

NGHIÊN CỨU SỰ BIẾN ĐỔI CỦA TẾ BÀO NỘI MÔ MẢNH GHÉP GIÁC MẠC SAU PHẪU THUẬT GHÉP GIÁC MẠC XUYÊN

PHẠM THỊ THÙY LINH - Đại Học Y Hà Nội

TÓM TẮT

Nội mô giác mạc là lớp trong cùng của giác mạc, tiếp xúc trực tiếp với thủy dịch, có vai trò đặc biệt quan trọng đối với hình thể và chức năng giác mạc, duy trì sự suốt suốt của giác mạc nhờ hệ thống bơm nội mô. Sự sụt giảm đáng kể tế bào nội mô, trong và sau phẫu thuật ghép giác mạc (GGM) gây ra sự thiếu hụt chức năng của nội mô, tạm thời hoặc vĩnh viễn. Vì vậy, việc đánh giá sự biến đổi của tế bào nội mô sau phẫu thuật GGM là cần thiết, có ý nghĩa về theo dõi và tiên lượng kết quả điều trị.

Mục tiêu:

Nhận xét, đánh giá một số yếu tố ảnh hưởng đến sự biến đổi của tế bào nội mô mảnh ghép giác mạc sau phẫu thuật ghép giác mạc xuyên

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:

Đối tượng: Nghiên cứu được thực hiện trên 52 bệnh nhân được GGM tại Bệnh viện Mắt Trung ương.

Với độ tuổi trung bình là từ $43 \pm 15,1$; 30 bệnh nhân nam và 22 bệnh nhân nữ.

Phương pháp nghiên cứu: Trên lâm sàng, sự biến đổi của tế bào nội mô về số lượng và chất lượng được đánh giá thông qua: sinh hiển vi, đo chiều dày giác mạc, chụp huỳnh quang và sinh hiển vi phản gương.

Kết quả và kết luận:

Mật độ tế bào nội mô trước mổ của mảnh giác mạc hiến càng cao, nguy cơ mất tế bào nội mô sau phẫu thuật càng lớn.

Thời gian bảo quản kéo dài làm tăng nguy cơ thất bại ghép.

Những BN thuộc nhóm bệnh có tiên lượng xấu đối với phẫu thuật GGM (viêm loét giác mạc, sẹo dính, nhiều tân mạch, tái ghép...) sau phẫu thuật có nguy cơ mất nhiều tế bào nội mô giác mạc hơn những BN thuộc nhóm tiên lượng tốt (loạn dưỡng giác mạc, bệnh giác mạc hình chop...)

Việc sử dụng Ringer Lactale (RL) trong tái tạo tiền phòng ít gây mất tế bào nội mô mảnh ghép giác mạc hơn so với dung hơi.

Từ khóa: Tế bào nội mô giác mạc, Ghép giác mạc xuyên.

SUMMARY

Corneal endothelium is the innermost layer of the cornea, in direct contact with the fluid, which plays particularly important role for the form and function of the cornea, maintaining the transparency of the cornea due to the pumping system tissue. The significant decrease in endothelial cells, during and after penetrating keratoplasty (PKP) surgery, caused shortages of endothelial function, either temporarily or permanently. Therefore, the evaluation of the transformation of endothelial cells after PKP is necessary, meaningful monitoring and prognosis of treatment outcome.

Objectives:

Comment, rate a number of factors affecting the transformation of endothelial cells after PKP surgery.

Subjects and Methods:

1. **Subjects:** The study was performed on 52 patients at Cornea Department - VNIO. The average age was 43 ± 15.1 and 30 male patients and 22 female patients.

2. **Research Methods:** Clinically, the transformation of endothelial cells in quantity and quality were assessed through: biology microscopy, corneal thickness measurement, capturing fluorescence microscopy and confocal microscopy

Results and conclusions:

1. The higher preoperative corneal endothelial cell density, the greater endothelial cell loss after surgery.

2. Prolonged storage time increases the risk of graft failure.

3. The group of patients with poor prognosis for patients with PKP (corneal ulcers, scars with more neovascularization...) postoperative risk losing many corneal endothelial cells more than the patients in good prognosis group (corneal dystrophy, keratoconus...)

4. The use of Lactate Ringer (RL) in reforming anterior chamber causes endothelial cell loss less than PKP with bubble.

Keywords: Corneal endothelial cell, PKP

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ghép giác mạc (GGM) là phẫu thuật thay thế phần giác mạc bệnh lý bằng giác mạc lành. Ở Việt Nam, hiện nay ngành Mắt đã tiến hành trên 100 – 150 ca ghép giác mạc mỗi năm, tuy vậy chỉ mới đáp ứng được một phần so với số lượng khoảng 300.000 người mù (một hoặc hai mắt) do bệnh lý giác mạc đang chờ ghép và số lượng gia tăng thêm vài ngàn người mù mới hàng năm (theo thống kê tháng 12/2007).

Trong phẫu thuật GGM, để có kết quả thành công cao, sự toàn vẹn của tế bào nội mô giác mạc là quan trọng nhất.

Sự sụt giảm đáng kể tế bào nội mô, trong và sau phẫu thuật GGM gây ra sự thiếu hụt chức năng của nội mô, tạm thời hoặc vĩnh viễn.

Việc đánh giá sự biến đổi của tế bào nội mô sau phẫu thuật GGM là cần thiết, có ý nghĩa về theo dõi và tiên lượng kết quả điều trị.

Trên lâm sàng, sự biến đổi của tế bào nội mô về số lượng và chất lượng được đánh giá thông qua: sinh hiển vi, đo chiều dày giác mạc, chụp huỳnh quang và sinh hiển vi phản gương.

Ở nước ta, đã có một số nghiên cứu về tế bào nội mô, song chưa có nghiên cứu nào về sự biến đổi của tế bào nội mô sau ghép giác mạc. Bởi vậy chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu:

Đánh giá sự biến đổi của tế bào nội mô mảnh ghép giác mạc sau phẫu thuật ghép giác mạc xuyên.

Nhận xét một số yếu tố ảnh hưởng đến sự biến đổi của tế bào nội mô giác mạc sau ghép mạc.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. **Đối tượng nghiên cứu:** Là những bệnh nhân được mổ ghép giác mạc tại khoa kết giác mạc Bệnh viện mắt Trung Ương (BVMTW) trong thời gian từ tháng 03/2004 đến 10/2008.

Mảnh ghép giác mạc được chọn theo tiêu chuẩn EBAA.

Giác mạc từ các đối tượng được chọn sẽ được bảo quản trong môi trường vô trùng, thời gian bảo quản không quá 03 tuần. Việc đánh giá GM ghép được thực hiện bằng sinh hiển vi, tiên lượng, quyết định điều trị chủ yếu dựa vào mật độ tế bào nội mô.

Số lượng tế bào /mm ²	Tiên lượng
< 1500	Tiên lượng tồi, chủ yếu dùng trong ghép bảo tồn nhân cầu
1500 - 2000	Tiên lượng khá.
2000 - 2500	Tiên lượng tốt, có thể dùng để ghép quang học
2500 - 3000	Tiên lượng rất tốt
> 3000	Lý tưởng

Tất cả những giác mạc được sử dụng trong nghiên cứu này đều có mật độ tế bào nội mô trên 1500 tế bào /mm².

2. Phương pháp nghiên cứu:

Nghiên cứu được thực hiện dựa trên phương pháp mô tả lâm sàng có so sánh

Cỡ mẫu nghiên cứu:

$$n = \left(\frac{(z_{1-\alpha} + z_{1-\beta}) \cdot \delta}{(\mu_a - \mu_b)} \right)^2$$

Trong đó:

α	:	Mức ý nghĩa thống kê, lấy giá trị bằng 0.05
β	:	Lực của kiểm định, lấy giá trị bằng 0.2
δ	:	Độ lệch chuẩn
$\mu_a - \mu_b$:	Sai số theo mong muốn trong nghiên cứu

Dựa theo chỉ số AVE bình thường của các nghiên cứu trước $= 425 \mu m^2 (\mu_b) \cdot 5 = 32,8$

Giá thiết AVE sau phẫu thuật = $440 \mu\text{m}^2 (\mu_2)$, theo công thức trên ta tính được $n = 50$ mắt.

Các nghiên cứu được thực hiện tại Khoa Kết Giác Mạc – BVMTW.

Đánh giá về lâm sàng:

Bảng sinh hiển vi: Chọn lựa những BN có giác mạc trong, đánh giá được tình trạng nội mô.

Bảng máy đếm nội mô: Tình trạng nội mô giác mạc mảnh ghép đánh giá được sớm nhất sau mổ GGM là 1 tháng. Dùng khung phân tích động, nghiên cứu vùng trung tâm giác mạc, đánh dấu một số nhất định các tế bào nguyên vẹn liên tục (tối thiểu 50 tế bào). Ghi nhận các thông số:

- Mật độ tế bào (CD): số tế bào * $10^6/\text{mm}^2$
- Kích thước trung bình tế bào (AVE): μm^2
- Tỉ lệ tế bào sáu cạnh (6A): %
- Hệ số biến thiên về diện tích tế bào (CV): %
- Tỉ lệ phần trăm tế bào mất sau phẫu thuật (CL):

$$CL = \frac{(CD \text{ trước mổ} - CD \text{ sau mổ})}{CD \text{ trước mổ}} * 100$$

Giữa 2 lần đánh giá:

$$CL = \frac{(CD \text{ trước} - CD \text{ sau})}{CD \text{ trước}} * 100$$

Các xét nghiệm chức năng:

BN hồi cứu được thu thập thông tin thị lực, nhãn áp qua Hồ sơ bệnh án, Sổ Y Bạ, và quá trình khám lại tiếp theo.

Xử lý số liệu: Các kết quả nghiên cứu được xử lý theo phần mềm thống kê Stata 10.1. Trong đó:

So sánh các giá trị trung bình, tỉ lệ phần trăm bằng test T student và test Barlett.

Dùng mô hình tuyến tính của Cox để đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố trước, trong và sau mổ đến kết quả của phẫu thuật ghép giác mạc thông qua tỉ suất chênh (OR), với khoảng tin cậy bằng 95%.

Tỉ suất chênh (OR)	Đánh giá
OR = 1	Các yếu tố trước, trong hoặc sau mổ không ảnh hưởng đến kết quả phẫu thuật GGM
OR < 1	Các yếu tố trước, trong hoặc sau mổ làm giảm nguy cơ thất bại ghép. Mức độ giảm bằng: $1 - [OR]$
OR > 1	Các yếu tố trước, trong hoặc sau mổ làm giảm nguy cơ thất bại ghép. Mức độ giảm bằng: $[OR] - 1$

KẾT QUẢ

1. Sự biến đổi của tế bào nội mô giác mạc sau mổ ghép giác mạc qua các thời điểm theo dõi

Biến đổi về mật độ tế bào (CD):

Trước mổ, mật độ trung bình tế bào là $2548,2 \pm 324,3$ tế bào/ mm^2 .

Sau mổ 03 tháng, mật độ tế bào giảm đáng kể xuống còn $1736,5 \pm 615,3$ tế bào/ mm^2 ($p < 0,001$). So với thời điểm ban đầu và so với các thời điểm liền kề, mật độ tế bào tiếp tục giảm có ý nghĩa thống kê sau mổ từ 03 đến 06 tháng và sau mổ trên 06 tháng.

Tuy nhiên, sự sụt giảm mật độ tế bào nội mô giác mạc giữa thời điểm sau mổ trên 06 tháng so với thời điểm liền kề trước đó là không đáng kể ($p > 0,05$).

Biến đổi về diện tích trung bình tế bào nội mô (AVE):

Sau mổ 03 tháng, diện tích trung bình tế bào là $667,3 \pm 287,1 \mu\text{m}^2$. Sự gia tăng về diện tích tế bào là đáng kể qua các thời điểm 03 đến 06 tháng và trên 06 tháng sau mổ ($p < 0,05$).

Biến đổi về tỉ lệ tế bào sáu cạnh (6A):

Tỉ lệ tế bào diện tích sáu cạnh tăng không đáng kể giữa thời điểm sau mổ 03 đến 06 tháng với thời điểm liền kề trước đó và giảm không có ý nghĩa thống kê giữa thời điểm trên 06 tháng sau mổ với thời điểm sau mổ 03 tháng và 3-6 tháng ($p > 0,05$).

Hệ số biến thiên và diện tích tế bào (CV):

Sau 06 tháng có sự gia tăng về hệ số biến thiên diện tích tế bào so với thời điểm sau mổ 03 tháng và 03 đến 06 tháng, song sự khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Tỉ lệ mất tế bào sau phẫu thuật (CL):

Tỉ lệ mất tế bào tăng khi chênh lệch về mật độ tế bào tăng giữa các thời điểm nghiên cứu. Sau mổ 03 tháng, lượng tế bào nội mô bị giảm sút là $30,6 \pm 25,6\%$.

Tương ứng với sự giảm có ý nghĩa thống kê mật độ tế bào qua các thời điểm từ 03 đến 06 tháng, trên 06 tháng sau mổ, tỉ lệ mất tế bào cũng gia tăng đáng kể theo thời gian.

Trong nghiên cứu này, có 06 mắt có tỉ lệ mất tế bào nội mô so với trước mổ nhỏ hơn 0 do có sự tăng mật độ tế bào nội mô vùng trung tâm, trong đó, sau mổ 03 tháng có 5 mắt, tăng trung bình $10,7 \pm 6,7\%$ ($p < 0,001$), 1 mắt sau mổ 4,3 tháng, tăng $20,1\%$ ($p < 0,05$) và cũng mất đó tăng $11,3\%$ sau 10,5 tháng.

2. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự biến đổi nội mô sau phẫu thuật:

Các yếu tố: Bao gồm các yếu tố trước, trong và sau phẫu thuật.

Trước phẫu thuật:

Yếu tố người hiến giác mạc:

Tuổi trung bình của nhóm người hiến mắt là $64,2 \pm 10,6$, người trẻ nhất 38 tuổi, người già nhất 97 tuổi. Nhóm dưới 65 tuổi chiếm $40,4\%$, từ 65 tuổi trở lên chiếm $59,6\%$. Tỉ lệ nam/nữ xấp xỉ 1,6.

Chủ yếu nguyên nhân tử vong của nhóm người hiến giác mạc là do ung thư và các bệnh nội khoa (chiếm $61,5\%$).

Phần lớn thời gian tính từ lúc người hiến chết đến lúc bảo quản giác mạc trong nghiên cứu này là dưới 12 tiếng.

Thời gian bảo quản mắt trung bình là 10,4 ngày. Chỉ có 03 mắt ($5,8\%$) được bảo quản quá 02 tuần.

Tất cả các giác mạc được lựa chọn đều tình trạng biểu mô, nhu mô, nội mô tốt, không có giác mạc nào có CD < 1500 tế bào/ mm^2 , trong đó số giác mạc có CD > 3000 tế bào/ mm^2 , chiếm $11,5\%$.

Tình trạng bệnh nhân:

Có 9/52 BN có tiền sử ghép giác mạc, bao gồm: 04 người ghép lần hai ($7,7\%$: 03 mắt đã ghép điều trị viêm loét giác mạc, 01 mắt đã ghép điều trị loạn

dưỡng sau mổ TTT) và 5 trường hợp đã ghép giác mạc điều trị loạn dưỡng lưới và đốm ở mắt bên kia (9,6%).

Trong 52 mắt mổ nhóm được tiên lượng tốt sau mổ ghép giác mạc có 38 mắt chiếm 73,1%, bao gồm: bệnh giác mạc hình chóp (05 mắt: 9,6%) và các hình thái loạn dưỡng giác mạc trong đó, loạn dưỡng dạng đốm (19 mắt: 36,7%), loạn dưỡng dạng lưới (10 mắt: 19,2%), loạn dưỡng nội mô Fuch's (2 mắt: 3,8%), loạn dưỡng hạt (1 mắt: 1,9%) và loạn dưỡng nội mô giác mạc bẩm sinh di truyền (1 mắt: 1,9%).

Nhóm được coi là có tiên lượng xấu sau mổ GGM có 14 mắt, chiếm 26,9%, trong đó, các hình thái viêm loét giác mạc nặng, thủng, dọa thủng: gồm 7 mắt (do nấm: 5 mắt: 9,8%, Acanthamoeba: 1 mắt: 1,9%, vi khuẩn: 1 mắt: 1,9%), các trường hợp đục màng ghép sau ghép điều trị viêm loét giác mạc (do Herpes: 2 mắt: 3,8%, viêm loét giác mạc do nấm: 01 mắt: 1,9%) và sau ghép điều trị loạn dưỡng giác mạc sau mổ TTT (1 mắt: 1,9%), các trường hợp sẹo giác mạc sau viêm loét giác mạc kèm dính mỏng mắt – giác mạc do các tác nhân khác nhau (do Herpes: 2 mắt: 3,8%, viêm loét giác mạc do nấm: 1 mắt: 1,9%).

Phần lớn các mắt trước ghép có nhãn áp bình thường (43 mắt: 95,5%), nhãn áp trên 24mmHg có 2 mắt (4,5%). Có 7 mắt loét giác mạc không đo được nhãn áp trước mổ.

Trước khi mổ có 02 trường hợp đã mổ lấy TTT, đặt IOL hậu phòng, chiếm 3,9%.

Trong phẫu thuật:

Phần lớn mảnh ghép có kích thước từ 6,5 – 8mm, chiếm 82,7%. 01 trường hợp ghép điều trị loét giác mạc do nấm có kích thước mảnh ghép là 6,5mm, chiếm 1,9%.

Có 9 trường hợp mảnh ghép đường kính lớn hơn 8,5mm, trong đó, có mắt (7,7%) ghép điều trị viêm loét giác mạc (do nấm: 03 mắt; vi khuẩn: 01 mắt), 2 mắt điều trị đục màng ghép sau ghép điều trị viêm loét giác mạc do Herpes (3,8%) và 03 mắt ghép điều trị loạn dưỡng đốm (5,8%).

7,7% trường hợp ghép giác mạc có phối hợp mổ lấy TTT ngoài bao, trong đó, đặt IOL trong bao (3 mắt: 5,8%), treo IOL + cắt dịch kính trước (1 mắt: 1,9%).

Phần lớn các trường hợp sử dụng hơi và Ringer Lactate để tái tạo tiền phòng; 49 mắt, chiếm 94,3%.

Trong 3 ca sử dụng Healon, có 2 ca ghép điều trị loét giác mạc do nấm (1 mắt: 1,9%), do Acanthamoeba (1 mắt: 1,9%), và 1 ca ghép điều trị đục màng ghép sau ghép điều trị loét giác mạc do nấm (1,9%).

* Trong nghiên cứu này không gặp trường hợp nào biến chứng sau mổ.

Sau phẫu thuật:

Biến chứng sớm:

Biến chứng sớm có 07 trường hợp, chiếm 13,3%, trong đó, xuất hiện ngày thứ nhất sau mổ có: 1 ca tuột chỉ sau mổ ghép điều trị loét giác mạc do nấm (1,9%), 1 ca XHTP sau ghép điều trị sẹo loét giác mạc do nấm (1,9%).

Có 02 ca áp xe dọc chân chỉ sau ghép điều trị loét giác mạc do nấm (1,9%), xuất hiện khoảng ngày thứ

hai sau mổ, 01 ca xuất hiện dính trước sau mổ ghép giác mạc do vi khuẩn 03 ngày, 02 ca chậm biểu mô hóa sau ghép điều trị loạn dưỡng giác mạc dạng lưới (3,8%).

Biến chứng muộn:

Thời gian xuất hiện biến chứng muộn trung bình là $14,4 \pm 5,9$ tháng. Tăng nhãn áp có 04 trường hợp (7,7%), gồm 02 mắt ghép điều trị loạn dưỡng đốm, 01 mắt ghép điều trị sẹo dính sau loét giác mạc do nấm và 01 mắt ghép điều trị loét giác mạc do nấm, xuất hiện sau mổ khoảng $8,1 \pm 2,3$ tháng.

Đục TTT xuất hiện khoảng $5,3 \pm 2,5$ tháng sau mổ với 06 mắt (11,54%).

Thời gian trung bình xuất hiện thải ghép là 21,38 tháng sau mổ.

02 trường hợp thất bại ghép (3,8%). 01 trường hợp ghép điều trị loét giác mạc dọa thủng do vi khuẩn, thất bại ghép sau mổ 5,5 tháng. Trường hợp 2 ghép điều trị loạn dưỡng nội mô Fuchs', thất bại ghép sau mổ 19 tháng. 02 trường hợp này sau đó bị loại khỏi nghiên cứu.

Điều trị biến chứng:

Các trường hợp tăng nhãn áp, thải ghép được điều trị nội khoa, đường toàn thân và tại chỗ.

01 trường hợp tuột chỉ ngày thứ nhất sau mổ, được mổ khâu lại ngay trong ngày.

Phẫu thuật mổ lấy TTT ngoài bao + đặt IOL trong bao được thực hiện trên 03 mắt, sau ghép giác mạc trung bình 4,5 tháng.

Ảnh hưởng của các yếu tố lên sự biến đổi nội mô giác mạc qua các giai đoạn:

Ảnh hưởng của các yếu tố trước mổ đến tỉ lệ mất tế bào:

Nhóm trên 65 tuổi có tỉ lệ mất tế bào cao hơn nhóm dưới 65 tuổi, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê.

Tỉ lệ mất tế bào nội mô giác mạc tăng tỉ lệ thuận với thời gian từ lúc chết đến lúc bảo quản, sự khác biệt này rõ rệt trong khoảng thời gian từ 3 – 6 tháng sau mổ.

Thời gian bảo quản càng dài, tỉ lệ mất tế bào nội mô sau mổ càng tăng, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê.

Mật độ tế bào nội mô ban đầu càng cao, tỉ lệ giảm tế bào nội mô sau mổ càng nhiều, sự khác biệt rõ rệt trong vòng 06 tháng sau mổ.

Nhóm BN trẻ có tỉ lệ mất tế bào nội mô giác mạc sau mổ cao hơn, tuy chưa có ý nghĩa thống kê.

Mức độ giảm mật độ tế bào nội mô tăng ở nhóm được coi là có tiên lượng xấu đối với GGM ($p < 0,05$), đặc biệt ở nhóm đục màng ghép phải ghép lại, giảm tới trên 60% so với mật độ tế bào ban đầu ($p < 0,05$).

Ảnh hưởng của các yếu tố trong phẫu thuật đến biến đổi mật độ tế bào:

Kích thước mảnh ghép tăng tỉ lệ thuận với mức độ giảm mật độ tế bào nội mô giác mạc, tuy chưa có ý nghĩa thống kê.

Kỹ thuật phối hợp làm tăng tổn hại nội mô giác mạc, tuy nhiên chưa có ý nghĩa thống kê.

Tái tạo tiền phòng bằng Ringer Lactate ít gây tổn hại tế bào nội mô hơn cả, tuy nhiên chưa có ý nghĩa thống kê.

Ảnh hưởng của các yếu tố sau phẫu thuật đến biến đổi mật độ tế bào:

Các biến chứng sau mổ bao gồm các biến chứng sớm và muộn (theo mục III-2 – I-II-III). Nghiên cứu này chưa tìm ra được mối liên quan chặt chẽ giữa sự xuất hiện các biến chứng và mức độ giảm mật độ tế bào.

Các phương pháp điều trị phẫu thuật bao gồm: khâu lại mép mổ, lấy TTT đặt IOL hậu phòng. Mối tương quan giữa việc điều trị các biến chứng sau mổ với biến đổi mật độ tế bào nội mô chưa rõ ràng ($p > 0.05$).

Ảnh hưởng của các yếu tố trước, trong và sau phẫu thuật đến biến đổi mật độ tế bào nội mô theo mô hình tuyến tính của Cox:

Yếu tố ảnh hưởng	p	OR	95,0% khoảng tin cậy của OR
Mật độ TB ban đầu GM	0,046	1,002	1,000 – 1,005
Thời gian chết – bảo quản	0,315	0,925	0,795 – 1,077
Thời gian bảo quản	0,038	0,785	0,625 – 0,987
Tuổi người cho	0,196	0,925	0,962 – 1,205
Tuổi BN	0,238	0,974	0,931 – 1,018
Nhãn áp	0,424	0,882	0,647 – 1,201
Chẩn đoán lâm sàng	0,046	0,162	0,017 – 1,580
Kích thước mảnh ghép	0,157	0,175	0,016 – 1,963
Phẫu thuật phối hợp	0,588	1,949	0,400 – 19,95
Thải ghép	0,203	1,118	0,941 – 1,329
Tái tạo TP bằng RL	0,056		
Tái tạo TP bằng hơi so với RL	0,032	30,173	13,46 – 67,63
Tái tạo TP bằng Healon so với RL	0,399	3,080	0,226 – 41,974

Mật độ tế bào nội mô tăng 1 tế bào /mm² sẽ làm tăng khả năng mất nội mô dẫn đến thất bại ghép sau phẫu thuật lên 2%, sau khi đã hiệu chỉnh các yếu tố khác.

Tăng 1 mắt thuộc nhóm tiên lượng tốt (loạn dưỡng, giác mạc chóp) sẽ làm tăng khả năng thành công của phẫu thuật lên khoảng 83,8%.

Giảm thời gian bảo quản 1 ngày sẽ làm giảm nguy cơ thất bại ghép khoảng 21,5%.

Tái tạo tiền phòng bằng Ringer Lactate làm giảm nguy cơ mất nội mô dẫn đến thất bại ghép khoảng 30 lần so với dùng hơi.

BÀN LUẬN

1. Sự biến đổi của tế bào nội mô giác mạc sau mổ ghép giác mạc qua các thời điểm theo dõi

Biến đổi về mật độ tế bào (CD):

Các đối tượng BN trong nghiên cứu này có mật độ tế bào nội mô giảm rõ rệt trong vòng 06 tháng sau mổ so với trước mổ và thời điểm liền kề ($p < 0.001$). Sau 06 tháng sự sụt giảm tế bào nội mô vẫn có ý nghĩa thống kê so với trước mổ ($p < 0.001$), cho thấy sự di chuyển của tế bào nội mô về phía vùng chuyển tiếp

giữa mảnh ghép và nền ghép vẫn tiếp tục, tuy nhiên, sự sụt giảm mật độ tế bào nội mô có xu hướng chậm lại, thể hiện ở sự chênh lệch mật độ không đáng kể so với thời điểm liền kề trước đó.

Mật độ tế bào nội mô sau mổ giảm khoảng chủ yếu trong vòng 07 tháng đến 01 năm sau mổ, sau đó có xu hướng ổn định dần. Thời gian đạt tới sự ổn định này có thể từ 3 năm đến 10 năm sau mổ.

Biến đổi về diện tích trung bình tế bào nội mô (AVE):

Trong nghiên cứu này, tương ứng với sự sụt giảm mật độ tế bào nội mô, diện tích tế bào tăng mạnh trong vòng 03 – 06 tháng đầu sau mổ so với thời điểm sau mổ khoảng 03 tháng ($p < 0.005$) và tiếp tục tăng ở giai đoạn sau mổ trên 06 tháng, tuy nhiên với mức độ giảm hơn.

Biến đổi về tỉ lệ tế bào sáu cạnh (6A):

Trong nghiên cứu của chúng tôi, có sự biến động về tỉ lệ tế bào 6 cạnh: tăng nhẹ trong khoảng từ 3 – 6 tháng sau mổ, sau đó giảm ở khoảng thời gian sau mổ trên 6 tháng đều với sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Theo Bourne (2001), sau mổ 3 tháng, tỉ lệ tế bào 6 cạnh khoảng $60 \pm 10\%$, giảm 8% so với trước mổ, tỉ lệ này tiếp tục tăng ở các thời điểm sau mổ 1 năm ($62 \pm 9\%$), 3 năm ($64\% \pm 11\%$), sau đó giảm dần ở các thời điểm 5 năm ($61 \pm 13\%$), 10 năm ($56 \pm 12\%$) và 15 năm ($55 \pm 11\%$). Thời điểm quan sát của chúng tôi chủ yếu tập trung ở nhóm bệnh nhân sau mổ trong vòng 01 năm, do đó cần thời gian nghiên cứu cũng như số lượng BN lớn hơn nữa để có được những kết luận chính xác về sự biến đổi về tỉ lệ tế bào 6 cạnh.

Hệ số biến thiên về diện tích tế bào (CV):

Theo Bourne và cộng sự (2001), hệ số biến thiên về diện tích tế bào trước mổ ghép giác mạc xuyên là $27 \pm 5\%$, sau mổ 02 tháng là $26 \pm 5\%$ và sau mổ trên 01 năm là $27,83 \pm 7,8\%$. Khoảng dao động hệ số biến thiên trong nghiên cứu của chúng tôi lớn hơn, có thể do cỡ mẫu nhỏ hơn, khoảng cách giữa các lần đo của chúng tôi gần nhau hơn nên thể hiện được chi tiết hơn sự biến động về hệ số biến thiên diện tích tế bào.

Tỉ lệ mất tế bào nội mô sau phẫu thuật (CL):

Trong nghiên cứu của chúng tôi trên các BN có 6 trường hợp (2 mắt ghép điều trị loạn dưỡng giác mạc dạng lưới, 4 mắt ghép điều trị loạn dưỡng đốm), tỉ lệ mất tế bào so với trước mổ nhỏ hơn 0 do tạt mật độ tế bào nội mô vùng trung tâm rải rác ở các thời điểm sau mổ khoảng 3 tháng; 4,3 tháng và 10,5 tháng. Tuổi trung bình của nhóm bệnh nhân này là 45, trong đó người trẻ nhất 34 tuổi, người già nhất 59 tuổi. Đặc biệt, ở trường hợp BN 34 tuổi có sự gia tăng mật độ nội mô vùng trung tâm giác mạc liền tục tại các thời điểm 1,7 tháng, 4,3 và 10,5 tháng.

Trong một số nghiên cứu khác cũng ghi nhận sau mổ 2 tháng, mức độ mất tế bào dao động từ -27% đến 88%.

Một trong những nghiên cứu đó nhận thấy khoảng 10% bệnh nhân sau GGM có tăng mật độ tế bào nội mô vùng trung tâm, mức độ tăng khoảng 16 đến 21% và tập trung chủ yếu ở nhóm từ 10 đến 14 tháng tuổi.

Giả thiết có sự trao đổi tế bào nội mô giữa mảnh ghép và nền ghép đã được nhiều tác giả công nhận.

2. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự biến đổi nội mô sau phẫu thuật.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi chọn mật độ tế bào (CD) và sự biến đổi về mật độ tế bào (biểu hiện qua tỉ lệ CL) để đánh giá vai trò ảnh hưởng của các yếu tố trước, trong và sau phẫu thuật.

Ảnh hưởng của các yếu tố trước phẫu thuật:

Tuổi của người hiến:

Tuổi càng cao, số lượng cũng như chất lượng tế bào nội mô càng giảm dần, dễ bị tổn thương và khó phục hồi sau sang chấn.

Mật khác, tuổi người cho càng nhỏ, nguy cơ thất bại ghép sau mổ càng cao do mật độ nội mô quá cao của mảnh ghép sẽ làm tăng nguy cơ thải ghép

Tuổi trung bình của nhóm người hiến trong nghiên cứu của chúng tôi là 64,2 ± 10,6; trong đó trên 50% thuộc nhóm trên 65 tuổi. Do chưa có sự dao động lớn về tuổi của người hiến trong nghiên cứu này nên chưa thấy được rõ ràng mối tương quan giữa yếu tố tuổi người hiến và sự biến đổi mật độ tế bào nội mô giác mạc sau ghép.

Thời gian từ lúc chết đến lúc bảo quản:

Trong nghiên cứu của chúng tôi, mức độ giảm mật độ tế bào nội mô giác mạc tăng tỉ lệ thuận với thời gian từ lúc chết đến lúc bảo quản, sự khác biệt này rõ rệt hơn trong khoảng thời gian 6 tháng sau mổ. Nhiều nghiên cứu cho rằng, những biến đổi về nội mô của giác mạc do yếu tố bảo quản được biểu hiện rõ trong khoảng thời gian 3 tháng sau GGM. Kết quả của chúng tôi phần nào có điểm tương đồng của các tác giả khác.

Thời gian bảo quản mảnh ghép:

Phần lớn giác mạc hiến trong nghiên cứu của chúng tôi có thời gian bảo quản dưới 14 ngày, do đó, có thể nói, sau khi các yếu tố nguy cơ khác đã được hiệu chỉnh, sự khác biệt giữa các đối tượng nghiên cứu thường sẽ khó nhận thấy rõ ràng.

Mật độ tế bào nội mô mảnh giác mạc trước ghép:

Nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy, mật độ tế bào nội mô ban đầu càng cao, tỉ lệ mất tế bào sau mổ càng lớn.

Trong các BN nghiên cứu, tất cả các mảnh giác mạc hiến đều có mật độ tế bào nội mô trên 1500 tế bào/mm². Mặc dù vậy, sau khi hiệu chỉnh các yếu tố ảnh hưởng lên sự biến đổi tế bào nội mô sau GGM vẫn tìm được mối tương quan có ý nghĩa thống kê giữa mật độ tế bào ban đầu của mảnh GGM người cho và nguy cơ giảm tế bào nội mô mảnh ghép dẫn đến thất bại ghép.

Yếu tố người nhận giác mạc:

BN càng trẻ tỉ lệ giảm mật độ tế bào nội mô giác mạc sau mổ có xu hướng càng cao, tuy nhiên chưa có ý nghĩa thống kê.

Bệnh lý trước mổ:

Trong nghiên cứu của chúng tôi, mức độ giảm mật độ tế bào nội mô tăng ở nhóm được coi là có tiên lượng xấu đối với GGM ($p < 0.05$).

Nhãn áp trước mổ:

Nghiên cứu của chúng tôi chưa tìm được mối liên quan giữa nhãn áp trước mổ và sự biến đổi của tế bào nội mô giác mạc sau mảnh ghép.

Ảnh hưởng của các yếu tố trong phẫu thuật:

Kích thước mảnh ghép:

Chúng tôi nhận thấy, kích thước mảnh ghép tăng tỉ lệ thuận với mức độ giảm mật độ tế bào nội mô giác mạc, tuy vậy sự khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê.

Kỹ thuật phối hợp:

Các kỹ thuật phối hợp: lấy TTT, đặt IOL (tiền phòng, khâu vào mỏng mắt, trong bao, treo TTT) gây tổn hại nội mô ở các mức độ khác nhau, trong đó đặt IOL tiền phòng, dễ gây phản ứng viêm dai dẳng tại vùng bề mặt dính góc, tăng nhãn áp, thải ghép, thất bại ghép.

Chất liệu tái tạo tiền phòng:

Sử dụng Ringer Lactate để tái tạo tiền phòng có thể làm bớt nguy cơ tổn hại nội mô.

Ảnh hưởng của các yếu tố sau phẫu thuật:

Biến chứng sau mổ:

Trong nghiên cứu này, chúng tôi chưa tìm được mối tương quan có ý nghĩa thống kê giữa yếu tố nhãn áp sau mổ và sự biến đổi của tế bào nội mô mảnh ghép.

Các phương pháp phẫu thuật điều trị biến chứng:

Chúng tôi chưa tìm được mối quan hệ chặt chẽ giữa phẫu thuật điều trị biến chứng sau mổ GGM với biến đổi của tế bào nội mô mảnh ghép.

KẾT LUẬN

Trong khoảng thời gian từ tháng 11/2007 đến tháng 11/2008, nghiên cứu 52 BN với 52 mắt được mổ GGM, chúng tôi bước đầu có một số kết luận sau:

1. Sự biến đổi của tế bào nội mô sau phẫu thuật GGM xuyên.

Sau phẫu thuật GGM xuyên có sự biến đổi về số lượng và chất lượng của tế bào nội mô mảnh ghép:

Giảm đáng kể mật độ tế bào nội mô giác mạc tương ứng với tăng tỉ lệ mất tế bào.

Tăng rõ rệt kích thước tế bào nội mô giác mạc.

Tỉ lệ tế bào 6 cạnh và hệ số biến thiên về diện tích tế bào dao động chưa có ý nghĩa thống kê

2. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự biến đổi tế bào nội mô sau phẫu thuật.

Mật độ tế bào nội mô trước mổ của mảnh giác mạc hiến càng cao, nguy cơ mất tế bào nội mô sau phẫu thuật càng lớn (OR = 1,002; 95% CI: 1 – 1,005; $p = 0,046$).

Thời gian bảo quản kéo dài làm tăng nguy cơ thất bại ghép (OR = 0,78; 95% CI: 0,62 – 0,98; $p=0,038$).

Những BN thuộc nhóm bệnh có tiên lượng xấu đối với phẫu thuật GGM, sau phẫu thuật có nguy cơ mất nhiều tế bào nội mô giác mạc hơn so với những BN thuộc nhóm tiên lượng tốt (OR=0,162; 95% CI: 0,017 – 1,58; $p=0,046$).

Việc sử dụng Ringer Lactate trong tái tạo tiền phòng ít gây mất tế bào nội mô mảnh GGM hơn so với dùng hơi (OR= 30,2; 95% CI: 13,4-67,6; $p=0,03$).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn Mắt – Trường Đại Học Y Hà Nội (2005): “Bài giảng nhãn khoa – Bản phần trước nhãn cầu”, NXB Y học.
2. Hoàng Minh Châu (1992): “Nghiên cứu lâm sàng và thực hiện phương pháp ghép giác mạc nông – xuyên”, Luận án Phó tiến sĩ khoa học Y Dược, trường ĐH Y Hà Nội.
3. Nguyễn Hữu Châu, Nguyễn Chí Hưng, Nguyễn Phước Thị Lang (1999): “Số tế bào nội mô giác mạc ở người Việt Nam (TP.HCM)”, Nội san Nhãn khoa, số 2, Tr 31-38.
4. Nguyễn Thị Thu Thủy (2004): “Nghiên cứu sự biến đổi tế bào nội mô giác mạc sau phẫu thuật thể tinh bằng máy hiển vi phản gương”, Luận văn tốt nghiệp bác sỹ nội trú các bệnh viện, Trường ĐH Y Hà Nội.
5. Bourne W.M (2001): “ Cellular changes in transplanted human corneas” Cornea, Vol20, No6, pp 560 – 569.
6. Bourne W.M., Nelson L.R., Hodge D.O (1994): “ Continued endothelial cell loss ten years after lens implantation”, Ophthalmology, Vol 101, No 6, pp 1014 – 1023.
7. Daniel Bohringer, Thomas Reinhard, Helga Spelsberg, Rainer Sundmacher (2002): “ Characterised in a homogeneous group of patients”, Br.J.Ophthalmol, Vol 86, pp 35 – 38.
8. Roitt, et. Al (2001): “ MHC: Genetics and role in transplantation”, Immunology, Vol 6, pp 95 – 100 & 385 – 398.
9. Saini Jagjitt S, Reddy Madhukar K, Sharma Savitri, Wagh Sangeeta (1996): “ Donor corneal tissue evaluation”, Current Ophthalmology, Vol 44, pp 3-13.