

## NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG HUYẾT THANH TỰ THÂN DẠNG TGM ĐIỀU TRỊ KHÔ MẮT MỨC ĐỘ TRUNG BÌNH VÀ NẶNG

*Nguyễn Đình Ngân\**

### TÓM TẮT

Nghiên cứu tiền cứu, can thiệp lâm sàng không đối chứng trên 38 bệnh nhân (BN) (73 mắt) khô mắt độ III, IV. Pha chế huyết thanh tự thân (HTTT) theo quy trình của Geerling G và CS (2005), đóng lọ 2 ml bảo quản ở  $-10^{\circ}\text{C}$ , lọ đã mở bảo quản trong  $+4^{\circ}\text{C}$  và chỉ dùng trong ngày. Chọn 3 mẫu để nuôi cấy vi khuẩn, nấm: sau khi pha chế; phần còn lại của lọ tra cuối cùng và 1 mẫu được chọn ngẫu nhiên trong các lọ đã sử dụng.

Kết quả: có sự cải thiện rõ rệt triệu chứng chủ quan (bảng câu hỏi) và khách quan (test Schirmer I, TBUT - thời gian phá vỡ phim nước mắt, nhuộm giác mạc bằng fluorescein, rose bengal) trên 100% mắt sau đợt điều trị. Không có trường hợp nào xuất hiện biến chứng của dùng HTTT. Trong 114 mẫu HTTT nuôi cấy vi khuẩn, 2 mẫu mọc *S. epidermidis*, tuy nhiên, không trường hợp nào có biểu hiện nhiễm trùng tại mắt trên lâm sàng.

\* Từ khóa: Khô mắt; Huyết thanh tự thân.

## STUDY OF USING AUTOLOGOUS SERUM EYEDROPS IN TREATMENT OF MODERATE AND SEVERE DRY EYE DISEASE

### SUMMARY

*A prospective study with clinical interventions was carried on 38 outpatients (73 eyes) with grade III, IV dry eye. Autologous serum was made based on the standard procedure according to Geerling G et al (2005). Serum solution packed in 2 ml vials was stored in the freezer ( $-10^{\circ}\text{C}$ ). Each bottle for eyedrop was stored in the cool compartment ( $+4^{\circ}\text{C}$ ) and was discarded at the end of the day. To assess the safety of using autologous serum, three samples of each patient were cultured to investigate bacteria and fungi: the first was taken immediately after mixing, the second was the remaining serum after using of the last bottle, and the third was randomly selected in the serum bottles which had been used.*

*Results: There was a significant improvement in symptoms (questionnaire) and signs (Schirmer test I without anesthesia, TBUT, corneal staining with fluorescein and rose bengal) on 100% of eyes after autologous serum treatment. There were no complications of using autologous serum. No samples were taken immediately after mixing grew bacteria or fungi. Only two samples in 114 cultured samples of autologous serum grew *S. epidermidis*, however, there were no symptoms and signs of infection in all patients of the study.*

\* Key words: Dry eye; Autologous serum.

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Khô mắt là bệnh lý thường gặp. Đặc biệt, ở nhóm đối tượng > 40 tuổi, tỷ lệ mắc

khô mắt dao động từ 5 - 33,7% và có thể lên tới 60 - 70% ở người > 60 tuổi. Hiện nay, đã có nhiều phương pháp nội, ngoại khoa được ứng dụng trong điều trị khô mắt.

\* Bệnh viện 103

Chịu trách nhiệm nội dung khoa học: PGS. TS. Nguyễn Văn Đàm  
PGS. TS. Nguyễn Văn Minh

Tuy nhiên, chủ yếu là dùng nhóm thuốc nước mắt nhân tạo (hydrogels có độ nhớt cao) làm tái tạo và tăng sự bền vững của phim nước mắt. Các thuốc nhóm này có nhược điểm là không có yếu tố nuôi dưỡng biểu mô bề mặt nhãn cầu, nên kết quả rất hạn chế trong trường hợp khô mắt nặng, đặc biệt, khi xuất hiện rối loạn biểu mô kết giác mạc. HTTT là chế phẩm sinh học có thành phần tương đối giống với nước mắt, nhưng các yếu tố dinh dưỡng (vitamin A, yếu tố tăng trưởng biểu mô, fibronectin...) cao hơn nhiều, được Fox và CS [6] giới thiệu lần đầu tiên năm 1984. Tuy vậy, đầu những năm 2000, HTTT dạng TGM mới được nghiên cứu, chứng minh có hiệu quả và được sử dụng rộng rãi trong các bệnh lý khác nhau của bề mặt nhãn cầu như khô mắt, loét giác mạc khó hàn gắn, trượt giác mạc tái phát, bỏng mắt do hoá chất... [4, 5, 6, 8, 9].

Tại Việt Nam, mặc dù máu và HTTT được sử dụng để tiêm dưới kết mạc điều trị bỏng mắt, loét Mooren khoảng 20 năm nay. Nhưng dạng dung dịch nhỏ mắt mới được bắt đầu sử dụng tại một số cơ sở nhãn khoa lớn với quy trình chưa thống nhất. Vì vậy, chúng tôi thực hiện đề tài với mục tiêu:

- *Đánh giá kết quả điều trị khô mắt độ III và độ IV của BN ngoại trú bằng dung dịch HTTT dạng TGM mắt.*

- *Bước đầu đánh giá độ an toàn khi sử dụng HTTT cho BN ngoại trú.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu.

38 BN (73 mắt) khô mắt độ III và độ IV, điều trị ngoại trú tại Khoa Mắt, Bệnh viện 103 từ tháng 1 - 2009 đến 5 - 2010.

### 2. Phương pháp nghiên cứu.

#### \* *Thiết kế nghiên cứu:*

Nghiên cứu tiến cứu, can thiệp lâm sàng không có đối chứng so sánh dọc trước và sau điều trị.

#### \* *Cỡ mẫu:*

$$N = Z^2_{(1-\alpha/2)} \frac{p(1-p)}{(p.\varepsilon)^2}$$

Áp dụng công thức tính cỡ mẫu trên, n = 68. Chúng tôi nghiên cứu trên 73 mắt.

#### \* *Phương thức tiến hành:*

- BN được khám và hỏi bệnh, chẩn đoán khô mắt và mức độ phân chia theo tiêu chuẩn của DEWS (2007), điền vào mẫu phiếu nghiên cứu.

+ Đánh giá chế tiết nước mắt và sự bền vững của phim nước mắt thông qua test Schirmer và thời gian phá vỡ phim nước mắt. Nhuộm bề mặt nhãn cầu bằng fulorescein và rose bengal (tính điểm tổn thương bắt màu fluorescein theo Shimmura và CS (1995) [10] và tính điểm tổn thương bắt màu rose bengal theo Toda (1993) [11]).

+ Đánh giá cảm giác chủ quan của BN theo bảng câu hỏi khô mắt của Begley và CS (2003) [1].

- Thực hiện quy trình lấy máu làm HTTT được theo Geerling G (2005). Huyết thanh sau khi pha, đóng lọ mỗi lọ 2 ml.

- BN bảo quản sử dụng lọ thuốc theo hướng dẫn của bác sỹ. Bảo quản trong ngăn tủ lạnh (-10°C). Lọ đã mở, bảo quản trong ngăn mát (+4°C) và chỉ dùng trong ngày.

- Đánh giá độ an toàn của dung dịch huyết thanh: mỗi BN được lấy 3 mẫu bệnh phẩm để nuôi cấy vi khuẩn, nấm: lấy mẫu 1 ngay sau khi đóng ống, mẫu 2 là phần

huyết thanh còn lại của lọ cuối cùng và lấy ngẫu nhiên mẫu 3 trong các lọ huyết thanh đã sử dụng.

- Thu thập và xử lý số liệu: theo mẫu bệnh án nghiên cứu và xử lý bằng SPSS 13.0.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

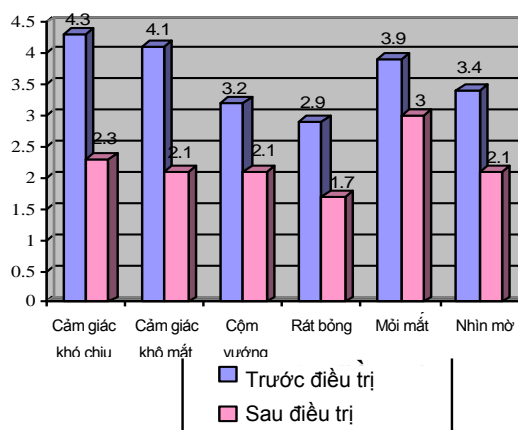
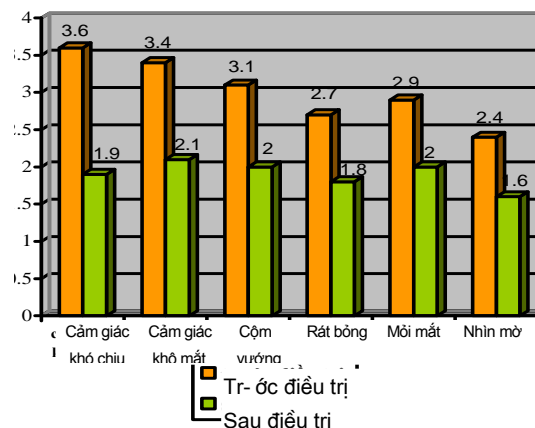
### 1. Đặc điểm nhóm BN nghiên cứu.

Nghiên cứu tiến hành trên 38 BN (tỷ lệ nam/nữ: 1/1,5); 76,3% BN (29/38) ở độ tuổi > 40. BN chủ yếu ở thành thị (30/38 BN = 78,9%) và đa số quanh khu vực Hà Nội (21/38 BN = 55,3%). Do việc sử dụng, bảo quản phụ thuộc vào trình độ nhận thức của BN nên trong nghiên cứu đối tượng chủ yếu có trình độ  $\geq$  cấp 3 (32/38 BN = 84,2%). Đa số BN khô mắt chưa rõ nguyên nhân (20/38 BN = 52,65%). Trong đó, bao gồm cả trường hợp khô mắt liên quan đến tuổi. Ở nhóm khô mắt có nguyên nhân rõ ràng, tổn thương gây khô mắt chủ yếu phối hợp cả 2 cơ chế gây giảm tiết nước mắt cũng như tăng bốc hơi (16/18 BN = 88,9%).

### 2. Kết quả cải thiện triệu chứng chủ quan của khô mắt.

Đánh giá triệu chứng chủ quan của BN theo bảng câu hỏi khô mắt của Begley và CS (2003) [1]: gồm 23 câu hỏi để đánh giá 6 nhóm triệu chứng chính như: cảm giác khó chịu, cảm giác khô mắt, cảm giác cộm vướng - có dị vật trong mắt, cảm giác rát bỏng - đau nhức, cảm giác mỗi mắt, cảm giác nhìn mờ thay đổi (nhìn lúc rõ, lúc mờ). Cho điểm mỗi nhóm triệu chứng theo tần suất xuất hiện triệu chứng trong ngày (0 - 4 điểm) và độ nặng của triệu chứng (0 - 5

điểm). So sánh sự thay đổi tần số cũng như độ nặng của các triệu chứng chủ quan trước và sau điều trị cho thấy: sau 3 tuần sử dụng HTTT nhỏ mắt, các triệu chứng đều giảm có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).



Hình 1: Tần suất và mức độ triệu chứng chủ quan trước và sau điều trị.

### 3. Kết quả cải thiện triệu chứng khách quan của khô mắt.

Đánh giá triệu chứng khách quan khô mắt thông qua test Shirmer I, thời gian phá vỡ phim nước mắt cũng như các test nhuộm bề mặt nhãn cầu.

Bảng 1: Biến đổi các test đánh giá khô mắt khách quan trước và sau điều trị.

TEST		TRƯỚC ĐIỀU TRỊ	SAU ĐIỀU TRỊ
Shirmer (mm)	Trung bình	3,8 ± 2,9	4,2 ± 3,1
	p	> 0,05	
TBUT (s)	Trung bình	2,1 ± 1,9	5,2 ± 2,4
	p	< 0,05	
Fluorescein	Trung bình	4,1 ± 2,7	2,6 ± 1,9
	p	< 0,05	
Rose bengal	Trung bình	5,3 ± 1,9	2,4 ± 2,2
	p	< 0,01	

Sự chế tiết nước mắt (đánh giá bằng test Shirmer) trước và sau điều trị huyết thanh thay đổi không có ý nghĩa thống kê. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Kojima và CS (2005) [6]. Các tác giả cho rằng: việc sử dụng huyết thanh chỉ giúp tăng nuôi dưỡng bề mặt nhãn cầu, ức chế quá trình viêm, nhưng không làm ảnh hưởng nhiều đến quá trình tiết nước mắt (tiết nước mắt cơ bản và phản xạ).

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy: thời gian phá vỡ phim nước mắt của BN tăng sau khi điều trị ( $p < 0,05$ ), phù hợp với kết quả của Kojima [6], Noble [8] và Tsubota. Đây là nghiệm pháp cho phép đánh giá chất lượng phim nước mắt, sự tác động qua lại giữa phim nước mắt và bề mặt nhãn cầu, độ nhớt và tính ổn định của bề mặt kết giác mạc, thời gian phá vỡ phim nước mắt càng tăng, chứng tỏ phim nước mắt bền vững và tác dụng bảo vệ tế bào biểu mô của nước mắt tăng. Sự cải thiện này còn được chứng minh thông qua biến đổi tổn thương bề mặt nhãn cầu khi nhuộm fluorescein và rose bengal. Kết quả nghiên cứu cho thấy tổn thương sau điều trị giảm nhiều so với trước điều trị ( $p < 0,05$ ). Tsubota (1999) trên thực nghiệm cũng đã chứng minh HTTT có tác dụng làm tăng thụ thể MUC1 (thụ thể của mucin) của tế bào biểu mô kết mạc nuôi cấy, làm ổn định kiểu hình (phenotype) của tế bào biểu mô bề

mặt nhãn cầu trong trường hợp khô mắt rất nặng, không có chế tiết nước mắt (test Schirmer = 0 mm). Như vậy có thể nói, HTTT nhỏ mắt chủ yếu có tác dụng kích thích tăng sinh tế bào biểu mô bề mặt nhãn cầu (cả tế bào dài tiết nhày), tăng tiết mucin trên bề mặt nhãn cầu (yếu tố quan trọng trong liên kết và trao đổi dinh dưỡng giữa các tế bào biểu mô bề mặt nhãn cầu và nước mắt). Do đó, cần làm bền vững phim nước mắt cũng như cải thiện các tổn thương biểu mô của bề mặt nhãn cầu.

#### 4. Kết quả nuôi cấy mẫu huyết thanh.

Trong 114 mẫu nuôi cấy huyết thanh, không có trường hợp mọc nấm. Toàn bộ 38 mẫu được lấy ngay sau khi pha chế, không có trường hợp nào mọc vi khuẩn. Trong 76 mẫu còn lại, 2 mẫu mọc *Staphylococcus epidermidis*. Mẫu thứ 1 là phần huyết thanh còn lại sau khi tra mắt ngày thứ 15 của BN khô mắt do di chứng bỏng. Mẫu thứ 2: lọ cuối cùng (lọ thứ 20) của BN Stevens Johnson. Tuy nhiên, cả 2 BN này đều không có biểu hiện nhiễm trùng tại mắt trên lâm sàng trước và sau khi tra thuốc. Kết quả này phù hợp với Dugrillon A [3], Tsubota và CS [12] và Kojima T [6]. Trong nghiên cứu, các tác giả đều thấy: không có trường hợp nào sử dụng HTTT tra mắt có biểu hiện nhiễm trùng trên lâm sàng. Lagnado R và CS (2004) [7] nuôi cấy 134 mẫu của 14 BN, kết quả: 11 mẫu của 5 BN mọc *Staphylococcus epidermidis*, 1 mẫu mọc *Staphylococcus aureus*, 1 mẫu mọc *Micrococcus*. Tuy nhiên, tất cả các trường hợp trên không có biểu hiện nhiễm trùng tại mắt sau khi sử dụng huyết thanh.

#### 5. Quy trình đóng ống và bảo quản HTTT.

Mỗi giọt thuốc nhỏ mắt quy chuẩn có thể tích là 50  $\mu$ l. Vì vậy, để tra 2 mắt 10 -15 lần/ngày, cần 1 - 1,5 ml. Để đảm đủ lượng

thuốc nhỏ mắt cho mỗi ngày, chúng tôi đóng ống 2 ml. Với 20 ml máu lấy được sau khi ly tâm sẽ cho 8 - 10 ml huyết thanh, nghĩa là có 40 - 50 ml huyết thanh nồng độ 20% và sẽ đóng được 20 - 25 lọ thuốc tra mắt, đảm bảo BN nhỏ ít nhất 3 tuần.

Các tác giả đều thống nhất bảo quản lâu dài lọ huyết thanh ở  $-20^{\circ}\text{C}$  trong vòng 3 tháng mà vẫn giữ nguyên được đặc tính sinh học. Đây là nhiệt độ tại ngăn đá, mà đa số tủ lạnh dân dụng hiện nay đạt được. Vì vậy, việc BN bảo quản lâu dài huyết thanh khá thuận tiện. Tsubota và Kojima [6] cho rằng: có thể để huyết thanh ở  $+4^{\circ}\text{C}$  trong vài tuần mà vẫn giữ nguyên đặc tính sinh học của thuốc. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu gần đây của Bradley J.C và CS (2009) [2] cho thấy: các yếu tố như vitamin A, EGF, TGF- $\beta$ 1 có thể ổn định kéo dài, nhưng substance P giảm có ý nghĩa thống kê sau 24 giờ ở nhiệt độ này. Mặt khác, khi BN đã mở lọ thuốc, nguy cơ nhiễm trùng rất cao. Vì vậy, cần hướng dẫn BN bảo quản lọ đã mở ở  $+4^{\circ}\text{C}$  và chỉ sử dụng thuốc trong ngày.

### KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu sử dụng HTTT dạng TGM cho 38 BN (73 mắt) khô mắt mức độ III, IV, chúng tôi rút ra một số kết luận:

- Huyết thanh tự thân là phương pháp có hiệu quả trong điều trị khô mắt trung bình và nặng:

+ Sau khi sử dụng trong 3 tuần, các triệu chứng chủ quan đều được cải thiện (có ý nghĩa thống kê  $p < 0,05$ ) cả về tần suất xuất hiện cũng như mức độ nặng của triệu chứng.

+ Chế tiết nước mắt trước và sau khi dùng huyết thanh thay đổi không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Nhưng độ ổn định của phim nước mắt qua test TBUT được cải thiện ( $p < 0,05$ ).

+ Tình trạng tổn thương bề mặt nhãn cầu do khô mắt gây ra cũng được cải thiện sau khi dùng thuốc thông qua các test nhuộm bề mặt nhãn cầu ( $p < 0,05$ ).

- Sử dụng HTTT dạng nhỏ mắt cho BN ngoại trú khá an toàn, nếu BN được hướng dẫn đầy đủ và tuân thủ theo quy trình bảo quản, sử dụng thuốc.

+ Không có trường hợp nào trong nghiên cứu có biến chứng khi sử dụng huyết thanh.

- Nuôi cấy 114 mẫu HTTT 2 BN có bệnh phẩm mọc *Staphylococcus epidemidis*. Tuy nhiên, không có mắt nào có biểu hiện nhiễm trùng.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Begley C.G, Chalmers R.L, Abetz L et al. The relationship between habitual patient-reported symptoms and clinical signs among patients with dry eye of varying severity. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003, 44, pp.4753-4761.
2. Bradley J.C, Simoni J, Bradley R.H. Time - and temperature-dependent stability of growth factor peptides in human autologous serum eye drops. Cornea. 2009, 28, pp.200-205.
3. Dugrillon A, Lauber S, Nguyen XD et al. Platelets applied to wounds and in tissue regeneration: induction of proliferation apoptosis by platelet membranes. in: Mempel W, Schramm W, eds. Infusion Therapy and Transfusion medicine. 2002, pp.70-71.
4. Fox RI, Chan R, Michelson JB, et al. Beneficial effect of artificial tears made with autologous serum in patients with

keratoconjunctivitis sicca. *Arthritis Rheum.* 1984, 27, pp.459-461.

5. *Geerling G, Hartwig H.* Autologous serum eyedrops for ocular surface disorders in cornea and external eye disease (Reinhard T. and Larkin D.F.P. ed), chap 1, pp.2-18, Springer, Verlag Berlin Heidelberg. 2006.

6. *Kojima T, Ishida R, Dogru M, et al.* The effect of autologous serum eyedrops in the treatment of severe dry eye disease: a prospective randomized case-control study. *Am J Ophthalmol.* 2005, 139, pp:242-246.

7. *Lagnado R, King A.J, Donald F. and Dua H.S.* A protocol for low contamination risk of autologous serum drops in the management of

ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol.* 2004, 88, pp.464-465.

8. *Noble B.A, Ioh R.S, MacLennan S et al.* Comparison of autologous serum eye drops with conventional therapy in a randomised controlled crossover trial for ocular surface disease. *Br J Ophthalmol.* 2004, 88, pp.647-652.

9. *Noda-Tsuruya T, Asano-Kato N, Toda I, Tsubota K.* Autologous serum eye drops for dry eye after LASIK. *J Refract Surg.* 2006, 22, pp.61-66.

10. *Shimmura S, OnoM, Shinozaki K, et al.* Sodium hyaluronate eyedrops in the treatment of dry eyes. *Br J Ophthalmol.* 1995, 79, pp.1007-1011.

**Ngày nhận bài: 18/6/2012**

**Ngày giao phản biện: 30/7/2012**

**Ngày giao bản thảo in: 31/8/2012**