

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CỦA BẢNG NANO BẠC LÊN QUÁ TRÌNH ĐIỀU TRỊ VẾT THƯƠNG BỎNG

Trần Thị Ngọc Dung¹, Nguyễn Hoài Châu¹, Đào Trọng Hiền¹,
Nguyễn Thúy Phượng¹, Ngô Quốc Bưu¹, Nguyễn Gia Tiến²

¹*Viện Công nghệ môi trường*

²*Viện Bông quốc gia*

Đến Tòa soạn ngày 15/3/2010

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

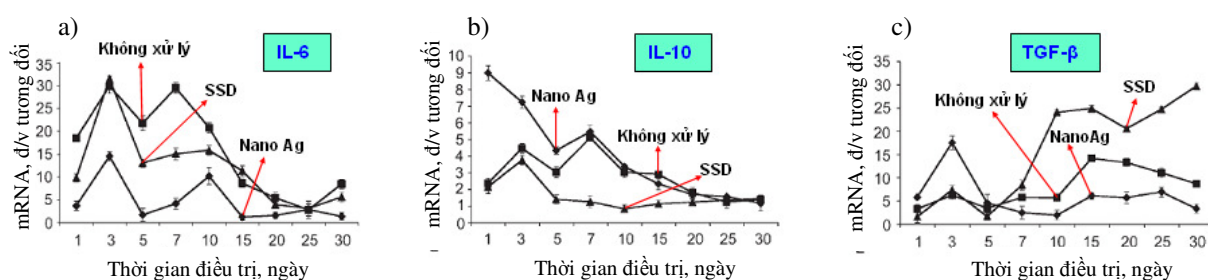
Điều trị vết thương là một quá trình diễn biến phức tạp và đã từ lâu luôn là đối tượng nghiên cứu của các nhà y học. Mục tiêu cuối cùng của điều trị tổn thương là sự phục hồi nhanh và không để lại di chứng. Quá trình điều trị diễn ra thông qua một loạt các sự cố chồng chéo lên nhau như keo tụ, viêm nhiễm, tăng trưởng và tái tạo mô [1]. Để cho quá trình phục hồi tổn thương có thể diễn ra một cách hoàn hảo, một số hợp chất hóa học đặc biệt – gọi là các chất kích thích phân bào (cytokin) – xuất hiện để gửi tín hiệu đến các tế bào [2, 3]. Có thể dẫn ra ở đây một số chất cytokin điển hình thường gặp trong điều trị vết thương như: TGF- β (yếu tố tăng trưởng biến đổi - transforming growth factor), VEGF (yếu tố tăng trưởng nội mạc huyết quản - vascular endothelial growth factor), interleukin IL-6, IL-10, interferon IFN- γ , v.v... Các chất này có vai trò quan trọng trong các quá trình khơi mào, duy trì và điều tiết các phản ứng xảy ra sau khi tổn thương xuất hiện. Chính các chất này là nguyên nhân làm cho tình trạng vết thương có thể xấu đi, hình thành sẹo lồi, hoặc xuất hiện các phản ứng viêm không kiểm soát được [3 - 5]. Chẳng hạn trong các trường hợp sẹo lồi hoặc sẹo siêu dinh dưỡng người ta phát hiện thấy thành phần cytokin TGF- β gia tăng đáng kể, trong khi ở các tổn thương bào thai không để lại sẹo, thì yếu tố này giảm hẳn. Như vậy, nếu tìm được một tác nhân nào đó có khả năng ức chế yếu tố TGF- β thì chúng ta có thể kiểm soát được quá trình phục hồi vết thương. Interleukin IL-6 là một cytokin hỗ trợ phản ứng viêm (pro-inflammatory), được biết đến như là một tác nhân kích thích quá trình phát triển tràn lan của các nguyên bào sợi [6]. Chẳng hạn, trong tổn thương bào thai, hàm lượng IL-6 thường không nhiều, nhưng nếu chúng được đưa thêm từ ngoài vào thì tổn thương sẽ để lại sẹo. Như vậy có thể nói sự suy giảm lượng IL-6 trong tổn thương bào thai cũng là điều kiện cần thiết để phục hồi nhanh tổn thương không để lại di chứng. Trong khi đó IL-10 lại là một cytokin kháng viêm (anti-inflammatory), giữ vai trò quan trọng trong việc điều tiết sự hiện diện của các đại thực bào và bạch cầu trung tính trên tổn thương viêm, cụ thể là ức chế các cytokin hỗ trợ viêm trên tổn thương [7]. Một trong những tác dụng đặc biệt của cytokin IL-10 là khả năng ức chế quá trình tổng hợp các cytokin hỗ trợ viêm trong đó có IL-6 [8]. Interferon (IFN- γ) do các tế bào bạch huyết T và đại thực bào sản sinh ra giữ vai trò quan trọng trong việc tái tạo mô của vết thương. Khi hàm lượng IFN- γ trong vết thương tăng lên, thì quá trình sản sinh collagen bị chậm lại trong khi lượng men phân giải collagen tăng, dẫn đến sự suy giảm tốc độ co lại của vết thương [9]. Nói cách khác, khi lượng IFN- γ tăng lên, thì tốc độ hình thành lớp

colagen trên vết thương bị chậm lại, tạo điều kiện thuận lợi cho việc ngăn chặn nguy cơ tạo sẹo lồi.

Các hạt nano bạc đã được biết như một phương tiện khử trùng đặc biệt hiệu quả. Nhưng ngoài đặc tính đó ra nano bạc còn thể hiện khả năng tác dụng lên các cytokin nhằm hỗ trợ quá trình phục hồi vết thương. Như chúng ta biết, trước khi có công nghệ nano, trong điều trị bệnh người ta thường sử dụng bạc dưới dạng hợp chất (thí dụ sunfadiazin chứa muối bạc), do có độc tính nên không thể tránh khỏi các phản ứng phụ. Công nghệ nano đã tạo ra các hạt nano kim loại bạc có khả năng giải phóng ion bạc theo ý muốn, nên loại trừ được hầu hết các phản ứng phụ. Các công trình nghiên cứu về khả năng điều trị vết thương của nano bạc hiện không nhiều và cơ chế tác dụng của nó lên vết thương cũng chưa được sáng tỏ hoàn toàn. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu gần đây của các nhà khoa học thuộc trường Đại học Hồng Kông [10] đã cho thấy tác dụng của nano bạc thúc đẩy quá trình điều trị vết thương và hạn chế việc để lại di chứng sau điều trị. Nhóm tác giả này cho thấy nano bạc có thể làm giảm mức độ viêm của vết thương bằng cách điều chỉnh sự xuất hiện của các cytokin khác nhau.

Một số công trình nghiên cứu đã tìm cách đánh giá một cách định lượng tác dụng của mỗi cytokin lên kết quả điều trị vết thương [1 - 9], đồng thời tìm kiếm các tác nhân có khả năng tác động lên hiệu quả hoạt động của các cytokin trong điều trị vết thương. Các công bố này đã chỉ ra rằng nano bạc có khả năng điều biến các cytokin trong quá trình điều trị vết thương, đặc biệt là vết thương bỏng. Để nghiên cứu vấn đề này người ta sử dụng phương pháp PCR-thời gian thực (Real time - polymerase chain reaction), mà qua đó sự hiện diện của mỗi cytokin được đánh giá theo mức mRNA đo được của nó. Hình 1 cho thấy mức mRNA của các cytokin biến đổi trong quá trình phục hồi vết thương phụ thuộc vào tác nhân xử lý được áp dụng [10].

Số liệu dẫn ra trên hình 1a và 1b cho thấy nano bạc ức chế mạnh mẽ cytokin hỗ trợ viêm IL-6, đồng thời kích thích cytokin kháng viêm IL-10, dẫn đến quá trình phục hồi vết thương hoàn thiện hơn và không để lại sẹo. Như đã nói ở trên, cytokin tham gia vào quá trình xơ hóa mô và hình thành sẹo lồi trong quá trình vết thương phục hồi. Hình 1c cho thấy sự có mặt của nano bạc trên vết thương bỏng đã giữ giá trị mRNA của TGF- β ở mức thấp hơn đáng kể so với trường hợp xử lý vết thương bằng sunfadiazin bạc. Trên hình vẽ có thể dễ dàng nhận ra rằng, đối với các cytokin được khảo sát ở trên, sự có mặt của sunfadiazin đều làm cho quá trình phục hồi vết thương bỏng xấu đi, thậm chí xấu hơn cả trường hợp vết thương phục hồi tự nhiên (không xử lý). Báo cáo này trình bày một số kết quả nghiên cứu tác dụng của băng nano bạc lên quá trình phục hồi vết thương bỏng trên thử nghiệm và trên bệnh nhân.



Hình 1. Biến đổi của các cytokin trong quá trình phục hồi vết thương bỏng phụ thuộc vào tác nhân xử lý được áp dụng [10]: mức mRNA của IL-6 (a), IL-10 (b) và TGF- β (c)

Ghi chú: Đường cong “Nano Ag”: vết thương bỏng được phủ bằng chứa nano bạc;
 đường cong “SSD”: vết thương bỏng được phủ bằng chứa sunfadiazin bạc;
 đường cong “Không xử lý”: vết thương tự phục hồi

2. PHẦN THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất, vật liệu và đối tượng nghiên cứu

AgNO_3 , NaBH_4 , NaOH , axit acetic và chitozan đều thuộc loại p.a. Vải cotton không dệt được sử dụng để cố định nano bạc. Đối tượng nghiên cứu là băng nano bạc điều trị vết thương tự chế, băng nano bạc Anson Trung Quốc và kem sunfadiazin 1% bạc do Công ty Dược phẩm Trung ương Huế sản xuất. Thí nghiệm được tiến hành trên động vật thí nghiệm (chuột và thỏ) và trên bệnh nhân bỏng. Các chủng vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* và *Acinetobacter baumannii* được phân lập từ các tổn thương bỏng trên bệnh nhân.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Các hạt nano bạc được điều chế bằng phương pháp dung dịch nước [11], trong đó phản ứng hình thành nano bạc được thực hiện trong dung dịch nước muối nitrat bạc với chitozan làm chất ổn định. Dung dịch khử NaBH_4 được nhỏ giọt từ từ vào hỗn hợp phản ứng trong điều kiện khuấy mạnh liệt tại nhiệt độ phòng và pH 5 - 6 cho tới khi dung dịch chuyển dần sang màu nâu vàng.

Băng điều trị vết thương chứa nano bạc được chế tạo như sau: các mảnh vải không dệt có kích cỡ $30 \times 40 \text{ cm}^2$ sau khi được tiệt trùng 15 phút tại 150°C được ngâm trong dung dịch nano bạc với nồng độ 500 mg/L, khuấy liên tục 1 giờ tại nhiệt độ phòng, sau đó cho siêu âm rồi sấy khô ở 50°C trong 24 giờ. Khối lượng dung dịch nano bạc tiêu hao cho quá trình cố định nano bạc lên vải băng là 1 L/m^2 . Hoạt lực của băng nano bạc khảo sát bằng cách đo đường kính vòng vô khuẩn trên đĩa thạch trong môi trường Muller- Hinton [12]. Liều độc cấp của nano bạc được khảo sát trên chuột nhắt trắng với trọng lượng trung bình 20 g/con được chia thành 5 lô, mỗi lô 12 con. Các lô được cho uống dung dịch nano bạc (5000 mg/L) với liều khởi điểm là $0,3 \text{ mL} / 10 \text{ g} / 24 \text{ giờ}$ và tăng thể tích uống lên gấp đôi sau mỗi lô cho đến mức mà dạ dày chuột có thể chứa được.

Tác dụng của nano bạc lên tổn thương bỏng được tiến hành nghiên cứu trên thỏ và trực tiếp trên bệnh nhân bỏng. Thỏ thí nghiệm với số lượng 10 con cân nặng từ 2 kg/con được gây bỏng cấp độ II tại hai vùng trên lưng để đắp băng điều trị lên đó: vùng A đắp băng nano bạc tự chế và vùng B – băng Anson của Trung Quốc.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Bảng 1. Kết quả nghiên cứu liều độc cấp tính của dung dịch nano bạc trên chuột nhắt trắng

STT	Liều sử dụng (ml/10g TLCT)	Số động vật thí nghiệm	Số chết sau 72 giờ
Lô 1	0,3	12	0
Lô 2	0,6	12	0
Lô 3	0,9	12	0
Lô 4	1,2	12	0
Lô 5	1,5	12	0

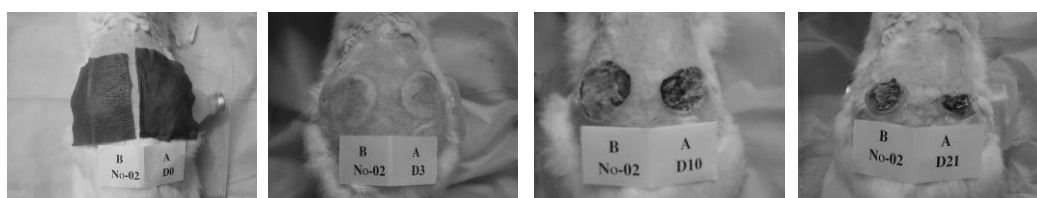
Kết quả khảo sát liều độc cấp tính của dung dịch nano bạc (5000 mg/L) trình bày trên bảng 1 cho thấy tất cả chuột ở các lô thí nghiệm sau 72 giờ cho uống nano bạc với các liều tăng dần

đều khỏe mạnh bình thường, kể cả lô được cho uống với liều tối đa mà dạ dày chuột có thể chứa. Như vậy, có thể khẳng định rằng nano bạc có độc tính thấp.

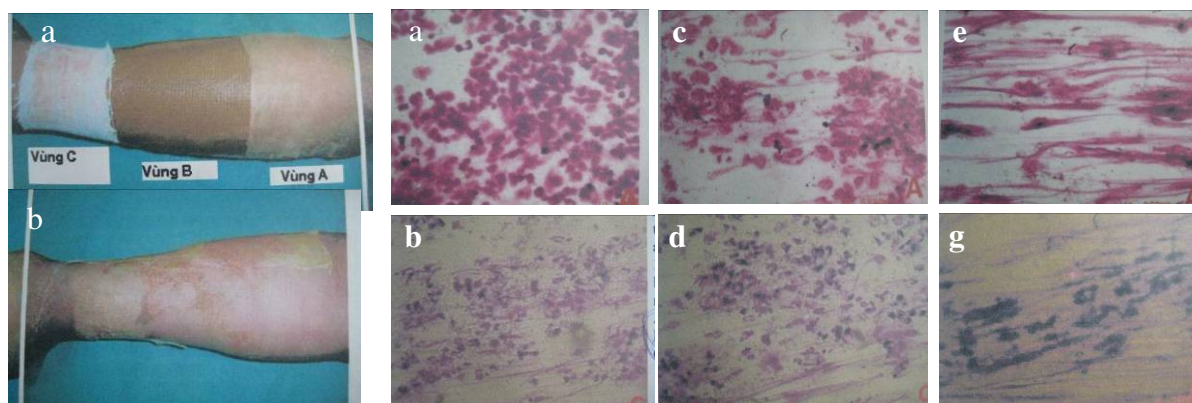
Sản phẩm băng nano bạc điều trị vết thương đã được nghiên cứu đánh giá hoạt tính khử trùng. Bảng 2 trình bày kết quả xác định vòng kháng khuẩn của băng nano bạc tự chế và băng Anson của Trung Quốc đối với một số chủng vi khuẩn thường gặp trong bệnh viện, trong đó cho thấy băng tự chế có hoạt lực khử trùng tương đương băng Anson ($p > 0,05$).

Bảng 2. Vòng kháng khuẩn của băng nano bạc đối với một số chủng vi khuẩn chuẩn quốc tế

Tên vi khuẩn	Đường kính vòng kháng khuẩn, mm		P
	Băng chế tạo (n=30)	Băng Anson (n=30)	
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	24,58 ± 3,26	23,48 5,46	0,157
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	24,28 2,15	23,29 2,06	0,174
<i>E.coli</i> ATCC 25922	17,37 2,45	19,18 2,87	0,145



Hình 2. Diễn biến vết thương bỏng trên thỏ thí nghiệm trong quá trình điều trị bằng nano bạc. Các ký hiệu: vùng A – băng nano bạc điều chế; vùng B – băng Anson; No-02 – số thứ tự của thỏ thí nghiệm; D10 – ngày điều trị thứ 10



Hình 3. Điều trị vết bỏng nông trên cẳng tay. a) Vùng A phủ băng nano bạc chế tạo; Vùng B phủ băng Anson; Vùng C phủ bạc -sulfadiazin; b) sau 3 ngày điều trị

Hình 4. Diễn biến mô học của vết bỏng nông trên tiêu bản áp trong quá trình điều trị bằng nano bạc tự chế (hàng trên) và kem bạc - sulfadiazin (hàng dưới).

Ghi chú. a,b) Bề mặt vết bỏng trước điều trị; c,d) Bề mặt vết bỏng sau 3 ngày điều trị; e,g) Bề mặt vết bỏng sau 7 ngày điều trị

Trên hình 2 có thể thấy diễn biến tại chỗ vết thương bỏng trên thử nghiệm được điều trị bằng băng nano bạc đạt kết quả tốt. Các vết bỏng đều ít phù viêm, ít xung huyết và tiết dịch rất ít. Trên tất cả cá thể thử nghiệm đều ghi nhận không thấy có hiện tượng thờ ơ dị ứng với băng nano bạc. Quá trình phục hồi vết thương bỏng điều trị bằng băng nano bạc tự chế và băng Anson đều diễn ra thuận lợi, sau 3 tuần diện tích vết thương đã co lại còn 1/3.

Theo quan điểm hiện đại về liền vết thương, trong các vết thương bỏng và vết thương mạn tính viêm có vai trò quyết định đối với quá trình phục hồi vết thương. Vì vậy vai trò điều tiết cytokin của nano bạc nhằm giảm thiểu viêm trên tổn thương bỏng đã được chúng tôi nghiên cứu trực tiếp trên bệnh nhân bỏng.

Hình 3 mô tả quá trình điều trị vết thương bỏng trên cẳng tay của một bệnh nhân, sử dụng băng nano bạc điều chế (vùng A), băng Anson Trung Quốc (vùng B) và kem bạc-sunfadiazin (vùng C), trong khi hình 4 thể hiện diễn biến mô học của vết thương trong quá trình điều trị. Trên bề mặt tổn thương bỏng nông trước khi đắp thuốc, các tế bào viêm nằm rải rác giữa các đám tế bào thoái hóa (hình 4a, b). Nhưng sau 3 ngày điều trị (hình 4c,d) các bạch cầu nhân đa hình (polymorphonuclear leucocytes) tập hợp lại thành đám với các đại thực bào với mật độ nhiều hơn trên tiêu bản bạc-sunfadiazin 1%, trong khi trên tiêu bản nano bạc đã rải rác xuất hiện các nguyên bào sợi. Sau 7 ngày, trên tiêu bản nano bạc đã thấy rải rác xuất hiện các tế bào sừng non, trong khi trên tiêu bản bạc-sunfadiazin còn có nhiều giả mạc hoại tử (hình 4e, g).

Nhiều nghiên cứu trước đây thừa nhận rằng điều trị bỏng bằng nano bạc cho hiệu quả cao do nano bạc ức chế vi khuẩn phát triển, nhưng không giải thích được tại sao thời gian phục hồi tổn thương lại nhanh hơn so với bạc-sunfadiazin. Điều này có thể giải thích như sau. Bạc dưới dạng muối ion có độc tính tương đối cao làm cho vết thương dễ bị viêm, trong khi các hạt nano bạc do có khả năng điều tiết giải phóng từ từ các ion bạc vào dịch vết thương để kích thích các cytokin hỗ trợ điều trị hoặc ức chế các cytokin hỗ trợ viêm và gia tăng quá trình giải phóng các tế bào tổn thương. Tác dụng đồng thời của các yếu tố này cho phép rút ngắn thời gian phục hồi tổn thương và không để lại sẹo (hình 3 và 4). Sử dụng bạc-sunfadiazin để điều trị bỏng thường kéo theo phản ứng viêm và phù nề quá mức trên vết thương, dẫn đến tình trạng ứ trệ tuần hoàn, làm rối loạn chuyển hóa tế bào vùng lân cận. Từ đó giải phóng ra các chất chuyển hóa trung gian, làm giãn mạch và tăng tính thấm, dẫn đến phù nề xung huyết mạnh hơn, và kết quả là kéo dài thời gian phục hồi. Mặt khác, trong dịch phù nề còn có những chất như histamin, bradykinin... có khả năng kích thích các thụ thể gây cảm giác đau [13]. Các biểu hiện này không được tìm thấy ở tổn thương bỏng được điều trị bằng nano bạc, bởi vì như đã nói ở trên, nano bạc có khả năng điều tiết các cytokin như giảm yếu tố IL-6 kích thích viêm và yếu tố TGF- β hỗ trợ hình thành sẹo lồi, tăng cường các yếu tố IL-10 hỗ trợ kháng viêm và VEGF hỗ trợ phát triển các mao quản nội mạc, giúp rút ngắn quá trình phục hồi tổn thương. Các cytokin nói trên còn có khả năng ức chế đáng kể lượng enzym MMP gây viêm mạnh thường được tìm thấy rất nhiều trên vết thương bỏng cũng như các vết loét khó lành. Điều đó cho thấy nano bạc có khả năng điều trị đặc biệt hiệu quả đối với các tổn thương bỏng cũng như vết loét lâu lành.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Gia Tiên - Nghiên cứu tác dụng của nano bạc điều trị tại chỗ tổn thương bỏng, Báo cáo nghiệm thu đề tài nhánh Nghị định thư, Viện Bỏng Lê Hữu Trác, Hà Nội, 2009, tr. 26-27.
2. M. H. Branton, J. B. Kopp - Microbes Infect. **1** (1999) 1349-1365.
3. N. H. Chau, N. Q. Buu, et al. - Adv. Nat. Sci and Tech (VAST) **9** (2) (2008) 241-248.
4. L. L. Hsiao, S. Jaakkola, S. Sollberg, M J. Invest - Dermatol. **97** (1991) 240-248.

5. Jun Tian K. K. Y. Wong, C. M. Ho, C. N. Lok, W. Y. Yu, C. M. Che, J. F. Chiu, Paul K. H. Tam – Chem. Med. Chem. **2** (2007) 129-136.
6. K. W. Liechty, N. S. Adzick, T. M. Crombleholme - Cytokine **12** (2000) 671-676.
7. Liet J. et al. - J. Bacterial **179** (1997) 6127-6132.
8. P. D. Martin, D'Souza, J. Martin - Curr. Biol. **13** (2003) 1122-1128.
9. R. B. Mateo, J. S. Reichner, J. E. Albina - Am. J. Physiolm **266** (1994) R1840-R1844.
10. Y. Sato, T. Ohshima, T. Kondo, Biochem. - Biophys. Res. Commun. **265** (1999) 194-199.
11. M. Shah, D. M. Foreman, M. W. Ferguson - J. Cell Sci. **108** (1995) 985-1002.
12. E. E. Tredget, R. Wang, et al. - J. Interferon cytokine Res. **20** (2000) 143-151.
13. J. B. Wright, K. Lam, A. G. Buret, M. E. Olson - Wound Rep. Reg. **10** (2002)141-151.

SUMMARY

Silver was known as a strongest antimicrobial element in the nature, moreover in the nano-sized form it can modulate the wound healing process by developing pro-healing or inhibiting pro-inflammatory cytokines, resulting in accelerated wound recovery and improved cosmetic appearance. This report represents some results of using nanosilver-coated wound dressings for therapeutic treatment of burns. The dressings were manufactured by immersing non-woven fabric material into a nanosilver solution of concentration of 500 mg/l with an average size of 20 – 25 nm, which was produced by aqueous molecular solution method. The healing effect of the tested dressing was studied through the comparison with silver sulfadiazine-coated one. The experimental data obtained showed that nanosilver-coated dressing heals burns with accelerated healing and without scars, much better than silver sulfadiazine-coated dressing.

Liên hệ với tác giả:

Trần Thị Ngọc Dung,

Viện Công nghệ môi trường.

Email: ttndzung@gmail.com