

SO SÁNH SỰ HỒI PHỤC CẤU TRÚC GIÁC MẠC THỎ BỊ VIÊM LOÉT DO TỤ CẦU ĐƯỢC ĐIỀU TRỊ DÀI NGÀY BẰNG LASER HELIUM-NEON ĐƠN THUẦN VÀ LASER PHỐI HỢP VỚI KHÁNG SINH

NGUYỄN KHANG SƠN
Trưởng Đại học Y Hà Nội

TÓM TẮT:

So sánh sự hồi phục cấu trúc vi thể giác mạc thỏ bị viêm loét do tụ cầu được điều trị dài ngày bằng chiếu laser Helium-Neon ($2\text{mW}/\text{cm}^2$ trong 5 phút) đơn thuần và chiếu laser phối hợp với rỏ tại chỗ dung dịch clorocid 4% các tác giả nhận thấy:

- Không có sự khác biệt giữa 2 phương pháp điều trị
- Laser đã làm giảm quá trình viêm tại chỗ, kích thích sự tái tạo hồi phục và không gây ảnh hưởng xấu đến các mô của nhãn cầu.

Từ khóa: Laser He-Ne, laser năng lượng thấp, loét giác mạc.

SUMMARY:

Structural regeneration of rabbits' cornea ulcerated by Staphylococcus and treated during a long time by Helium-Neon laser and by antibiotic - laser combination

In this study, the rabbits' cornea ulcerated by Staphylococcus infection, treated by He-Ne laser (power density: $2\text{mW}/\text{sq cm}$, daily) and by dropping antibiotic solution (4% chlorocid) combined with He-Ne laser therapy. Basing on the micro structural regenerative criteria for evaluating the results of therapeutics, the authors observed that:

- These results were similar.
- He-Ne laser decreased the inflammatory process in situ, stimulated the structural regeneration, without any dangerous effect on eye tissues.

Keywords: He-Ne laser, soft laser, corneal ulcer.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Việc nghiên cứu ứng dụng laser Helium-Neon (He-Ne) để điều trị viêm loét giác mạc ở người đã thu được kết quả bước đầu [2,6]. Một số công trình thực nghiệm cũng đã đưa ra nhận xét về ảnh hưởng của loại laser này đối với bệnh viêm loét giác mạc, nhưng mới chỉ dừng ở thời gian dài nhất là 15 ngày [2,5,6]. Trong công trình này, chúng tôi sử dụng laser He-Ne với mật độ công suất $2\text{mW}/\text{cm}^2$ chiếu đơn thuần và chiếu laser phối hợp với rỏ dung dịch clorocid 4% trên mô hình giác mạc thỏ bị viêm loét do tụ cầu với thời gian kéo dài tới một tháng để đánh giá:

• Ảnh hưởng của chiếu laser He-Ne đơn thuần và kéo dài tới sự hồi phục cấu trúc vi thể giác mạc khi viêm loét do tụ cầu.

• So sánh tác động của laser He-Ne chiếu đơn thuần và chiếu laser phối hợp với rỏ dung dịch kháng sinh tại chỗ, sau đợt điều trị kéo dài.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng:

Thỏ trưởng thành không phân biệt đực cái, trọng lượng 1,8-2,2 kg, khoẻ mạnh, không mắc bệnh ngoài da và mắt. Thỏ được nuôi trong cùng điều kiện phòng thí nghiệm trước và trong thời gian thực nghiệm.

Chia nhóm thí nghiệm:

• Nhóm EC: 5 thỏ, làm thực nghiệm, để hồi phục

tự nhiên

• Nhóm EL: 5 thỏ, làm thực nghiệm, chiếu laser hàng ngày

• Nhóm EK: 5 thỏ, làm thực nghiệm, chiếu laser và rỏ thuốc clorocid hàng ngày.

2. Gây viêm loét thực nghiệm.

Dụng cụ:

• Khoan giác mạc đường kính 4 mm.

• Kim giác mạc, chỉ tơ tằm 8.0 x 5 cm.

• Dung dịch Staphylococcus Aureus được chuẩn mật độ $10^5\text{VK}/\text{ml}$.

• Chỉ giác mạc được ngâm trong dung dịch vi khuẩn 24 giờ trước thực nghiệm.

Cố định, gây mê thỏ bằng ête, hướng mắt phải lên phía trên. Khoan nông giác mạc để đánh dấu. Xuyên kim tạo đường hầm dài 3 mm ở 1/3 nông chiều dày giác mạc. Khi rút kim, chỉ là phương tiện đưa vi khuẩn vào trong đường hầm này.

Thời gian bắt đầu làm thực nghiệm: 8 giờ sáng.

3. Điều trị

• Máy laser He-Ne có bước sóng 632,8 nm, phát liên tục, công suất 2 mW, mật độ công suất $2\text{mW}/\text{cm}^2$.

• Chiếu chùm tia theo hướng tiếp tuyến với chiều cong của giác mạc: tại chỗ 3 phút, lân cận 2 phút. Chiếu lần đầu sau thực nghiệm 48 giờ; mỗi ngày chiếu 1 lần vào 8-10 giờ sáng, chiếu một đợt 28 ngày liên tục.

• Thuốc kháng sinh tra mắt thông thường: dung dịch clorocid 4%, rỏ hàng ngày, mỗi ngày 3 lần vào 8 giờ - 11 giờ - 16 giờ, mỗi lần 3 giọt. Rỏ lần đầu sau thực nghiệm 48 giờ, kéo dài một đợt 28 ngày.

Nhóm chứng để hồi phục tự nhiên.

4. Theo dõi đánh giá

Hàng ngày kiểm tra toàn thân và khám mắt thỏ, đánh giá những thay đổi mắt thỏ và nơi viêm loét. Dùng nghiệm pháp bắt màu fluorescein 2% để đánh giá sự hồi phục của biểu mô trước giác mạc.

Giết thỏ ngày thứ 30 lúc 8-9 giờ sáng, lấy bệnh phẩm, cố định bằng dung dịch Carnoy, đúc khối nền, cắt lát mỏng, làm tiêu bản vi thể, nhuộm H.E. Kết quả được đọc dưới kính hiển vi quang học: nhận xét so sánh những thay đổi cấu trúc vi thể giác mạc và các vùng khác của nhãn cầu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Toàn thân và tại mắt thỏ

Trong thời gian thực nghiệm các thỏ đều khoẻ mạnh, cân nặng bình thường

Sau 48^h, tổn thương giống nhau: các ổ abscess tròn đều, màu trắng đục, đường kính 4 mm, hơi lồi lên. Tình trạng viêm tại chỗ rầm rộ

Phản ứng viêm nặng nề trong 4-5 ngày đầu, những ngày sau giảm dần; ngày thứ 30 có bằng sau (bảng 1):

Bảng 1: Triệu chứng tại mắt của các nhóm nghiên cứu

Nhóm Đặc tính	Chứng EC	Laser EL	Laser + kháng sinh EK
Còn viêm loét	3/5	0/5	0/5
T/g liền sẹo trung bình	-	16 ± 3.29	15,6 ± 5,42
Bất màu Fluorescein	(+)1,5 mm	-	-
Tân mạch	3/5	1/5	1/5
Mủ tiền phòng	1/5	0	0
Đường kính sẹo GM	4 mm	3 mm	3 mm

2. Hồi phục biểu mô trước giác mạc

Bảng 2: So sánh sự hồi phục cấu trúc vi thể của biểu mô trước giác mạc giữa các nhóm nghiên cứu

Nhóm Đặc tính	Chứng EC	Laser EL	Laser + kháng sinh EK
Phủ hoàn toàn	4/5	5/5	5/5
Chiều dày	2 lớp tế bào	6 lớp TB	6 lớp TB
Cấu trúc tế bào	nhân teo	bình thường	bình thường
Chỉ số gián phân (%)	131,6 ± 18,98	178,4 ± 6,68	150,8 ± 15,59
Tế bào viêm	(+)	(-)	(-)
Liên kết với mô nền	chưa chặt	chặt chẽ	chặt chẽ
Màng đáy	chưa rõ ràng	rõ ràng	rõ ràng

3. Hồi phục chân bì giác mạc:

Bảng 3: So sánh sự hồi phục cấu trúc vi thể của chân bì giác mạc giữa các nhóm nghiên cứu

Nhóm Đặc tính	Chứng EC	Laser EL	Laser + kháng sinh EK
Dày chung CBGM	479 ± 29,69 μ m (= 200 %)	245 ± 11,01 (= 102 %)	249,2 ± 22,27 (= 104%)
Hoại tử	-	-	-
B/cầu lym pho	++	±	±
TB thoái hóa	-	-	-
Vi khuẩn	+	-	-
Xuất huyết	1/5	0	0
Tân mạch	Nhiều, ở các lớp	ít, nông	ít, nông
Màng Descemet	Dày, K ^o thuần nhất	Đều, thuần nhất	Đều, thuần nhất
Màng LK mạch	25 μ m	15 μ m	10 μ m

Chân bì giác mạc bình thường dày 239,09±32,13 μ m

4. Các vùng khác của nhãn cầu:

Bảng 4: So sánh sự hồi phục cấu trúc vi thể các vùng khác của nhãn cầu giữa các nhóm nghiên cứu.

Nhóm Cấu trúc	Chứng EC	Laser EL	Laser + kháng sinh EK
Vùng GM lân cận	Tân mạch nông, lympho	Bình thường	Bình thường
Vùng rìa: - Biểu mô	trung bình	dày	dày
- Đệm	lympho, NBSợi	Nguyên bào sợi	Nguyên bào sợi
Mủ tiền phòng	1/5	0	0
Mống mắt, thể mi	phù nề nhẹ	bình thường	bình thường
Bán phần sau	bình thường	bình thường	bình thường

NHẬN XÉT VÀ BÀN LUẬN

1. Mô hình gây loét giác mạc do Hessburg đề xuất

và Đinh Thị Khánh [3] phát triển mà chúng tôi áp dụng đã tạo được vết loét độ III khá đồng đều. Với mô hình này, có thể giúp đánh giá tác động của laser He-Ne đơn thuần và phối hợp lên quá trình hồi phục một tổn thương khu trú của giác mạc.

2. Tình trạng viêm loét giác mạc cho đến ngày thứ 30 ở nhóm chứng còn 3 trong số 5 mắt. Trong khi đó, ở nhóm chiếu laser và nhóm chiếu laser phối hợp tổn thương đều đã ổn định với thời gian liền sẹo trung bình là 15±16 ngày (bảng 1). Kích thước của sẹo giác mạc ở các nhóm được điều trị cũng nhỏ hơn nhóm chứng. Sự khác biệt là không có ý nghĩa giữa nhóm chiếu laser đơn thuần và nhóm phối hợp kháng sinh; chứng tỏ ở công trình này, tác động đẩy nhanh sự hồi phục tổn thương chỉ đơn thuần do tác động của laser He-Ne.

3. Sự hồi phục biểu mô trước thể hiện bằng sự che phủ của tế bào biểu mô vùng tổn thương và chất lượng của sự che phủ này. Ở nhóm chứng chỉ có 4 trong số 5 mắt đã được lập lại biểu mô trước với 2 lớp tế bào, các tế bào sẫm màu nhân teo. Nhóm được điều trị, tất cả các mắt đã hồi phục biểu mô với 5-6 hàng tế bào, có mắt đạt đến 7-8 hàng tế bào. Các tế bào biểu mô trước có hình ảnh bình thường (bảng 2).

Chỉ số gián phân ở cả nhóm điều trị và nhóm chứng đều tăng hơn bình thường ($p < 0,01$) đây là điều thường thấy của quá trình hồi phục tổn thương. Nhóm chiếu laser và nhóm chiếu laser phối hợp kháng sinh chỉ số này cao hơn. Điều này chứng tỏ chiếu laser làm tăng quá trình phân chia tế bào giúp đẩy nhanh sự biểu mô hoá. Nhận xét này phù hợp với những công trình nghiên cứu cùng loại [2,5,6].

Việc điều trị bằng laser đơn thuần hay phối hợp, đều giúp loại trừ tế bào viêm trong biểu mô và giúp biểu mô nhanh gắn chặt với chân bì bên dưới.

4. Chiều dày trung bình của chân bì giác mạc bình thường khoảng 239 μ m, đã tăng lên gấp đôi ở nhóm chứng. Điều này chứng tỏ sau 30 ngày chân bì giác mạc vẫn còn hiện tượng phù nề. Trong khi đó ở các nhóm chiếu laser đơn thuần và phối hợp: chiều dày chân bì giác mạc xấp xỉ bình thường (bảng 3).

Hình ảnh vi thể: ở nhóm được điều trị các lá collagen đều, mảnh không phù nề, các keratocyte có sự phân bố và cấu trúc bình thường; các tế bào viêm đã bị loại trừ. Nhóm chứng mặc dù giác mạc đã hồi phục nhưng chưa hoàn toàn và chậm hơn. Theo chúng tôi sự đẩy nhanh quá trình hồi phục là do tác động đơn thuần của laser.

Tổn thương được không lan xuống sâu ở nhóm điều trị cũng khẳng định hiệu quả làm khu trú và làm hạn chế sự lan rộng tổ chức viêm dưới tác động của laser.

5. Việc sử dụng dung dịch kháng sinh clorocid 4 % rõ mắt để điều trị phối hợp trong công trình này không gây nên những hiệu quả khác biệt với việc chiếu laser đơn thuần, chúng tôi đã có bàn luận trong công trình nghiên cứu tương tự với đợt thực nghiệm ngắn ngày hơn [5].

6. Sau 30 ngày được chiếu laser không thấy có sự tổn thương nào của mống mắt, thể mi, võng mạc. Không những thế, việc chiếu laser còn làm giảm phù nề mống mắt, thể mi, làm tăng sinh biểu mô vùng rìa, làm nhanh chóng sạch tiền phòng (bảng 4). Như vậy việc chiếu laser tiếp tuyến với chiếu cong của giác mạc trong thực nghiệm của chúng tôi, không có tác hại gì đến các mô

nhảy cảm của nhãn cầu.

KẾT LUẬN

- Việc chiếu laser dài ngày trong công trình nghiên cứu này không làm tổn hại đến các mô của nhãn cầu.

- Bức xạ laser làm giảm quá trình viêm tại chỗ, kích thích sự hồi phục cấu trúc vi thể giác mạc thỏ vùng viêm loét.

- Không thấy sự khác biệt rõ ràng giữa 2 biện pháp điều trị: dùng laser đơn thuần và laser phối hợp với rở kháng sinh tại chỗ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Karu T.(1989): Laser Biostimulation a photobiological Phenomenon. *Journal of photochemistry and photobiology*. 3, 638-640.

2. Nguyễn Hồng Giang (1995): Nghiên cứu tác dụng của laser Helium-Neon phối hợp điều trị trong viêm loét giác mạc do nhiễm vi khuẩn. *Luận án PTS Y học*,

Hà Nội.

3. Đinh Thị Khánh (1985): Hiệu quả điều trị của Dekamyxin đối với những bệnh viêm kết mạc và loét giác mạc. *Luận án PTS Y học*, Hà Nội.

4. Vũ Công Lập (1989): Tác dụng của bức xạ laser He-Ne đối với cơ thể sống - cơ sở của phương pháp điều trị. *Tài liệu tập huấn ứng dụng laser He-Ne trong Y học*, Hà Nội, 37.

5. Nguyễn Khang Sơn (1996): Sự hồi phục cấu trúc vi thể giác mạc thỏ bị viêm loét do tụ cầu dưới ảnh hưởng của laser Helium-Neon. *Đề tài chuẩn hoá Thạc sĩ của Bác sĩ Nội trú*, Hà Nội.

6. Chentsova OB., Prokorva GL., Mozherenkov VP. (1991): Chiếu laser cường độ thấp trong điều trị tổn thương ở giác mạc, *Vestn-oftalmol*, Nov-Dec, 107(6), 23-26. (*Tiếng Nga*).

74 tuổi và mỗi nhóm tuổi chia 2 giới (nam, nữ), có thời gian cư trú tại địa phương ít nhất 5 năm.

- Tiêu chuẩn loại trừ: Người có dị tật, đối tượng mắc bệnh cấp tính tại thời điểm điều tra, đối tượng quá yếu, lẩn, điếc, phụ nữ có thai và phụ nữ cho con bú trong vòng 12 tháng sau đẻ.

- Địa điểm nghiên cứu:

* Tỉnh nghệ An: Xã Nghi Quang huyện Nghi Lộc

Xã Diễn Trung và xã Diễn Thịnh huyện Diễn Châu

* Tỉnh Hà Tĩnh: Xã Cẩm Huy và xã Cẩm Thăng huyện Cẩm Xuyên

Xã Thạch Thắng và xã Tượng Sơn huyện Thạch Hà

2. Phương pháp nghiên cứu:

a. Thiết kế nghiên cứu: Là một cuộc điều tra mô tả cắt ngang có phân tích

b. Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu

Công thức tính cỡ mẫu: Sử dụng công thức tính cỡ mẫu cho điều tra ngang, cỡ mẫu cần thiết cho mỗi tình huống là 185 người, cộng thêm dự phòng 10%, nên cỡ mẫu nghiên cứu tối thiểu là 205 người/ tỉnh. Vậy tổng số cỡ mẫu điều tra 2 tỉnh là 410 người.

Phương pháp chọn mẫu: Mỗi tỉnh chọn ngẫu nhiên lấy 2 huyện và mỗi huyện lại chọn ngẫu nhiên từ 1-2 xã để điều tra. Cách chọn mẫu tại mỗi xã được tiến hành như sau:

Bước 1: Yêu cầu y tế xã nơi được chọn điều tra lập danh sách toàn bộ đối tượng từ 25 đến 74 tuổi và danh sách được gửi tới Ban chỉ đạo điều tra.

Bước 2: Tiến hành chọn ngẫu nhiên (theo giới) để lấy ra đủ số đối tượng từ 25-74 tuổi cần điều tra của mỗi xã (trung bình 60 đối tượng/xã; 6 đối tượng/nhóm tuổi/giới). Việc thay thế đối tượng không thuộc tiêu chí điều tra được thực hiện theo nguyên tắc chọn bổ sung ngẫu nhiên.

c. Các kỹ thuật áp dụng trong nghiên cứu:

- Xác định cân nặng, chiều cao đứng, vòng eo, vòng mông. Tính BMI, phân loại BMI theo WHO, 2000 áp dụng cho người Châu Á.

- Đo huyết áp, phân loại huyết áp theo JNC-VI 1997

- Định lượng các thành phần lipid huyết thanh: cholesterol toàn phần, triglycerides, cholesterol- HDL; đường máu. Xác định lipid máu ở mức ngoài giới hạn bình thường. Theo tiêu chuẩn Trinder 1969: Cholesterol TP > 5,2 mmol/l; Triglycerides > 2,3 mmol/l; Cholesterol-HDL < 0,9 mmol/l. Đường máu bình thường khi ở mức 3,9-6,4 mmol/l

d. Xử lý số liệu: Số liệu được làm sạch trước khi nhập vào máy tính, sử dụng chương trình EPI DATA để nhập số liệu. Phân tích số liệu được tiến hành bằng chương trình SPSS 13.0 với các test thống kê y học.

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

1. Một số đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

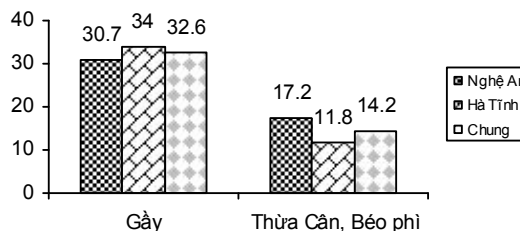
Bảng 1. Phân bố đối tượng nghiên cứu theo giới

	Nam		Nữ		Chung	
	n	%	n	%	n	%
Nghệ An	103	44.6	89	44.7	192	44.7
Hà Tĩnh	128	55.4	110	55.3	238	55.3
Tổng	231	100	199	100	430	100

Qua kết quả ở bảng 1 cho thấy: Tổng số đối tượng được nghiên cứu là 430 người, trong đó nam là 321 người, chiếm 53,7%, cao hơn so với nữ là 199 người chiếm 46,3%. Như vậy tổng số đối tượng điều tra là đảm

bảo so với cỡ mẫu tính toán.

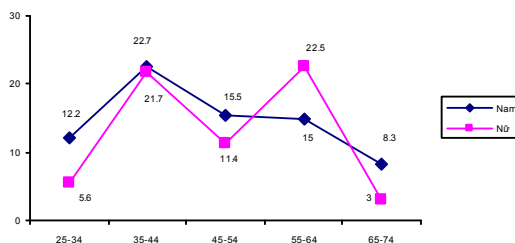
2. Tình trạng dinh dưỡng của đối tượng điều tra



Biểu đồ 1: Tình trạng dinh dưỡng của đối tượng theo khu vực (theo BMI)

Kết quả biểu đồ 2 cho thấy: Có tới 32,6% người trưởng thành thiếu năng lượng trường diễn, trong đó ở Hà Tĩnh là 34% chiếm tỷ lệ cao hơn Nghệ An (30,7%) với $p > 0,05$. Đặc biệt cũng có tới 14,2% người trưởng thành thừa cân béo phì không có sự khác biệt giữa 2 tỉnh Nghệ An và Hà Tĩnh với $p > 0,05$. Điều đó chứng tỏ tại những vùng điều kiện kinh tế còn nhiều khó khăn song song tồn tại những bệnh do thiếu dinh dưỡng gây ra thì cũng đã bắt đầu xuất hiện tỷ lệ đáng kể thừa cân. Đó là một trong những dấu hiệu của các bệnh do thừa dinh dưỡng và hậu quả của nó đang trở thành gánh nặng bệnh tật trong thời kỳ dinh dưỡng chuyển tiếp ở nước ta.

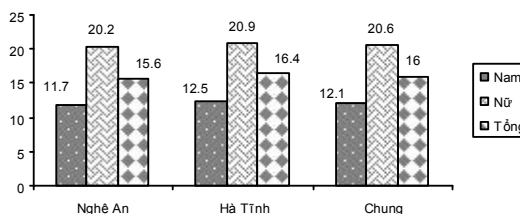
Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của Trần Đình Toán (2003) và một số tác giả nghiên cứu tại Thái Bình (2008)



Biểu đồ 2: Tình trạng thừa cân béo phì người trưởng thành theo giới (theo BMI)

Biểu đồ 2 cho thấy: Tỷ lệ thừa cân béo phì ở nam cao hơn nữ sự khác biệt này không có ý nghĩa với $p > 0,05$.

3. Xác định tỷ lệ rối loạn dinh dưỡng lipid



Biểu đồ 3: Tỷ lệ các đối tượng có VE/VM cao theo khu vực

Kết quả biểu đồ 3 cho thấy: Tỷ lệ đối tượng có vòng eo/vòng mông cao (16,0%) trong đó nữ là 20,6% cao