (hình 2C). Hỗn hợp khí sau khi tạo ra, lưu giữ trong một bình nhựa treo trên giá. Đây là nguồn cấp hỗn hợp khí O_2/O_3 phục vụ cho quy trình. Nối bình lưu khí với ống dẫn tới bình chứa hỗn hợp khí-máu, có van khóa trên đường dẫn khí. Trên bình hỗn hợp có đường dẫn máu, dẫn khí vào và khí ra (hình 2A). Sau khi bơm máu thỏ vào, rút xy lanh thủy tinh, áp lực trong bình hỗn hợp trở nên âm tính sẽ kéo hỗn hợp khí O_2/O_3 từ bình chứa đi vào bình hỗn hợp với nồng độ ozone tương ứng với thể tích mà xy lanh rút ra.



Hình 2: Hệ thống tạo ozone và sục hỗn hợp khí O_2/O_3 .

* Các chỉ tiêu theo dõi, đánh giá:

- Các chỉ tiêu toàn thân: tình trạng toàn thân, trọng lượng thỏ, nhiệt độ cơ thể, được thu thập 3 lần: trước trị liệu và sau trị liệu 1 và 2 tuần.

- Nhiệt độ cơ thể của động vật đo tại hậu môn bằng nhiệt kế đầu mềm vào các buổi sáng. Cố định động vật trên giá, một nhiệt kế đầu mềm được đặt nhẹ vào hậu môn. Kết quả có được sau khoảng 20 - 30 giây theo tín hiệu báo của điện kế.

- Các chỉ tiêu về máu: số lượng hồng cầu, huyết sắc tố, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu, số lượng tiểu cầu đếm tự động trên hệ thống xét nghiệm huyết học tự động Sysmex XE-2100 (Nhật) theo nguyên lý đếm dòng chảy, dựa vào điện trở kháng, kiểm soát liên tục độ mở của đường hút trong quá trình đếm và xác định phân loại kích cỡ tế bào.

* *Xử lý kết quả:* bằng thuật toán t-test, so sánh 2 số trung bình, sử dụng phần mềm tính toán chuyên dụng Stview 6.0 và Stat 7.1.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Tình trạng toàn thân của thỏ trong quá trình trị liệu bằng OAHT.

Quan sát toàn trạng động vật sau truyền máu tự thân sục ozone vào máu không phát hiện bất cứ biểu hiện bất thường nào xảy ra trên động vật thí nghiệm (18/18, 100%), như kích thích, co giật, bỏ ăn, tiêu chảy, sốt... Tất cả thỏ ăn uống, hoạt động bình thường sau mỗi lần truyền máu và những ngày tiếp theo cho đến kết thúc đợt thí nghiệm.

Bảng 1: Trọng lượng thỏ tại các thời điểm nghiên cứu ($\bar{X} \pm SE$).

NHÓM (6 con/nhóm)	TRỌNG LƯỢNG (kg)			p
	Trước OAHT (a)	Sau OAHT tuần 1 (b)	Sau OAHT tuần 2 (c)	
Nhóm 1 (1)	2,01 ± 0,05	2,1 ± 0,21	2,25 ± 0,18	p _{a,b} > 0,05
Nhóm 2 (2)	1,96 ± 0,1	2,12 ± 0,14	2,2 ± 0,15	p _{a,c} > 0,05
Nhóm 3 (3)	1,97 ± 0,15	2,08 ± 0,25	2,25 ± 0,2	p _{b,c} > 0,05
p	p _{1,2} > 0,05; p _{1,3} > 0,05; p _{2,3} > 0,05			

Theo dõi thỏ sau hai tuần trị liệu bằng ozone, không thấy bất cứ thay đổi hành vi đặc biệt nào thỏ, không liệt, không tử vong. Trọng lượng thỏ phát triển đều trên cả 3 nhóm thí nghiệm, kể cả thỏ dùng liệu pháp ozone với liều cao nhất (80 mcg/ml). Sau 2 tuần thí nghiệm, thỏ tăng trọng trung bình khoảng 200 gram (*bảng 1*).

Bảng 2: Nhiệt độ cơ thể thỏ tại các thời điểm nghiên cứu ($\bar{X} \pm SE$).

NHÓM (6 con/nhóm)	NHIỆT ĐỘ (°C)			p
	Trước OAHT (a)	Sau OAHT tuần 1 (b)	Sau OAHT tuần 2 (c)	
Nhóm 1 (1)	38,6 ± 0,28	38,8 ± 0,49	38,6 ± 0,25	p _{a,b} > 0,05 p _{a,c} > 0,05 p _{b,c} > 0,05
Nhóm 2 (2)	38,7 ± 0,13	37,9 ± 0,26	38,6 ± 0,15	
Nhóm 3 (3)	38,2 ± 0,44	38,4 ± 0,29	38,4 ± 0,53	
p	p _{1,2} > 0,05; p _{1,3} > 0,05; p _{2,3} > 0,05			

Đo nhiệt độ hậu môn thỏ trước thí nghiệm và sau trị liệu bằng ozone tuần thứ nhất và thứ hai cho thấy: không có sự thay đổi đáng kể nào về nhiệt độ giữa các nhóm tại cùng thời điểm và trong cùng một nhóm giữa các thời điểm khác nhau ($p > 0,05$, *bảng 2*); nhiệt độ hậu môn của thỏ dao động trung bình từ 37,9 - 38,8°C.

2. Biến đổi công thức máu ngoại vi của thỏ trong quá trình trị liệu bằng OAHT.

Bảng 3: Số lượng hồng cầu trong máu ngoại vi các nhóm thỏ tại các thời điểm nghiên cứu ($\bar{X} \pm SE$).

NHÓM (6 con/nhóm)	SỐ LƯỢNG HỒNG CẦU (T/l)			p
	Trước OAHT (a)	Sau OAHT tuần 1 (b)	Sau OAHT tuần 2 (c)	
Nhóm 1 (1)	4,97 ± 0,24	4,73 ± 0,1	4,84 ± 0,08	p _{a,b} > 0,05 p _{a,c} > 0,05 p _{b,c} > 0,05
Nhóm 2 (2)	5,22 ± 0,2	4,74 ± 0,21	4,81 ± 0,08	
Nhóm 3 (3)	4,95 ± 0,08	4,85 ± 0,27	5 ± 0,23	
p	p _{1,2} > 0,05; p _{1,3} > 0,05; p _{2,3} > 0,05			

Tại thời điểm sau tuần thứ nhất với 3 lần trị liệu và tuần thứ hai sau 6 lần trị liệu sục khí ozone vào máu theo quy trình của Bocci (2005), kết quả xét nghiệm đếm số lượng hồng cầu không biến động có ý nghĩa thống kê giữa 3 nhóm tại một thời điểm và giữa các thời điểm khác nhau trong cùng một nhóm ($p > 0,05$).

Bảng 4: Nồng độ hemoglobin của máu thỏ tại các thời điểm nghiên cứu ($\bar{X} \pm SE$).

	HEMOGLOBIN (g/l)	

NHÓM (6 con/nhóm)	Trước OAHT (a)	Sau OAHT tuần 1 (b)	Sau OAHT tuần 2 (c)	p
Nhóm 1 (1)	101 ± 3	95,8 ± 2,6	96,8 ± 1,3	p _{a,b} > 0,05 p _{a,c} > 0,05 p _{b,c} > 0,05
Nhóm 2 (2)	110 ± 1,5	101 ± 1,7	104 ± 1,0	
Nhóm 3 (3)	105 ± 1,5	99,3 ± 4,4	101 ± 1,0	
p	p _{1,2} > 0,05; p _{1,3} > 0,05; p _{2,3} > 0,05			

Nồng độ hemoglobin biến động không có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm tại một thời điểm và giữa các thời điểm khác nhau trong cùng một nhóm (p > 0,05).

Bảng 5: Số lượng bạch cầu máu ngoại vi của thỏ tại các thời điểm nghiên cứu ($\bar{X} \pm SE$).

NHÓM (6 con/nhóm)	SỐ LƯỢNG BẠCH CẦU G/l)			p
	Trước OAHT (a)	Sau OAHT tuần 1 (b)	Sau OAHT tuần 2 (c)	
Nhóm 1 (1)	8,27 ± 1,33	7,33 ± 0,59	7,65 ± 0,39	p _{a,b} > 0,05 p _{a,c} > 0,05 p _{b,c} > 0,05
Nhóm 2 (2)	8,23 ± 1,2	7,4 ± 2,4	8,5 ± 1,31	
Nhóm 3 (3)	8,2 ± 0,44	6,85 ± 0,97	6,7 ± 1,95	
p	p _{1,2} > 0,05; p _{1,3} > 0,05; p _{2,3} > 0,05			

Số lượng bạch cầu tại các thời điểm trước và sau trị liệu bằng ozone tuần thứ nhất và thứ hai không thay đổi khác biệt đáng kể (p > 0,05). Ở nhóm 3, (liều ozone cao nhất, với khởi điểm là 80 mcg/ml) xu hướng giảm nhẹ bạch cầu. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

Bảng 6: Số lượng tiểu cầu máu ngoại vi của các nhóm thỏ tại các thời điểm nghiên cứu ($\bar{X} \pm SE$).

NHÓM (6 con/nhóm)	SỐ LƯỢNG TIỂU CẦU (G/l)			p
	Trước OAHT (a)	Sau OAHT tuần 1 (b)	Sau OAHT tuần 2 (c)	
Nhóm 1 (1)	390 ±	442 ±	437 ±	p _{a,b} >

	23,9	97,5	26,6	0,05
Nhóm 2 (2)	399 ± 64	465 ± 104	441 ± 73,6	$p_{a,c} > 0,05$
Nhóm 3 (3)	390 ± 103	457 ± 57,3	453 ± 123	$p_{b,c} > 0,05$
p	$p_{1,2} > 0,05; p_{1,3} > 0,05; p_{2,3} > 0,05$			

Số lượng tiểu cầu tại các thời điểm trước và sau trị liệu bằng sục hỗn hợp khí O_2/O_3 vào máu tự thân tuần thứ nhất và thứ hai, số lượng tiểu cầu có biểu hiện tăng nhẹ so với trước thực nghiệm. Tuy nhiên, mức tăng này chưa ổn định và không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm trong cùng một thời điểm và giữa các nhóm tại những thời điểm khác nhau, $p > 0,05$.

BÀN LUẬN

1. Trị liệu bằng sục ozone máu tự thân không ảnh hưởng trên hoạt động bình thường của thỏ khỏe mạnh.

Để chứng minh tác động của phương pháp OAHT trên toàn trạng cơ thể động vật bình thường khỏe mạnh, nhất là tác động không mong muốn như biểu hiện toàn thân kích thích, dầy dụa, sốt trong và sau trị liệu chúng tôi áp dụng quy trình và phương pháp của Bocci V (2005), ứng dụng ozone trong trị liệu [2]. Quan sát trên 18 thỏ thí nghiệm với liều ozone khác nhau, không thấy bất kỳ tai biến nào xuất hiện trong suốt quá trình trị liệu (6 lần trị liệu trong 2 tuần) và sau 2 tuần kết thúc trị liệu. Điều này chứng minh qua chỉ số theo dõi diễn biến toàn thân và trọng lượng cơ thể của các nhóm động vật, tương đồng trên cả 3 nhóm (bảng 1). Nhiệt độ cơ thể của thỏ cũng không khác biệt đáng kể giữa các nhóm tại cùng một thời điểm nghiên cứu hoặc giữa các thời điểm trong cùng một nhóm nghiên cứu ($p > 0,05$, bảng 2). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của các tác giả khác được công bố gần đây [2, 4, 5]. Trong thí nghiệm tính liều độc của ozone trên động vật, bằng phương pháp ozone hóa máu, nhiều tác giả không tìm được liều gây chết 50% động vật (LD_{50}), mặc dù kéo dài thời gian ozone hóa máu trên 60 phút [4, 5]. Thí nghiệm trên cừu, De Souza và CS (2010) thấy, với lưu lượng máu 100 ml/phút tiếp xúc với hỗn hợp oxy-ozone chứa 20 - 60 $\mu\text{g/ml}$ ozone (khoảng 6 lít máu tiếp xúc ozone mỗi giờ) không gây ra bất kỳ tác dụng phụ trên cừu [2, 5].

2. Trị liệu bằng sục ozone máu tự thân không làm thay đổi một số chỉ tiêu huyết học ở máu ngoại vi bình thường của thỏ khỏe mạnh.

Một số quan điểm cho rằng, sục ozone vào máu sẽ gây tác động và ảnh hưởng trực tiếp lên các thành phần của máu như hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu. Để chứng minh điều này, chúng tôi dùng mô hình OAHT trên thỏ, kết quả không có biến động đáng kể nào về một số chỉ số máu trước, trong và sau 6 chu trình trị liệu ozone trong 2 tuần và 2 tuần theo dõi tiếp theo. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu Ohtsuka và CS (2006) trên động vật khỏe mạnh,

không thấy khác biệt nào về số lượng bạch cầu trước và sau khi trị liệu bằng sục ozone [8]. Ozone gây tác dụng sinh học chủ yếu thông qua huyết tương với các thành phần gốc tự do để kích hoạt chức năng của các cơ quan, dòng tế bào và sau đó được hệ thống chống gốc tự do của cơ thể trung hòa. Do vậy, ozone hầu như không ảnh hưởng tới số lượng tế bào máu trên cơ thể khỏe mạnh [1, 2, 6]. Nhiều nghiên cứu khác về sức bền hồng cầu, hay độc tính của ozone tới các dòng bạch cầu cũng đã được đề cập, tuy nhiên đã không tìm thấy tác dụng độc hại nào trên hệ tạo máu và đều khẳng định sử dụng trị liệu ozone sục vào máu tự thân không độc hại [2, 4, 7].

KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu áp dụng liệu pháp OAHT trên 18 thỏ khỏe mạnh, chúng tôi rút ra kết luận: OAHT không gây ra thay đổi về toàn thân, nhiệt độ và tai biến trong suốt quá trình trị liệu với liều ozone khởi đầu 20 mcg/ml, 50 mcg/ml và 80 mcg/ml, sau đó tăng liều lên 50% sau mỗi 2 lần điều trị. Liệu pháp OAHT không làm thay đổi về số lượng hồng cầu, huyết sắc tố, số lượng bạch cầu và tiểu cầu máu ngoại vi của động vật thực nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vũ Quốc Bình, Hồ Anh Sơn, Nguyễn Linh Toàn. Liệu pháp ozone trong y học. Tạp chí Y-Dược học quân sự. 2010, 7, tr.87-91.
2. Bocci V. Ozone - a new medical drug. Springer. 2005.
3. Clavo B, Catalá L, Pérez J.L, Rodríguez V, Robaina F. Ozone therapy on cerebral blood flow: A preliminary report. Evid Based Compl. Alt. Med. 2004, 1, pp.315-319.
4. De Souza Y.M, Fontes B, Martins J.O, Sannomiya P, Brito G.S, Younes R.N, Rasslan S. Evaluation of the effects of ozone therapy in the treatment of intra-abdominal infection in rats. Clinics. 2010, 65, pp.195-202.
5. Di Paolo N, Bocci V, Gaggiotti E. Ozone therapy. The Inter J Art Org. 2004, 27, pp.168-175.
6. Giunta R, Coppola A, Luongo C, Sammartino A, Guastafierro S, Grassia A, Giunta L, Mascolo L, Tirelli A, Coppola A. Ozonized autohemotransfusion improves hemorheological parameters and oxygen delivery to tissues in patients with peripheral occlusive arterial disease. Ann Hematol. 2001, 80, pp.745-748.
7. Ogata A, Nagahata H. Intramammary application of ozone therapy to acute clinical mastitis in dairy cows. J. Vet. Med. Sci. 2000, 62, pp.681-686.
8. Ohtsuka H, Ogata A, Terasaki N, Koiwa M. Changes in leukocyte population after ozonated autohemoadministration in cows with inflammatory diseases. J Vet Med Sci. 2006, 68, pp.175-182.