

## NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG ĐIỀU TRỊ VẾT THƯƠNG THỰC NGHIỆM CỦA GEL NANO BERBERIN TRÊN DIỄN BIẾN CẬN LÂM SÀNG, VI SINH VẬT VÀ GIẢI PHẪU BỆNH

Nguyễn Ngọc Tuấn<sup>1</sup>, Nguyễn Quang Đông<sup>1</sup>,  
Trương thị Thu Hiền<sup>1</sup>, Nguyễn Thùy Linh<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bệnh viện Bỏng Quốc gia Lê Hữu Trác

<sup>2</sup>Bộ môn Giải phẫu bệnh, Học viện Quân Y

### TÓM TẮT

Berberin được phân lập từ cây *Coscinium fenestratum* và một số cây trong họ *Ranunculaceae* có tác dụng chữa vết thương (VT), vết bỏng. Nghiên cứu xác định tác dụng điều trị vết thương mất da ở thỏ trên diễn biến cận lâm sàng và giải phẫu bệnh của gel nano Berberine do Bệnh viện Bỏng Quốc Gia sản xuất.

Tiến hành trên 45 con thỏ, tạo VT mất da đường kính 3,5cm ở 2 bên da lưng thỏ (2 VT/thỏ), thỏ được chia thành 3 nhóm (15 thỏ, 30 VT/nhóm), nhóm nghiên cứu (A): Điều trị tại chỗ bằng gel nano Berberin; nhóm chứng (B): Điều trị bằng SSD; nhóm chuẩn (C): Điều trị bằng nước muối sinh lý 0,9%. Theo dõi diễn biến xét nghiệm huyết học và sinh hoá, vi sinh vật tại bề mặt vết thương trong quá trình nghiên cứu, giải phẫu bệnh gan lách thận thỏ khi kết thúc nghiên cứu.

**Kết quả:** Không có sự khác biệt xét nghiệm cận lâm sàng, giải phẫu bệnh giữa 3 nhóm thỏ; vết thương nhóm A có tỷ lệ nhiễm khuẩn thấp hơn hẳn vết thương nhóm B và C.

**Kết luận:** Gel nano Berberin điều trị vết thương mất da thực nghiệm cho thấy an toàn, có tác dụng ức chế vi khuẩn.

**Từ khóa:** Gel nano Berberin, thỏ, vết thương mất da

### ABSTRACT

Berberine is isolated from the plant *Coscinium fenestratum* and some plants in the family *Ranunculaceae* has affected wound healing and burn healing. The research to determine the repair of full skin loss wounds of rabbits on the subclinical and histopathological development with Berberine nano gel produced by the National Burn Hospital. Conducted on 45 rabbits, creating a skin loss of 3.5cm of diameter on each side of the rabbit's back (2 wounds/rabbit), rabbits were separated into 3 groups (15 rabbits, 30

Chịu trách nhiệm: Nguyễn Ngọc Tuấn, Bệnh viện Bỏng quốc gia Lê Hữu Trác

Email: ngoctuan64@gmail.com

Ngày nhận bài: 28/12/2022; Ngày phản biện: 17/01/2023; Ngày duyệt bài: 20/01/2023

<https://doi.org/10.54804/yhthvb.5.2022.167>

wounds/each group), research group (Group A): Topical treatment with Berberine nano gel, control group (Group B): Topical treatment with SSD 1%, standard group (Group C): topical treatment with 0.9% Sodium Chloride.

Monitor the progress of hematological and biochemical tests, microbiology at the VT surface during the study, and the histopathology of rabbit liver, spleen, and kidney at the end of the study.

**Results:** There was no difference in laboratory tests or histopathology between the 3 groups of rabbits; Group A wound has a significantly lower infection rate than the wound in group B and C.

**Conclusion:** Berberine nano gel for treating skin loss wounds has been demonstrated in the study to be safe, bacteria-inhibiting.

**Keywords:** Berberine nano gel, rabbit, skin loss wound

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vết thương là sự phá vỡ tính toàn vẹn của biểu mô và có thể đi kèm với sự phá vỡ cấu trúc và chức năng của mô bình thường bên dưới. Để phục hồi cấu trúc của mô bị thương, phải xảy ra một quá trình phức tạp liên quan đến sự di chuyển, tăng sinh, tương tác và biệt hóa của nhiều loại tế bào (ví dụ: biểu bì, hạ bì, tế bào viêm thâm nhiễm), tương tác phân tử sinh học, tổng hợp các thành phần nền matrix và mạng lưới tín hiệu phức tạp [1-3]. Liên vết thương (LVT) cấp tính bao gồm các giai đoạn chồng chéo, có tương tác các sự kiện ở mức phân tử, tế bào và ngoại bào, kết thúc bằng việc đóng vết thương trong vòng vài ngày hoặc vài tuần [3, 4].

Berberin được tách chiết từ cây vàng đắng, hoàng liên gai (*Coscinium gagep* - *myrtaceae*), thuộc họ hoàng liên *Ranunculaceae*. Berberin đã được sử dụng như một thuốc cổ truyền điều trị bệnh lý ỉa chảy... Hiện nay, Berberin đã được chứng minh là có nhiều tác dụng dược lý và vẫn tiếp tục được nghiên cứu do phát hiện thêm nhiều tác dụng mới, mở ra khả năng ứng dụng rộng rãi trong nhiều bệnh lý... Ưu thế nổi bật của Berberin là tác dụng như

kháng sinh thực vật và tác dụng chống viêm, chống ung thư và hạ đường huyết [5]. Do có tác dụng với nhiều loại vi khuẩn, nấm, virus, Berberin còn được sử dụng điều trị các bệnh lý nhiễm khuẩn da do tụ cầu, liên cầu, vết thương, vết bỏng với ưu thế như an toàn, giảm đau, giảm viêm, kích thích liền vết thương [5, 6].

Ở Việt Nam, Berberin dạng dung dịch và cream đã được bào chế và ứng dụng rộng rãi để điều trị vết thương, vết bỏng [7]. Tuy nhiên, việc ứng dụng Berberin trong dược phẩm nói chung vẫn còn hạn chế do đặc điểm của Berberin là ít tan trong nước và sinh khả dụng thấp [8]. Một xu hướng hiện nay là sử dụng các hoạt chất dạng nano do những ưu thế riêng. Hệ đưa thuốc có cấu trúc nano (nanostructured systems, nanoparticles-based system) do có bề mặt tiếp xúc lớn nên có tốc độ giải phóng hoạt chất nhanh, qua đó làm tăng sinh khả dụng của thuốc [9]. Nghiên cứu hiện đại hóa các sản phẩm chứa Berberin kích thước nano được bào chế từ cây thuốc sẵn có ở Việt Nam; có tác dụng kháng khuẩn và chống viêm bền vững; có tính an toàn cao đáp ứng yêu cầu thực tiễn và khoa học.

Chúng tôi đã nghiên cứu bào chế được gel nano Berberin, thuốc đã được nghiên cứu độc tính cấp, bán cấp, khả năng dung nạp. Trong một nghiên cứu diễn biến lâm sàng vết thương thực nghiệm được điều trị bằng gel nano Berberin, chúng tôi ghi nhận thuốc có tính an toàn, có tác dụng giảm viêm và kích thích liền vết thương [10]. Trong phạm vi bài báo, chúng tôi trình bày tác dụng điều trị của gel nano Berberin tại chỗ vết thương (VT) thực nghiệm trên diễn biến cận lâm sàng, vi sinh vật tại bề mặt VT, và giải phẫu bệnh gan lách thận thỏ khi kết thúc nghiên cứu.

## 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên vật liệu

Gel nano Berberin do Khoa Dược, Bệnh viện Bông Quốc gia Lê Hữu Trác bào chế, đạt TCCS.

Thuốc đối chứng: Cream SSD do xí nghiệp dược phẩm Trung ương Huế sản xuất, đạt TCCS.

### 2.2. Động vật thí nghiệm

Thỏ nhà khỏe mạnh, không phân biệt giống, trọng lượng từ 2kg - 2,2kg. Trước khi nghiên cứu, thỏ được theo dõi từ 4 - 5 ngày, lựa chọn thỏ khỏe mạnh, nhanh nhẹn, lông mượt, không có bệnh ngoài da và đường tiêu hoá.

Thỏ được nuôi dưỡng trong điều kiện chung của phòng thí nghiệm từ 5 ngày trước khi tiến hành nghiên cứu (OECD 402, 2017, trang 3 - 4) [11]. Cụ thể: Ăn thức ăn theo tiêu chuẩn cho động vật nghiên cứu, nước (đun sôi để nguội) uống tự do. Thỏ được nuôi trong chuồng riêng để tránh lây chéo có thể xảy ra theo đường hô hấp và tiếp xúc. Nhiệt độ phòng  $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , độ ẩm: 50 - 60%, thời gian ngày (ánh sáng) đêm xem kẽ: 12/12 giờ. Hàng ngày

theo dõi ghi chép diễn biến kết quả thí nghiệm. Số lượng thỏ: 45 con.

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

- *Phương pháp gây vết thương và thiết kế nghiên cứu:*

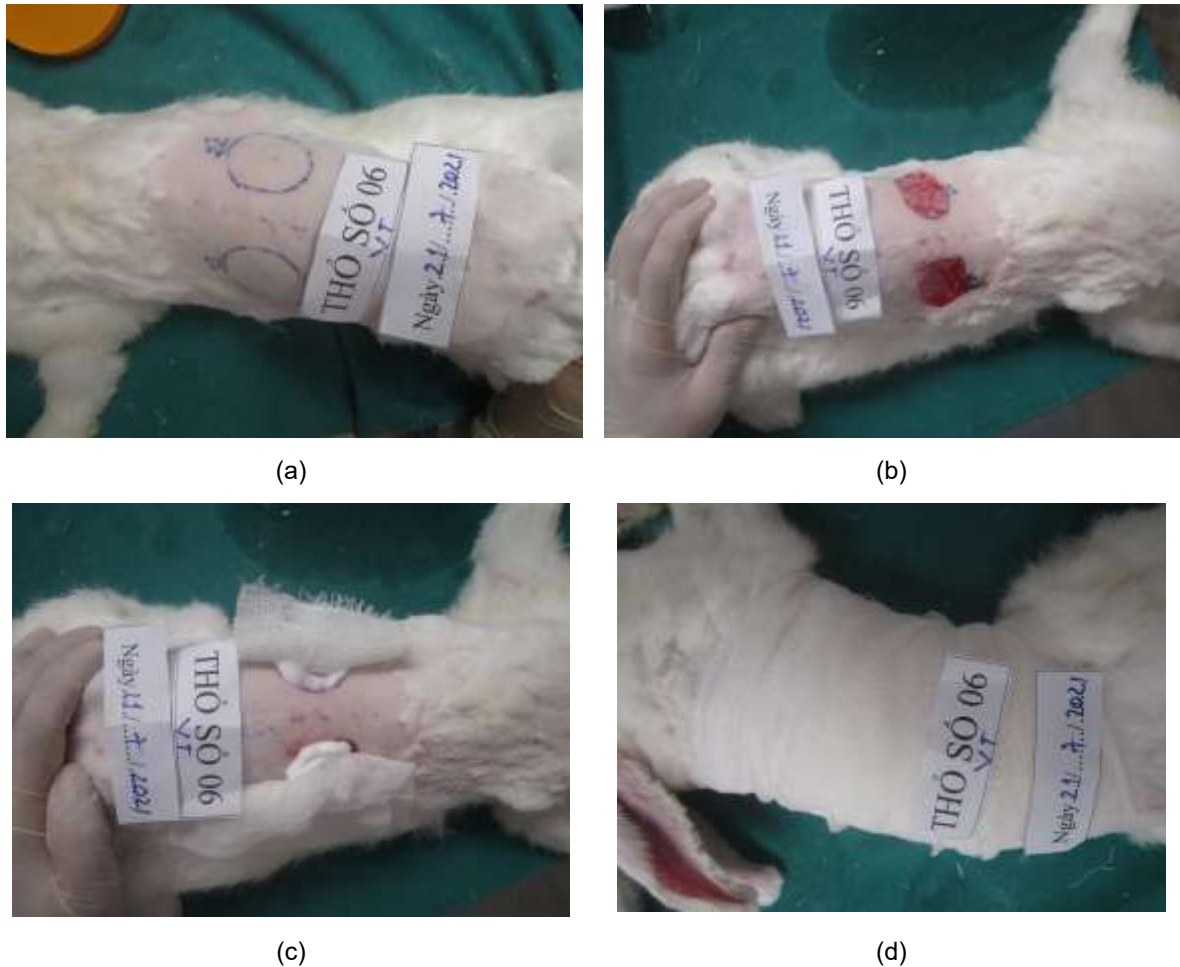
Thỏ được gây mê tĩnh mạch bằng Ketamin liều 10mg/kg trọng lượng cơ thể. Thỏ được cố định vào bàn thí nghiệm chuyên dụng. Cạo lông hai bên vùng lưng đối xứng qua cột sống, làm sạch lông bằng kéo và sau đó bằng lưỡi dao cạo, sát trùng cồn 70 độ.

Sau đó vẽ vòng tròn đường kính 3,5cm trên da lưng 2 bên. Tạo vết thương mất toàn bộ da bằng dao mổ thường và kéo với đường kính 3,5cm theo hình vẽ. Diện tích vết thương sẽ là  $\pi r^2 = 3,14 \times 1,75^2 = 9,61\text{cm}^2$ . Sau đó, thỏ được chia thành 3 nhóm:

Nhóm nghiên cứu (A): VT được điều trị gel nano Berberin 1%; bao gồm 15 thỏ (30 VT) ở 2 bên cột sống thỏ. Tiến hành bôi lớp mỏng gel nano Berberin lên bề mặt VT; đắp 4 - 6 lớp gạc khô vô trùng, băng kín, cố định thêm bằng băng dính (tránh tụt băng gạc do thỏ chạy nhảy, do dùng mồm để cõi bỏ băng gạc hoặc liếm vết thương). Thay băng hàng ngày theo quy trình tới khỏi.

Nhóm so sánh (B): VT được điều trị bằng SSD 1%, gồm 15 con, mỗi con bao gồm 2 VT. Tiến hành bôi 1 lớp mỏng cream SSD 1% lên VT ở 2 bên cột sống thỏ; đắp 4-6 lớp gạc vô khuẩn khô, băng kín lại. Thay băng hàng ngày tới khỏi.

Nhóm chuẩn (C): VT được điều trị bằng Natri Chloride 0,9%. Gạc tẩm dung dịch nước muối đắp lên VT. Đắp 4 - 6 lớp gạc khô, băng kín. Thay băng hàng ngày tới khỏi.



**Ảnh 2.1. (a): Vẽ tạo tổn thương 2 bên cột sống; (b): Vết thương sau khi được tạo ra; (c): Vết thương được bôi SSD; (d): Băng kín vết thương**

- *Theo dõi cận lâm sàng:* Xét nghiệm huyết học (hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, huyết sắc tố, haematocrit). Xét nghiệm sinh hóa: SGOT, SGPT, creatinin, protein, albumin, điện giải đồ, ure, creatinin, glucose. Thời điểm: trước điều trị, sau 1 tuần - 2 và 3 tuần ở cả 3 nhóm động vật. Tiến hành tại Khoa Cận lâm sàng - Bệnh viện Bông Quốc gia.

- *Theo dõi vi sinh vật:* Lấy dịch mủ tại chỗ VT, cấy khuẩn và định danh vi khuẩn ở các giai đoạn: trước khi nghiên cứu (đắp thuốc nghiên cứu), sau 1 tuần, sau 2 tuần.

Kỹ thuật lấy bệnh phẩm: Theo phương pháp Ivanov N.A (1984) do Nguyễn Thị Ty mô tả [12]. Đặt miếng film vô trùng có đục lỗ kích thước 1cm<sup>2</sup> lên VT vùng lấy bệnh phẩm. Dùng tăm bông vô trùng nhúng vào nước muối sinh lý 0,9%, sau đó đặt lên vùng đục lỗ 1 cm<sup>2</sup>, lăn nhẹ đầu tăm bông trong 30 giây để lấy bệnh phẩm. Cho tăm bông bệnh phẩm vào ống chứa 5 ml nước muối 0,9%. Lắc nhẹ ống nước muối sinh lý có tăm bông bệnh phẩm trong 15 giây.

Xác định loài VK: Dùng que cấy khuẩn lấy lấy một ít khuẩn lạc làm tiêu bản nhuộm gram. Làm các thử nghiệm vi sinh vật để

xác định giống và loài VK theo kỹ thuật thường quy của labo vi sinh (môi trường nuôi cấy nutrient Agar Muller Histon của hãng Oxford - Anh, môi trường thạch máu, canh thang pepton của hãng Sanofi - Pháp) [13].

Phương pháp xác định số lượng VK trên bề mặt VT: Dùng loope định lượng loại 1 $\mu$ l đã được khử trùng bằng đèn cồn, chờ nguội, lấy 1 loope dung dịch nước muối nói trên. Cấy lên đĩa môi trường thạch thường, ủ ấm đĩa thạch. Đếm số lượng khuẩn lạc sau 18 h (máy đếm khuẩn lạc BZG 30 - Đức): Số lượng VK/cm<sup>2</sup> VT = Số khuẩn lạc x 10<sup>3</sup> x 5. Xét nghiệm được thực hiện tại Khoa Cận lâm sàng - Bệnh viện Bông Quốc gia Lê Hữu Trác.

- *Giải phẫu bệnh*: Kết thúc nghiên cứu (khi tổn thương khỏi), thỏ được gây mê nhẹ, giết thỏ. Phẫu tích lấy gan, lách, thận của chuột. Quan sát đại thể. Gan, lách và thận được cắt bỏ từ tất cả các động vật nghiên cứu, cố định trong formaldehyde 4% ngay sau khi cắt bỏ. Sau đó, xử lý theo quy trình. Kiểm tra vi thể 100% những động vật chết và xác suất 30-50% số động vật

ở mỗi lô sau khi kết thúc nghiên cứu [11]. Kỹ thuật được tiến hành tại Bộ môn Giải phẫu bệnh, Học viện Quân Y.

## 2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu được tính ra số trung bình hoặc tỷ lệ % (độ tin cậy 95%), so sánh theo thuật toán T test hoặc khi bình phương. Sự khác biệt có ý nghĩa khi  $p < 0,05$ .

## 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 3.1. Diễn biến toàn thân của thỏ

Sau gây VT khoảng 40 phút, thỏ tỉnh táo hoàn toàn. Trong ngày đầu sau bỏng: thỏ mệt, ít đi lại hơn, ăn uống kém hơn. Tới ngày thứ 2: Thỏ sinh hoạt, chạy nhảy, ăn uống, đi tiểu như bình thường. Không gặp rối loạn tiêu hoá như ỉa chảy, ăn kém. Không gặp nhiễm khuẩn/nấm ngoài da lành. Không có thỏ chết trong quá trình nghiên cứu.

Thời gian liền VT trung bình nhóm A: 17,6  $\pm$  2,1 ngày; VT nhóm B: 19,1  $\pm$  2,5; VT nhóm C: 19,2  $\pm$  2,5 ( $p_{A-B}$ ,  $p_{A-C} < 0,05$ ;  $p_{B-C} > 0,05$ )

### Ảnh minh hoạ VT nhóm A



Ảnh 3.1. VT được tạo ra 2 bên cột sống trước khi đắp thuốc



Ảnh 3.2. VT sau 8 ngày. Vảy khô phủ bề mặt dày, bờ mép bắt đầu bong, phía dưới biểu mô hoá. Dịch xuất tiết ít



Ảnh 3.3. VT sau 15 ngày, thu hẹp đáng kể, vảy khô che phủ; bờ mép biểu mô hoá



Ảnh 3.4. Tổn thương sau 18 ngày, vết thương biểu mô hoá cơ bản (coi khối)

#### Ảnh minh hoạ VT nhóm B



Ảnh 3.5. VT sau 7 ngày, bề mặt che phủ gần toàn bộ bởi một lớp vảy dịch huyết tương đông đặc, dịch vừa



Ảnh 3.6. Tổn thương sau 21 ngày, khô cơ bản

#### Ảnh minh hoạ VT nhóm C



Ảnh 3.7. VT sau 10 ngày, dịch tiết vừa, còn giả mạc, biểu mô hoá bờ mép rõ, diện tích thu hẹp



Ảnh 3.8. VT sau 21 ngày, khô cơ bản

### 3.2. Diễn biến cận lâm sàng thử gây VT thực nghiệm

**Bảng 3.1. Biến đổi một số chỉ tiêu huyết học**

Chỉ số	Thời điểm xét nghiệm			
	Trước NC	Sau 1 tuần	Sau 2 tuần	Sau 3 tuần
<b>Thỏ lô chứng (điều trị SSD)</b>				
Hồng cầu (T/L)	5,43 ± 0,47	5,17 ± 0,82	5,29 ± 0,41	5,38 ± 0,34
Hb (g/L)	113,27 ± 8,82	109,27 ± 17,89	110,18 ± 7,69	112,73 ± 5,57
Bạch cầu (G/L)	10,12 ± 2,17	10,26 ± 1,91	10,79 ± 3,24	10,72 ± 2,27
Tiểu cầu (G/L)	367,4 ± 72,36	381,73 ± 85,26	323,45 ± 72,49	365,36 ± 84,93
Hematocrit (L/L)	36,13 ± 2,56	34,05 ± 5,50	35,62 ± 2,28	36,05 ± 2,27
<b>Thỏ lô nghiên cứu</b>				
Hồng cầu (T/L)	5,41 ± 0,52	5,30 ± 0,45	5,41 ± 0,25	5,26 ± 0,54
Hb (g/L)	113,93 ± 9,45	109,67 ± 11,26	111,50 ± 8,16	110,64 ± 11,43
Bạch cầu (G/L)	10,64 ± 2,72	11,39 ± 2,08	10,50 ± 1,65	10,10 ± 4,08
Tiểu cầu (G/L)	310,3 ± 102,1	315,67 ± 109,2	317,93 ± 113,8	320,07 ± 136,2
Hematocrit (L/L)	36,95 ± 2,71	35,45 ± 3,53	36,32 ± 2,45	34,69 ± 3,83
<b>Thỏ lô chuẩn</b>				
Hồng cầu (T/L)	5,31 ± 0,54	5,19 ± 0,48	5,46 ± 0,36	5,54 ± 0,37
Hb (g/L)	115,5 ± 10,39	112,42 ± 8,26	115,42 ± 6,91	116,83 ± 8,21
Bạch cầu (G/L)	10,37 ± 2,31	11,18 ± 2,02	10,01 ± 1,69	10,03 ± 1,78
Tiểu cầu (G/L)	324,08 ± 88,2	331,08 ± 143,63	336,8 ± 122,39	355,17 ± 127,67
Hematocrit (L/L)	35,83 ± 3,05	35,19 ± 2,55	37,24 ± 2,96	38 ± 2,96

Không có sự khác biệt giữa các thời điểm trong từng nhóm và giữa các nhóm,  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.2. Biến đổi một số chỉ tiêu sinh hóa**

Chỉ số	Thời điểm xét nghiệm			
	Trước NC	Sau 1 tuần	Sau 2 tuần	Sau 3 tuần
<b>Thỏ lô chứng</b>				
Urea (mmol/L)	4,87 ± 2,05	4,01 ± 0,81	4,20 ± 0,64	5,15 ± 1,05
Glucose (mmol/L)	7,20 ± 1,03	7,31 ± 0,81	6,56 ± 0,91	6,85 ± 0,99
Creatinine (μmol/L)	102,03 ± 34,79	90,04 ± 18,89	85,26 ± 27,64	95,44 ± 9,57
Protein (g/L)	64,17 ± 6,92	58,54 ± 7,05	62,24 ± 7,93	63,63 ± 4,30

Chỉ số	Thời điểm xét nghiệm			
	Trước NC	Sau 1 tuần	Sau 2 tuần	Sau 3 tuần
Albumin (g/L)	35,06 ± 2,01	33,85 ± 3,44	31,40 ± 9,57	35,39 ± 1,12
AST (U/L)	34,60 ± 28,65	36,07 ± 24,17	46,09 ± 37,85	33,44 ± 14,87
ALT (U/L)	74,90 ± 28,26	72,12 ± 17,12	83,12 ± 35,33	82,55 ± 30,75
Na	134,55 ± 6,20	136,27 ± 7,73	137,09 ± 4,01	137,45 ± 2,54
K	4,00 ± 0,40	4,01 ± 0,35	3,78 ± 0,39	3,95 ± 0,25
Cl	97,55 ± 6,88	99,73 ± 6,56	98,91 ± 4,78	101,64 ± 3,14
<b>Thỏ lô nghiên cứu</b>				
Urea (mmol/L)	4,57 ± 1,46	5,03 ± 2,57	5,13 ± 1,64	6,49 ± 3,00
Glucose (mmol/L)	7,2 ± 0,95	6,78 ± 1,15	6,93 ± 1,09	7,02 ± 1,01
Creatinine (μmol/L)	99,29 ± 31,71	90,91 ± 19,02	94,93 ± 15,45	107,89 ± 17,24
Protein (g/L)	66,93 ± 7,26	60,91 ± 6,44	58,16 ± 16,69	63,56 ± 6,28
Albumin (g/L)	35,69 ± 1,55	33,78 ± 2,74	32,96 ± 2,57	33,62 ± 3,03
AST (U/L)	26,07 ± 10,31	28,89 ± 13,54	27,11 ± 14,95	36,90 ± 27,64
ALT (U/L)	73,92 ± 24,80	68,19 ± 23,02	59,17 ± 34,79	74,36 ± 34,79
Na	134,20 ± 5,94	139,33 ± 4,76	136,07 ± 3,63	138,14 ± 3,59
K	3,79 ± 0,48	3,90 ± 0,33	3,95 ± 0,46	3,96 ± 0,37
Cl	97,73 ± 6,05	101,93 ± 4,64	102,29 ± 9,11	101,00 ± 3,59
<b>Thỏ lô chuẩn</b>				
Urea (mmol/L)	5,28 ± 1,88	4,47 ± 0,83	4,38 ± 0,68	4,72 ± 0,82
Glucose (mmol/L)	7,53 ± 0,80	7,68 ± 0,59	7,47 ± 0,71	8,00 ± 1,12
Creatinine (μmol/L)	111,23 ± 30,19	95,52 ± 11,78	97,11 ± 10,36	96,29 ± 13,88
Protein (g/L)	63,90 ± 7,77	64,45 ± 7,13	67,00 ± 5,57	66,55 ± 7,88
Albumin (g/L)	34,54 ± 2,89	35,61 ± 2,81	35,28 ± 2,09	35,96 ± 3,04
AST (U/L)	53,16 ± 25,49	27,33 ± 22,76	28,32 ± 18,23	34,50 ± 22,11
ALT (U/L)	103,37 ± 45,46	62,01 ± 18,78	66,07 ± 32,01	76,68 ± 29,90
Na	136,17 ± 7,16	142,50 ± 2,07	138,08 ± 5,76	141,42 ± 2,47
K	3,99 ± 0,30	4,18 ± 0,46	4,23 ± 0,59	4,43 ± 0,67
Cl	101,67 ± 4,96	106,25 ± 2,18	104,33 ± 4,27	103,33 ± 2,42

Các chỉ số không có sự khác biệt giữa các thời điểm,  $p > 0,05$ .



### 3.3. Diễn biến vi sinh vật tại bề mặt vết thương thực nghiệm

**Bảng 3.3. Diễn biến vi sinh vật tại VT thực nghiệm**

Thời điểm	Vùng NC (A)	Vùng so sánh (B)	Vùng chuẩn (C)	p
Tỷ lệ % cấy khuẩn vết thương dương tính				
Sau 1 ngày	0/32	3/30	0/30	> 0,05
Sau 7 ngày	7/32	13/30	14/30	$p_{A-B, A-C} < 0,01$
Sau 14 ngày	0/32	4/30	0/30	> 0,05
p	$p_{d1-d7, d7-d14} < 0,05$	$p_{d1-d7, d7-d14} < 0,05$	$p_{d1-d7, d7-d14} < 0,05$	
Số lượng vi khuẩn trên bề mặt vết thương ( $\times 5 \times 10^3/\text{cm}^2$ )				
D7	193,33 ± 196,44 (71 - 329)	257,57 ± 265,63 (29 - 532)	265,33 ± 281,05 (31 - 869)	$p_{A-B, A-C} < 0,01$ ; $p_{B-C} > 0,05$

Ở ngày thứ nhất sau nghiên cứu, Tỷ lệ VT không mọc vi khuẩn là cao.

Sau 7 ngày, số VT nhiễm khuẩn tăng cả 3 vùng A, B và C,  $p < 0,01$ . Tại vùng B và vùng C, VT nhiễm khuẩn tăng gấp đôi so với vùng A,  $p < 0,01$ . Sau 14 ngày, số VT nhiễm khuẩn lại giảm xuống đáng kể,  $p < 0,01$ . So sánh giữa 3 vùng tương đương.

Số lượng vi khuẩn: Tại các thời điểm D1, D14, số mẫu cấy mọc vi khuẩn thấp nên không tính trị giá trung bình. Tại D7, số lượng vi khuẩn tăng cao nhất và số mẫu mọc lớn nhất trong từng nhóm. Số lượng tại vùng A nhỏ nhất, sau đó tới vùng B và C;  $p < 0,01$ .

### 3.4. Thay đổi giải phẫu bệnh tạng gan, lách và thận

#### *Diễn biến giải phẫu bệnh*

- **Đại thể:** Quan sát và so sánh đại thể bằng mắt thường và dưới kính lúp có độ phóng đại 25: màu sắc, hình thái của gan, thận và lách ở 3 lô không khác. Gan nguyên vẹn, màu hồng, mịn, không bị bầm tím, tổn thương. Thận nguyên vẹn, có màu nâu nhạt, mịn, không bị bầm tím, tổn thương. Lách nguyên vẹn, có màu nâu đậm, mịn, không bị bầm tím, tổn thương.

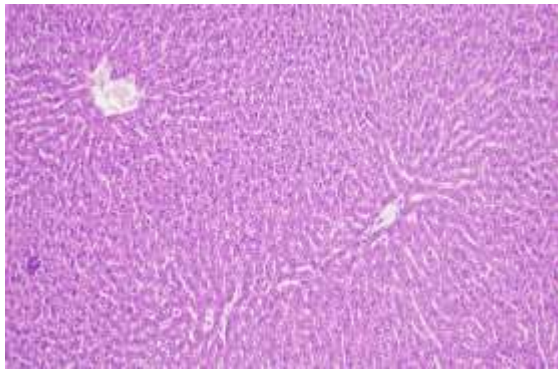
- **Vi thể:** Không thấy có thay đổi, khác biệt giữa 3 nhóm.

**Gan:** Tế bào gan bình thường, bào tương thuần nhất, không có tổn thương thoái hoá. Cấu trúc tiểu thùy rõ, các bè gan và tiểu thùy gan không thay đổi về cấu trúc. Khoảng cửa bình thường, không có xâm nhập viêm. Tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy không giãn, không giãn, không sung huyết.

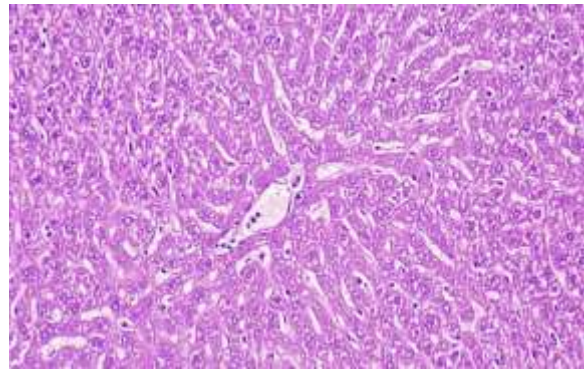
**Thận:** Cấu trúc vùng vỏ và tuỷ rõ ràng. Mao mạch máu thành mỏng, tế bào nội mô rõ, cầu thận bình thường, cuộn mạch của các tiểu cầu thận có cấu trúc bình thường, các tế bào nội mô của cuộn mạch nhỏ và đều nhau; khoang Bowman rõ. Các ống thận đều. Các tế bào ống thận đều nhau, rõ cấu trúc, các tế bào biểu mô ống thận bình thường. Khe thận hẹp.

**Lách:** Cấu trúc vùng tuỷ các nang limphô rõ ràng. Nhu mô lách với vùng tuỷ trắng và tuỷ đỏ. Vùng tuỷ trắng có các nang lympho. Vùng tuỷ đỏ có dây Billroth và các xoang mạch. Các nang lympho khá đồng đều với động mạch bút lông ở trung tâm. Cấu trúc mạch máu bình thường, không sung huyết. Cấu trúc xoang bình thường.

Minh hoạ hình ảnh tổ nhóm nghiên cứu, VT được điều trị bằng gel nano Berberin.

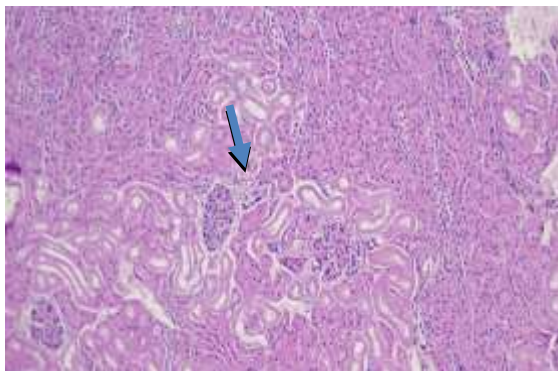


VT6, H.E 10X

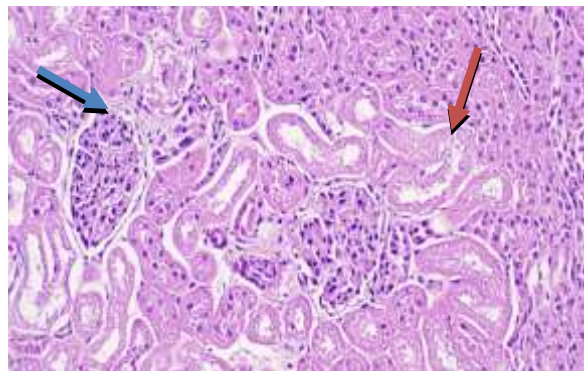


VT6, H.E 20X

**Hình 3.1. Tế bào gan sắp xếp thành dải, thành bè; giữa các dải, các bè gan có xoang mạch. Tế bào gan không bị thoái hóa. Khoảng cửa không viêm**

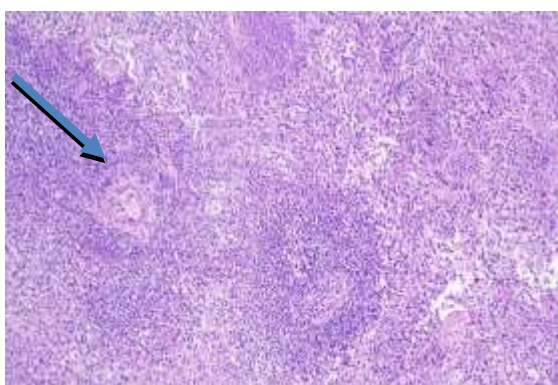


VT8, H.E 10X

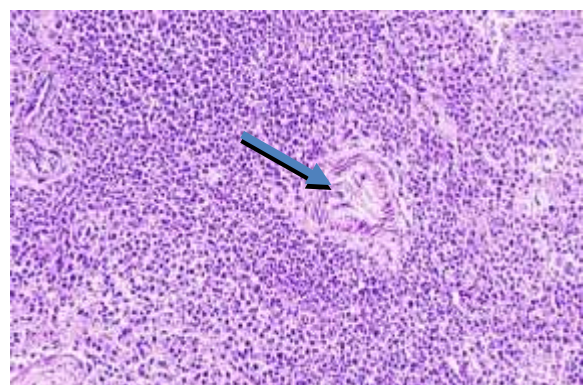


VT8, H.E 20X

**Hình 3.2. Vỏ thận có các cầu thận (mũi tên xanh), các ống thận (mũi tên vàng) và các mạch máu giữa các ống thận. Tế bào biểu mô ống thận không bị thoái hóa.**



VT8, H.E 10X



VT8, H.E 20X

**Hình 3.3. Nhu mô lách, vùng tủy trắng: nang lympho khá đồng đều, động mạch bút lông ở trung tâm (mũi tên xanh); vùng tủy đỏ: dây Billroth và các xoang mạch.**

## 4. BÀN LUẬN

### 4.1. Tính an toàn của thuốc

Qua theo dõi cận lâm sàng và giải phẫu bệnh các tạng gan lách thận của thỏ, nhận thấy thuốc gel nano Berberin tương đối an toàn, biểu hiện:

Các xét nghiệm sinh hóa và huyết học phản ánh chức năng tạo máu, chức năng gan, thận và lách không bị rối loạn, không có sự khác biệt giữa ba nhóm thỏ trong quá trình nghiên cứu.

Nghiên cứu trên giải phẫu bệnh khi kết thúc nghiên cứu, quan sát đại thể và cấu trúc vi thể của 3 tạng quan trọng của cơ thể, liên quan trực tiếp hoặc gián tiếp tới cơ chế bảo vệ, chuyển hóa, thải độc của cơ thể là gan, lách và thận ở cả 3 nhóm thỏ được gây vết thương cấp tính, được điều trị theo phác đồ khác nhau tới khi cho thấy không ảnh hưởng cấu trúc của 3 tạng này.

Kết quả này cũng tương ứng với những nghiên cứu chúng tôi đã tiến hành. Trên lâm sàng, không gặp thỏ chết; không gặp rối loạn lâm sàng toàn thân và tại chỗ liên quan tới thuốc [10]. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp, bán cấp, kích ứng da đều cho thấy Berberin an toàn [14-17].

### 4.2. Tác dụng chống nhiễm khuẩn

Nhiễm khuẩn là biến chứng hay gặp ở VT hở, có ảnh hưởng xấu tới LVT. Tác dụng chống nhiễm khuẩn của gel nano Berberin trên kết quả cấy khuẩn VT cho thấy: Sau 7 ngày, số VT nhiễm khuẩn tăng cả 3 vùng A, B và C. Tại vết bỏng nhóm B và nhóm C, VT bị nhiễm khuẩn tăng gấp đôi so với nhóm A, sự khác biệt rõ rệt với  $p < 0,01$ . Tương ứng sau 7 ngày, số lượng vi khuẩn (VK) là tăng cao nhất và số mẫu mọc lớn nhất trong từng nhóm.

Khi so sánh giữa các nhóm tại thời điểm này, số lượng vi khuẩn nhóm A nhỏ nhất, sau đó tới nhóm B và C, khác biệt có ý nghĩa với  $p < 0,01$ . Kết quả này cũng phù hợp với theo dõi trên lâm sàng [10]. Ở nhóm nghiên cứu, dịch tiết VT, giả mạc trong tuần đầu có sự khác biệt rõ rệt với hai nhóm còn lại. Dịch xuất tiết cũng là biểu hiện của quá trình nhiễm khuẩn, như vậy có thể nói nano berberin có tác dụng hạn chế nhiễm khuẩn.

Các nghiên cứu ghi nhận Berberin có tác dụng chống nhiễm khuẩn. Berberin có tác dụng với nấm (như *Candida utilis*, *C. albicans*), ký sinh trùng (*Giardia lamblia*, *Trichomonas vaginalis*), VK gram dương (như *S. aureus*, phế cầu, liên cầu); gram âm (VK đường ruột như *Salmeonella typhi*, *Shigella shigae*, *Sh. flexneri*) và virus (kể cả với HIV) [18]. Một số nghiên cứu cho thấy Berberin còn tác dụng với tụ cầu vàng kháng methicillin [20-22].

Nghiên cứu in vitro về khả năng ức chế của Berberin với *S.aureus* kháng Methicillin (methicillin resistant *S. aureus*- MRSA) thấy nồng độ ức chế tối thiểu với MRSA là 32 - 128  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Berberine làm giảm đáng kể liều MIC của ampicillin và oxacillin với MRSA, phục hồi tác dụng của các kháng sinh  $\beta$ -lactam. Berberin làm giảm đáng kể khả năng dính kết và xâm lấn vào nội bào của MRSA [20,21]. Berberin do có cấu trúc 5'-methoxyhydrocarpin (5'-MHC) ức chế bơm đa kháng (Multidrug resistance pumps - MDRs- bảo vệ vi khuẩn khỏi tác dụng của kháng sinh [20].

Gần đây có những nghiên cứu ghi nhận tác dụng kháng khuẩn của berberin gắn với NP đã tăng lên rõ rệt. Nghiên cứu của M. U. K. Sahibzada ghi nhận NP Berberin có hoạt tính kháng khuẩn chống lại vi khuẩn Gram dương tăng đáng kể

(300% - 400%), hoạt tính kháng *C. albicans* và *C. glabrata* cũng tăng [23].

Nasef M 2016 nghiên cứu tác dụng kháng khuẩn in vitro của berberin theo phương pháp Kirby - Bauer khuếch tán trên đĩa thạch; kết quả cho thấy berberin có tác dụng với *S.aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 700603, *Salmonella typhimurium*, *Shigela. flexner* [6].

Zhenqiang Liu (2022) [24] nghiên cứu in vitro cho thấy hoạt tính kháng khuẩn của berberin và nano Berberin phụ thuộc vào pH (mạnh hơn ở pH 5 và 6). Berberin dạng nano có hoạt tính kháng khuẩn với *S. aureus* mạnh hơn tới 40 lần so với Berberin thường.

Nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn của nano Berberine, Mohammed Al-Awady ghi nhận có sự tăng cường mạnh mẽ trong hoạt động chống vi khuẩn của Berberin được bao bọc trong các nano gel. Do diện tích bề mặt tăng cao, chất mang nano gel khuếch đại sự tiếp xúc của Berberin với vi sinh vật và tăng hiệu quả kháng khuẩn. Các chất mang có thể bám trực tiếp vào màng VK và duy trì nồng độ Berberin rất cao trực tiếp trên bề mặt VK. Hoạt động kháng khuẩn của nanogel chứa Berberin đối với vi khuẩn *E. coli* cao hơn nhiều so với tác dụng kháng khuẩn của dung dịch Berberin tự do [25].

Trong một tổng quan [26], Suliman Khan đã tổng hợp cơ chế kháng khuẩn của berberin, như phân hủy thành tế bào, rò rỉ nội dung tế bào ra bên ngoài, gián đoạn vận chuyển proton, sự biến mất của các dải protein, ức chế sự tổng hợp protein và DNA, và ngăn chặn sự trao đổi chất của vi khuẩn.

## 5. KẾT LUẬN

Đánh giá tác dụng điều trị của gel nano Berberin tại vết thương phần mềm thực nghiệm (so sánh với SSD) trên thỏ chúng tôi nhận thấy:

- Thuốc có tính an toàn, không gây rối loạn xét nghiệm cận lâm sàng, không gây rối loạn cấu trúc đại thể và vi thể các tạng gan, lách và thận.

- Thuốc có tác dụng chống nhiễm khuẩn, làm giảm rõ rệt số lần cấy khuẩn dương tính và số lượng vi khuẩn so với thuốc chứng là cream SSD và nước muối sinh lý.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Koschwanez HE, Broadbent E.** The use of wound healing assessment methods in psychological studies: a review and recommendations. Br J Health Psychol. 2011; 16: 1- 32.
2. **Stephens P, Caley M, Peake M.** Alternatives for animal wound model systems. In: RG Gourdie, TA Myers, eds. Wound Regeneration and Repair Methods and Protocols. New York, NY: Humana Press; 2013: 177-201.
3. **Stojadinovic O, Tomic-Canic M.** Human ex vivo wound healing model. In: RG Gourdie, TA Myers, eds. Wound Regeneration and Repair Methods and Protocols. New York, NY: Humana Press; 2013: 255-264.
4. **Daniela S. Masson-Meyers, Thiago AM Andrade, Guilherme F Caetano, Francielle R Guimaraes, Marcel N Leite, Saulo N Leite, Marco Andrey C Frade,** Experimental models and methods for cutaneous wound healing assessment. Int J Exp Pathol, 2020. 101(1-2): p. 21-37.
5. **Anna Och; Rafał Podgórski, R.N.,** Biological Activity of Berberine-A Summary Update; 2020, 12(11), 713. Toxins, 2020. 12(11): p. 713.
6. **Nasef M, K.H.A., Ashour M A, Nassar S L, Selim N M, El-Raey M A;** Biological

- Investigations of a New Natural Recipe Expected to Promote Healing of Superficial Burns; *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 2016. 8(8): p. 1230-1239.
7. **Lê Thế Trung (2003)**, “Bông những kiến thức chuyên ngành”, NXB Y học
  8. **Wang Y., Z.J.A.**, Update on the Benefits and Mechanisms of Action of the Bioactive Vegetal Alkaloid Berberine on Lipid Metabolism and Homeostasis. *Cholesterol.*, 2018. 2018: p. 717.
  9. **E. Mirhadi, M. Rezaee, and B. Malaekhe-Nikouei (2018)**, “Nano strategies for berberine delivery, a natural alkaloid of Berberis”, *Biomed. Pharmacother.*, 104, pp.465-473.
  10. **Nguyễn Ngọc Tuấn, Lê Quốc Chiêu, Ngô Ngọc Hà**; Nghiên cứu tác dụng điều trị vết thương thực nghiệm của gel nano Berberin trên lâm sàng, *Tạp chí Y học thẩm họa và Bông*, số 3, 2022, trang 22-36.
  11. OECD guideline for the testing of chemicals, 402, 2017
  12. **Nguyễn Thị Ty (1989)**; Tác dụng điều trị tại chỗ vết thương bông thực nghiệm của tinh dầu trầm và bước đầu ứng dụng lâm sàng, Luận án PTS khoa học Y Dược, Học viện Quân y, Hà Nội.
  13. Bộ Y tế, Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật chuyên ngành vi sinh, NXB Y học, 2018.
  14. **Nguyễn Ngọc Tuấn, Lê Quốc Chiêu, Lê Thị Hồng Hạnh**; Acute toxicity of nano Berberine gel in white mice. *Tạp chí y học thẩm họa và bông*, số 6, 2021, trang 10-20
  15. **Nguyễn Ngọc Tuấn, Lê Quốc Chiêu, Nguyễn Thái Biêng**; Nghiên cứu tính kích ứng da của gel nano Berberin trên da lành của động vật thực nghiệm; *Tạp chí Y học thẩm họa và Bông*, số 2, 2022, trang 14-23.
  16. **Nguyễn Ngọc Tuấn, Lê Quốc Chiêu, Bùi Thị Bích Vân, Đặng Văn Điệp**; Nghiên cứu độc tính bán cấp trên lâm sàng của gel nano Berberin ở chuột cống trắng; *Tạp chí Y học thẩm họa và Bông*, số 2, 2022, trang 37-45.
  17. **Nguyễn Ngọc Tuấn, Lê Quốc Chiêu, Nguyễn Thuý Linh**; Nghiên cứu độc tính bán cấp của gel nano Berberin trên cặn lâm sàng và giải phẫu bệnh ở chuột cống trắng; *Tạp chí Y học thẩm họa và Bông*, số 3, 2022, trang 61-73.
  18. Timothy C, B.N.D., Gregory ND, Berberine: Therapeutic potential of an Alkaloid found in several medicinal plant, *Alt Med Rev*, 1997. 2(2): p. 94-103.
  19. Amin AH, S.T.V., Abbasi KM; Berberine sulfate: antimicrobial activity, bioassay, and mode of action, *Can J Microbiol*, 1969. 15: p. 1067-1076.
  20. Stermitz FR, L.P., Tawara JN, et al., Synergy in a medicinal plant: Antimicrobial action of berberine potentiated by 5'-methoxyhydracarpin, a multidrug pump inhibitor, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000. 97(4): p. 1433-1437.
  21. Yu HH, K.K.J., Cha JD et al., Antimicrobial Activity of Berberine Alone and in Combination with Ampicillin or Oxacillin Against Methicillin-Resistant *S. aureus*, *Journal of Medicinal Food.*, 2005. 8(4): p. 454-461.
  22. Košťálová; M.Č.D., Antimicrobial activity of berberine - a constituent of *Mahonia aquifolium*; *Folia Microbiologica*; 2002. 47(4): p. 375-378.
  23. **Muhammad Umar Khayam Sahibzada, A.S., Hani S Faidah et al**; Berberine nanoparticles with enhanced in vitro bioavailability: characterization and antimicrobial activity. *Drug Des Devel Ther.*, 2018. 12: p. 303-312.
  24. **Zhenqiang Liu, Yanchao Liu, Ting Fang, Jianhua Xia, Ning Ma, and Yanhong Wang**, Application of berberine-loaded albumin nanoparticles in infections of traumatic wounds, *Int J Burns Trauma*. 2022; 12(1): 28-34, Published online 2022 Feb 15.
  25. **Mohammed Al-Awady; Adelaide Fauchet, Gillian M Greenway; Vesselin N. Paunov**; Enhanced antimicrobial effect of berberine in nano gel carriers with cationic surface functionality; *Journal of Materials Chemistry*, September 2017; B 5(38).
  26. **Suliman Khan, Arif Hussain, Farnoosh Attar, Samir HajBloukh, ZehraEdis, MajidSharifi**, review of the berberine natural polysaccharide nanostructures as potential anticancer and antibacterial agents; *Biomedicine & Pharmacotherapy*; Volume 146, February 2022, 112531.