

TÁC DỤNG LIÊN VẾT THƯƠNG VÀ ẢNH HƯỞNG TOÀN THÂN CỦA NƯỚC LÁ BÀNG LÃO NHÀ QUÊ TRÊN MÔ HÌNH CHUỘT NHẮT TRẮNG GÂY LOÉT DA BẰNG DOXORUBICIN

Phạm Thị Vân Anh¹, Phạm Mỹ Hạnh², Trần Thị Hồng Phương²
Hoàng Mỹ Hạnh³, Lê Hải Trung³ và Nguyễn Thị Thanh Loan^{1,✉}

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Công ty TNHH Y Dược Vi Diệu Nam

³Bệnh viện Bổng quốc gia Lê Hữu Trác

Nghiên cứu đánh giá tác dụng liên vết thương và ảnh hưởng toàn thân của Nước lá bàng Lão nhà quê trên mô hình chuột nhắt trắng gây loét da bằng doxorubicin. Chuột nhắt được gây loét da bằng cách tiêm trong da 0,5mg doxorubicin và bôi tại chỗ dimethyl sulfoxid hoặc Nước lá bàng Lão nhà quê trong 21 ngày liên tục. Nước lá bàng Lão nhà quê bôi liều 0,1 và 0,2 ml/lần, 2 lần/ngày có tác dụng tăng liền sẹo trên mô hình chuột nhắt gây loét da bằng doxorubicin thể hiện qua việc làm giảm diện tích tổn thương, cải thiện cấu trúc vi thể da so với lô mô hình. Nước lá bàng Lão nhà quê có xu hướng làm tăng nồng độ hydroxyprolin trong da chuột so với lô mô hình sau 21 ngày dùng thuốc thử. Ngoài ra, ảnh hưởng toàn thân của Nước lá bàng Lão nhà quê dùng theo đường bôi ngoài da được đánh giá thông qua tình trạng chung, các chỉ số huyết học, chức năng gan, thận và hình thái vi thể gan, thận. Kết quả nghiên cứu cho thấy, Nước lá bàng Lão nhà quê không gây độc tính toàn thân trên chuột nhắt gây loét da. Như vậy, Nước lá bàng Lão nhà quê dùng đường bôi ngoài da có tác dụng tăng liền vết thương trên mô hình chuột nhắt gây loét da bằng doxorubicin và không gây độc tính toàn thân.

Từ khoá: Nước lá bàng Lão nhà quê, doxorubicin, loét da, chuột nhắt trắng chủng Swiss.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Loét da mạn tính được định nghĩa những vết loét da có thời gian tồn tại trên bốn tuần do rối loạn trật tự và thời gian sửa chữa về mặt giải phẫu cũng như chức năng tại vị trí tổn thương. Loét da có thể tiến triển trên nền bệnh nhân chấn thương, đái tháo đường, bệnh nhân có các bệnh về mạch máu, nhiễm trùng, hoặc do phóng xạ.¹ Loét da mạn tính gây tác động tiêu cực về tâm lý và chất lượng sống của bệnh nhân. Theo thống kê, loét da mạn tính ảnh hưởng đến khoảng 6,5 triệu bệnh nhân và chi phí mỗi năm dành cho điều trị lên tới 25 tỷ USD.

Hiện nay, con số này có xu hướng ngày càng tăng do chi phí y tế cao, dân số già cùng với sự gia tăng số lượng bệnh nhân mắc bệnh tiểu đường và béo phì trên toàn cầu. Hơn nữa, việc điều trị kéo dài làm tăng gánh nặng tài chính đối với mỗi bệnh nhân và cả hệ thống y tế chăm sóc sức khỏe.² Đến nay, khi y học phát triển đã có nhiều phương pháp điều trị các vết thương mạn tính nhưng vẫn chưa có điều trị đặc hiệu. Vì vậy, việc tìm ra các thuốc và phương pháp điều trị mới trong loét da là rất cần thiết. Hiện nay, các sản phẩm nguồn gốc từ dược liệu có chứa thành phần hoạt tính sinh học tác dụng tăng sinh nguyên bào sợi, chống oxy hóa, chống viêm, kháng khuẩn được nghiên cứu và sử dụng làm giải pháp để hướng đến điều trị loét da mạn tính ở người.³

Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Thanh Loan

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: nguyenth Thanhloan@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 27/02/2025

Ngày được chấp nhận: 21/03/2025

Bàng (*Terminalia catappa* L.), thuộc họ Bàng (Combretaceae), là một cây nhiệt đới có nguồn gốc ở vùng Nam Á. Tại Việt Nam, cây Bàng hiện nay được trồng rất phổ biến để làm cây hóng mát. Bộ phận dùng chủ yếu của bàng là lá, vỏ cây và hạt. Theo kinh nghiệm dân gian, lá bàng được sử dụng ngoài da trong một số bài thuốc trị viêm da và tổn thương trên da.⁴ RA Nugroho và cộng sự đã chỉ ra rằng cao chiết nước của lá bàng có tác dụng làm tăng liền vết thương trên vết rạch trên da trên chuột nhắt.⁵ Ngoài ra, cao chiết nước của lá bàng được chứng minh có tác dụng oxy hoá, kháng khuẩn.⁶⁻⁸ Những tác dụng này đóng vai trò quan trọng trong khả năng tăng liền vết thương trên da của lá bàng. Hơn nữa, việc sử dụng thuốc bôi tại vết thương hở trong thời gian dài có thể gây tác dụng không mong muốn toàn thân.⁹ Tuy nhiên, đến nay tác dụng tăng liền vết thương trên mô hình động vật gây loét da mạn tính và độc tính toàn thân khi sử dụng đường bôi tại chỗ của cao chiết nước lá bàng vẫn chưa được đánh giá đầy đủ. Vì vậy, nghiên cứu “Tác dụng liền vết thương của Nước lá bàng trên mô hình chuột nhắt trắng gây loét da bằng doxorubicin” được tiến hành với mục tiêu: Đánh giá tác dụng liền vết thương và ảnh hưởng toàn thân của Nước lá bàng Lão nhà quê trên mô hình chuột nhắt trắng gây loét da bằng doxorubicin.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Sản phẩm nghiên cứu

Nước lá bàng Lão nhà quê có thành phần là chiết xuất nước của lá bàng (*Terminalia catappa*) do Công ty TNHH Y dược Vi diệu nam. Số lô sản xuất: 170222. Sản phẩm nghiên cứu đạt tiêu chuẩn cơ sở. Hạn sử dụng của sản phẩm 16/12/2025. Bảo quản sản phẩm nơi khô ráo, tránh ánh sáng mặt trời trực tiếp, nhiệt độ $\leq 30^{\circ}\text{C}$.

Động vật thực nghiệm

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss Albino*, cả hai giống, khoẻ mạnh, trọng lượng $35\text{g} \pm 2\text{g}$ được cung cấp bởi Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương. Động vật thí nghiệm được nuôi trong điều kiện nhiệt độ duy trì $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, độ ẩm không khí và ánh sáng thích hợp. Động vật thí nghiệm được nuôi bằng thức ăn tiêu chuẩn do Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương cung cấp và được uống nước tự do theo nhu cầu tại Bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội.

2. Phương pháp

Mô hình được tiến hành dựa trên các nghiên cứu trước đó gây loét da bằng doxorubicin trên chuột nhắt trắng.^{10,11}

Chuột nhắt trắng cả hai giống được chia thành 5 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (chứng sinh học) ($n = 10$): Tiêm trong da nước muối sinh lý, không bôi thuốc thử.

- Lô 2 (mô hình) ($n = 10$): Tiêm trong da 0,5 mg doxorubicin (Doxorubicin “Ebewe” 50 mg/25 ml, Áo), để liền vết loét tự nhiên.

- Lô 3 (chứng dương) ($n = 10$): Tiêm trong da 0,5 mg doxorubicin, để vết loét tiến triển trong 7 ngày. Sau đó, nhỏ 0,1 ml dimethyl sulfoxid (DMSO, 99%, Kanto Chemical Co., Inc., Nhật Bản) lên vùng bị loét, ngày nhỏ 2 lần, dùng trong vòng 21 ngày.

- Lô 4 ($n = 10$): Tiêm trong da 0,5 mg doxorubicin, để vết loét tiến triển trong 7 ngày. Sau đó, nhỏ Nước lá bàng Lão nhà quê liều 0,1 ml/vết loét/lần, 2 lần/ngày, dùng trong 21 ngày.

- Lô 5 ($n = 10$): Tiêm trong da 0,5 mg doxorubicin, để vết loét tiến triển trong 7 ngày. Sau đó, nhỏ Nước lá bàng Lão nhà quê liều 0,1 ml/vết loét/lần, 2 lần/ngày, dùng trong 21 ngày.

Các chỉ số nghiên cứu:

Đánh giá diện tích vết thương: Đánh giá tình trạng tổn thương tại vết loét trên da và ghi lại bằng máy ảnh kỹ thuật số. Đo diện tích vết

loét tại các thời điểm trước khi bôi thuốc thử (hay thời điểm 7 ngày sau khi gây mô hình loét da bằng doxorubicin) và sau 7, 14, 21 ngày sau khi bôi thuốc thử. Diện tích được đo bằng cách chụp ảnh bằng máy kỹ thuật số ở cùng một ống kính và tiêu cự cho mọi chuột, đo diện tích bằng phần mềm ImageJ Basics ver 1.38 đã được Tổ chức Y tế Thế giới công nhận là phần mềm để đo đặc diện tích cho các nghiên cứu y sinh học.

Đánh giá hình thái vi thể của da vùng bị tổn thương: Tại thời điểm kết thúc nghiên cứu, chuột được gây mê bằng cloralhydrat liều 350 mg/kg, sau đó lấy mô bệnh học da tại vị trí tổn thương. Đánh giá cấu trúc da, tình trạng viêm, sự tăng sinh tế bào sợi, tăng sinh mạch máu, biểu mô hóa vết thương. Kiểm tra vi thể ngẫu nhiên da chuột gây tổn thương da đối với 30% số chuột mỗi lô. Các xét nghiệm vi thể được thực hiện tại Khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện 103.

Định lượng nồng độ hydroxyprolin tại mô tổn thương: Cân khoảng 20-30 mg mẫu da tại vị trí tổn thương của từng chuột trong các lô để định lượng nồng độ hydroxyprolin trong da. Quy trình định lượng nồng độ hydroxyprolin trong da được thực hiện theo phương pháp của Stegemann H và Stalder K.¹²

Đánh giá ảnh hưởng toàn thân của Nước lá bàng Lão nhà quê dùng đường bôi ngoài da trên động vật gây loét da thực nghiệm. Chuột được đánh giá tình trạng chung, thể trọng của chuột; đánh giá chức phận tạo máu thông qua số lượng hồng cầu, thể tích trung bình

hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu.

+ Đánh giá chức năng gan thông qua định lượng một số chất chuyển hoá trong máu: bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol toàn phần.

+ Đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan thông qua định lượng hoạt độ enzym trong máu: ALT, AST.

+ Đánh giá chức năng lọc của thận thông qua định lượng nồng độ creatinin huyết thanh.

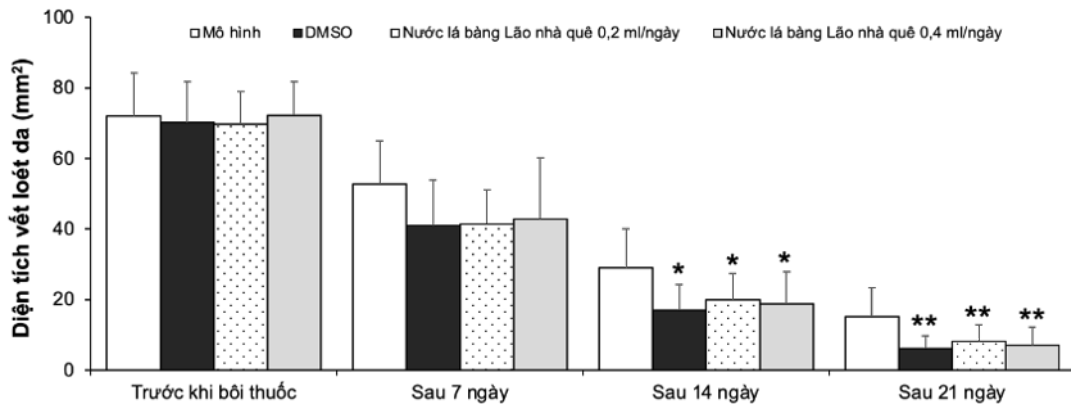
+ Mô bệnh học: Kiểm tra vi thể ngẫu nhiên gan, thận chuột đối với 30% số chuột mỗi lô. Các xét nghiệm vi thể được thực hiện tại Khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện 103.

Xử lý số liệu

Phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng SigmaPlot 12.0 (SYSTAT Software Inc, Richmond, CA, USA). Kết quả được biểu thị dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ SD. Sự khác biệt giữa các nhóm được đánh giá bằng phương pháp phân tích phương sai một yếu tố (ONE WAY ANOVA) sau đó sử dụng test hậu kiểm Student-Newman-Keuls để so sánh từng cặp. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

III. KẾT QUẢ

1. Tác dụng tăng liền sẹo của Nước lá bàng Lão nhà quê trên mô hình gây loét da bằng doxorubicin

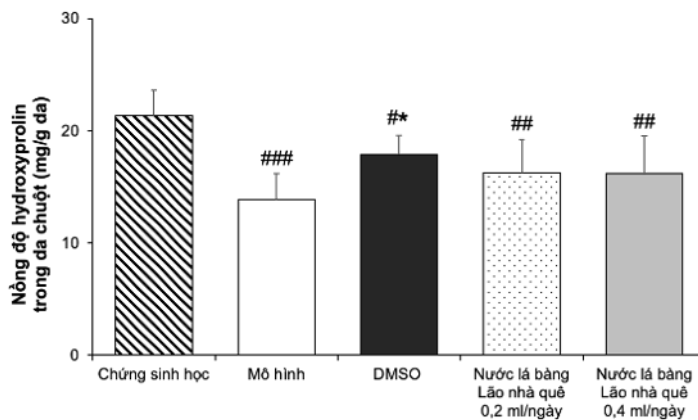


Biểu đồ 1. Ảnh hưởng của Nước lá bàng Lão nhà quê đến diện tích loét da trên da chuột nhắt trắng

Kết quả được biểu thị dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ SD. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$: so với lô mô hình.

Kết quả Biểu đồ 1 cho thấy: Tại thời điểm trước khi bôi thuốc thử và sau 7 ngày bôi thuốc thử, diện tích vết loét da không có sự khác biệt giữa các lô nghiên cứu ($p > 0,05$). Tại thời điểm sau 14 và 21 ngày bôi thuốc thử, DMSO và Nước lá bàng Lão nhà quê cả 2 mức liều đều có tác dụng làm giảm diện tích tổn thương da rõ

rệt so với lô mô hình tại cùng thời điểm, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về diện tích tổn thương da ở lô bôi Nước lá bàng Lão nhà quê liều 0,1 ml/lần, 2 lần/ngày và lô bôi Nước lá bàng Lão nhà quê liều 0,2 ml/lần, 2 lần/ngày ($p > 0,05$).



Biểu đồ 2. Ảnh hưởng của Nước lá bàng Lão nhà quê đến nồng độ hydroxyprolin trong da chuột

Kết quả được biểu thị dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ SD. * $p < 0,05$; ### $p < 0,001$: so với lô chứng sinh học; #* $p < 0,05$: so với lô mô hình.

Kết quả Biểu đồ 2 cho thấy: Tại thời điểm kết thúc nghiên cứu, nồng độ hydroxyprolin trong da chuột của lô mô hình giảm rõ rệt so

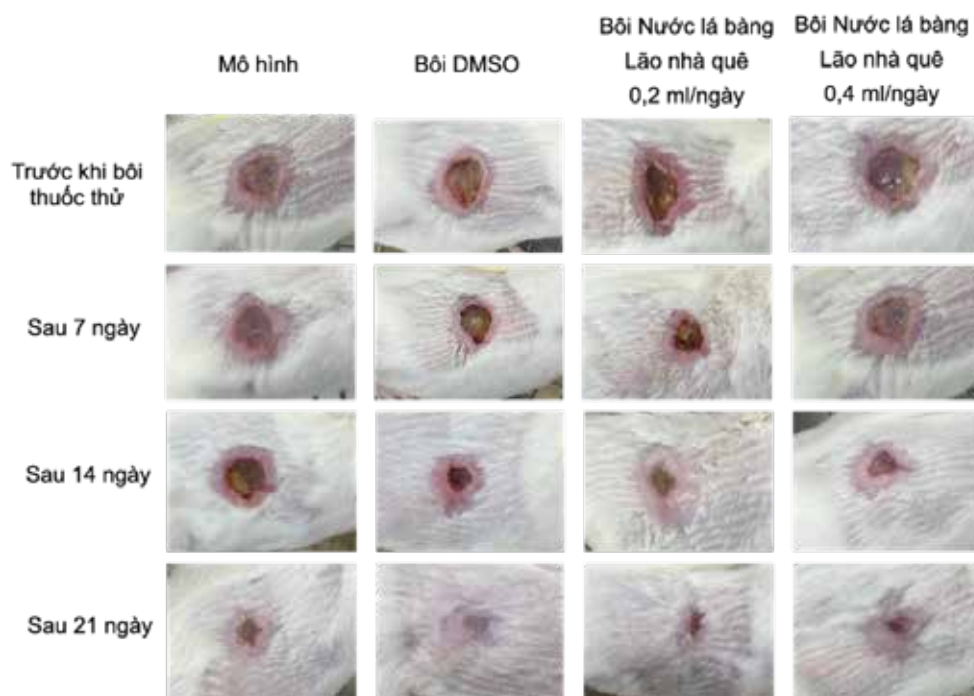
với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Nồng độ hydroxyprolin trong da chuột của lô bôi DMSO tăng có ý nghĩa

thống kê so với lô mô hình ($p < 0,05$). Nồng độ hydroxyprolin trong da của lô bôi Nước lá bàng Lão nhà quê liều 0,1 ml/lần, 2 lần/ngày và liều 0,2 ml/lần, 2 lần/ngày có xu hướng tăng so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Đánh giá đại thể và vi thể của da tại vùng

tổn thương

Tại thời điểm kết thúc nghiên cứu, da của chuột lô mô hình vẫn chưa liền hoàn toàn vết loét, diện tích tổn thương lớn. Diện tích da bị tổn thương của chuột lô bôi DMSO và bôi thuốc thử Nước lá bàng Lão nhà quê đã thu hẹp đáng kể so với lô mô hình.

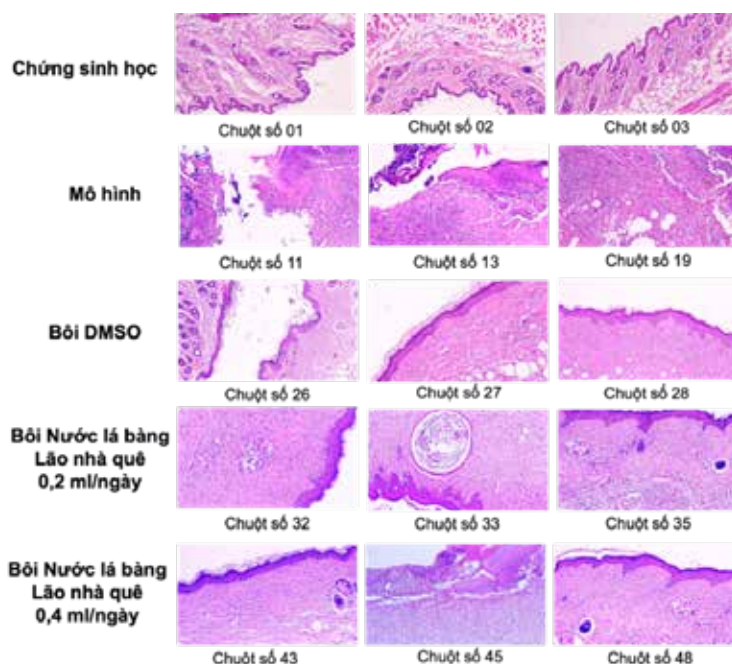


Hình 1. Hình ảnh đại thể da của chuột

Bảng 1. Đặc điểm vi thể da chuột vùng tổn thương

Lô 1: Chứng sinh học	Chuột số 01, 02, 03: Da phủ biểu mô lát tầng có sừng hoá, cấu trúc rõ các lớp, màng đáy rõ cấu trúc, các thành phần phụ của da còn rõ cấu trúc. Mô đệm có các sợi tạo keo, sợi chun, một số tế bào sợi, các mạch máu, thần kinh.
Lô 2: Mô hình	Chuột số 11, 13, 19: Bề mặt da có ổ loét mất lớp biểu mô phủ tới chân bì nông. Bề mặt ổ loét phủ lớp tơ huyết bạch cầu có khá nhiều tế bào viêm bạch cầu đa nhân trung tính, sự hình thành mô hạt bắt đầu ở vùng rìa ổ loét với nhiều mạch máu tăng sinh.
Lô 3: Bôi DMSO	Chuột số 26, 27, 28: Sinh thiết phủ biểu mô lát tầng có sừng hoá, với ít nhú chân bì và mào thượng bì ngắn, màng đáy rõ và khá thẳng. Chân bì nông là mô sẹo tăng sinh rất nhiều tế bào sợi, sợi tạo keo và một vài tế bào viêm đơn nhân.

Lô 4: Bôi Nước lá bàng Lão nhà quê liều 0,1 ml/lần, 2 lần/ngày	Chuột số 32: Sinh thiết phủ biểu mô lát tầng có sừng hoá, với ít nhú chân bì và mào thượng bì ngắn, màng đáy rõ và khá thẳng, các thành phần phụ mất gần hoàn toàn. Chân bì nông là mô sẹo tăng sinh rất nhiều tế bào sợi, sợi tạo keo và các tế bào viêm đơn nhân. Chuột số 33, 35: Sinh thiết phủ biểu mô lát tầng có sừng hoá, với ít nhú chân bì và mào thượng bì ngắn, màng đáy rõ và khá thẳng, các thành phần phụ mất gần hoàn toàn. Có nang biểu bì giãn rộng chứa các lá sừng thoái hoá. Chân bì nông là mô sẹo tăng sinh rất nhiều tế bào sợi, sợi tạo keo và một vài tế bào viêm đơn nhân.
Lô 5: Bôi Nước lá bàng Lão nhà quê liều 0,2 ml/lần, 2 lần/ngày	Chuột số 43, 48: Sinh thiết phủ biểu mô lát tầng có sừng hoá, với ít nhú chân bì và mào thượng bì ngắn, màng đáy rõ và khá thẳng. Chân bì nông là mô sẹo tăng sinh rất nhiều tế bào sợi, sợi tạo keo và một số tế bào viêm đơn nhân. Chuột số 45: Sinh thiết phủ biểu mô lát tầng có sừng hoá, còn thấy ổ loét mất biểu mô phủ. Bề mặt ổ loét đang đóng vảy, phủ lớp tơ huyết bạch cầu khá dày, mô hạt đang tăng sinh các tế bào sợi và sợi tạo keo vây quanh các mạch máu. Chân bì nông là mô sẹo tăng sinh rất nhiều tế bào sợi, sợi tạo keo và một số tế bào viêm bạch cầu đa nhân trung tính, tế bào viêm đơn nhân.



Hình 2. Hình ảnh vi thể của da tại vùng tổn thương (HE, 100X)

2. Ảnh hưởng toàn thân của Nước lá bàng Lão nhà quê trên chuột nhắt trắng bị gây loét da thực nghiệm

Tình trạng chung của chuột và sự thay đổi thể trọng chuột

Trong thời gian thí nghiệm, chuột ở lô chứng sinh học và 2 lô dùng thuốc thử hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, mắt sáng, phân khô. Không thấy biểu hiện gì đặc biệt ở cả 3 lô chuột nhắt trắng trong suốt thời gian nghiên cứu.

Bảng 2. Ảnh hưởng của Nước lá bàng Lão nhà quê đến thể trọng chuột

Lô chuột	Cân nặng (gam)		$p_{\text{trước-sau}}$
	Trước nghiên cứu	Sau 21 ngày	
Chứng sinh học	32,60 ± 1,90	44,60 ± 4,38	< 0,05
Lô bôi Nước lá bàng Lão nhà quê liều 0,1 ml/lần, 2 lần/ngày	33,20 ± 1,62	43,50 ± 2,80	< 0,05
<i>p</i> so với lô chứng	> 0,05	> 0,05	
Lô bôi Nước lá bàng Lão nhà quê liều 0,2 ml/lần, 2 lần/ngày	33,00 ± 1,76	41,30 ± 3,43	< 0,05
<i>p</i> so với lô chứng	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy: Sau 21 ngày bôi Nước lá bàng Lão nhà quê cả hai mức liều, trọng lượng chuột ở cả lô chứng tăng so với trước khi nghiên cứu, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt

về mức độ thay đổi trọng lượng chuột giữa lô chứng và các lô dùng thuốc thử ($p > 0,05$).

Ảnh hưởng của Nước lá bàng Lão nhà quê đến chức năng tạo máu

Bảng 3. Ảnh hưởng của Nước lá bàng Lão nhà quê đến số lượng hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột nhắt trắng

Lô chuột	Số lượng hồng cầu (T/l)	Hàm lượng huyết sắc tố (g/dl)	Hematocrit (%)	Thể tích trung bình hồng cầu (fl)
Chứng sinh học	11,23 ± 1,14	11,48 ± 0,86	53,55 ± 5,47	47,50 ± 1,43
Bôi Nước lá bàng Lão nhà quê liều 0,1 ml/lần, 2 lần/ngày	11,15 ± 1,04	11,37 ± 1,03	52,87 ± 5,67	47,10 ± 1,79
<i>p</i> so với lô chứng	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Bôi Nước lá bàng Lão nhà quê liều 0,2 ml/lần, 2 lần/ngày	11,57 ± 0,75	11,72 ± 0,58	54,54 ± 2,63	46,70 ± 2,71
<i>p</i> so với lô chứng	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy: Sau 21 ngày bôi Nước lá bàng Lão nhà quê, số lượng hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột nhắt

trắng ở cả 2 mức liều đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p > 0,05$).

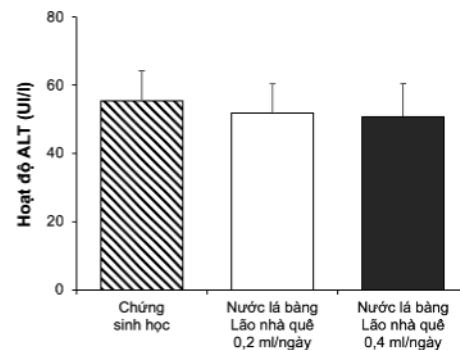
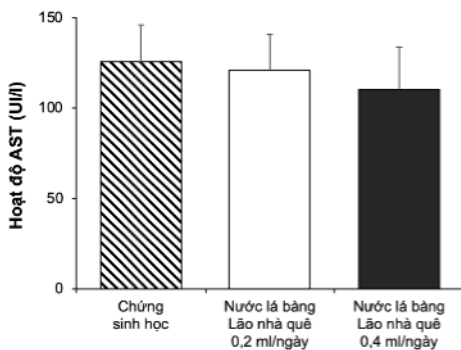
Bảng 4. Ảnh hưởng của Nước lá bàng Lão nhà quê đến số lượng tiểu cầu, số lượng bạch cầu và công thức bạch cầu trong máu chuột nhắt trắng

Lô chuột	Số lượng tiểu cầu (G/l)	Số lượng bạch cầu (G/l)	Lympho (%)	Trung tính (%)
Chứng sinh học	915,50 ± 116,18	3,10 ± 0,35	78,26 ± 4,61	6,79 ± 1,79
Bôi Nước lá bàng Lão nhà quê liều 0,1 ml/lần, 2 lần/ngày	946,30 ± 109,13	3,46 ± 0,57	78,63 ± 5,32	5,45 ± 1,80
<i>p so với lô chứng</i>	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Bôi Nước lá bàng Lão nhà quê liều 0,2 ml/lần, 2 lần/ngày	997,70 ± 122,52	3,58 ± 0,70	77,92 ± 6,89	5,20 ± 1,90
<i>p so với lô chứng</i>	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy: Sau 21 ngày dùng Nước lá bàng Lão nhà quê, số lượng tiểu cầu, số lượng bạch cầu và công thức bạch cầu trong máu chuột nhắt trắng ở cả 2 mức liều đều

không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p > 0,05$).

Ảnh hưởng của Nước lá bàng Lão nhà quê đến mức độ hủy hoại tế bào gan

**Biểu đồ 3. Ảnh hưởng của Nước lá bàng Lão nhà quê đến hoạt độ AST và ALT trong máu chuột nhắt trắng**

Kết quả ở Biểu đồ 3 cho thấy: Sau 21 ngày dùng Nước lá bàng Lão nhà quê, xét nghiệm đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan hoạt độ AST và ALT trong máu chuột nhắt trắng ở cả

2 lô trị đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p > 0,05$).

Ảnh hưởng của Nước lá bàng Lão nhà quê đến chức năng gan

Bảng 5. Ảnh hưởng của Nước lá bàng Lão nhà quê đến nồng độ bilirubin toàn phần, albumin, cholesterol toàn phần trong máu chuột nhắt trắng

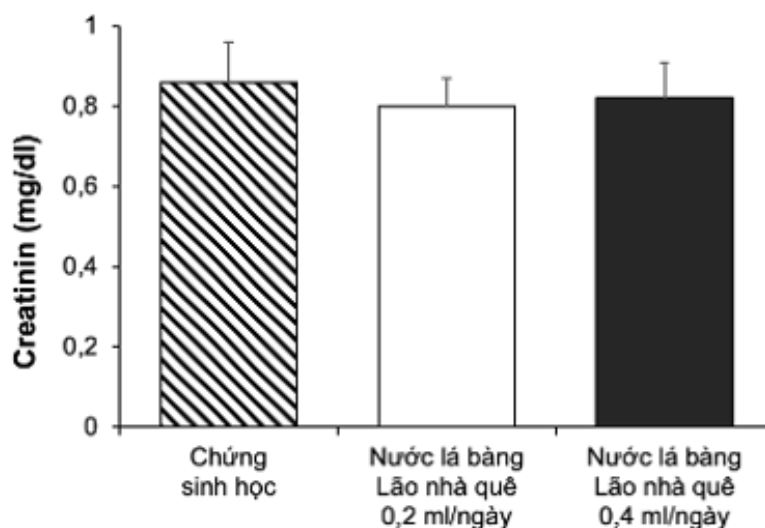
Lô chuột	Bilirubin toàn phần (mmol/l)	Albumin (g/dl)	Cholesterol toàn phần (mmol/l)
Chứng sinh học	9,29 ± 0,58	3,28 ± 0,19	2,46 ± 0,42

Lô chuột	Bilirubin toàn phần (mmol/l)	Albumin (g/dl)	Cholesterol toàn phần (mmol/l)
Bôi Nước lá bàng Lão nhà quê liều 0,1 ml/lần, 2 lần/ngày	9,20 ± 0,87	3,18 ± 0,24	2,40 ± 0,38
<i>p so với lô chứng</i>	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Bôi Nước lá bàng Lão nhà quê liều 0,2 ml/lần, 2 lần/ngày	8,84 ± 0,51	3,15 ± 0,30	2,15 ± 0,49
<i>p so với lô chứng</i>	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Kết quả ở Bảng 5 cho thấy: Sau 21 ngày dùng Nước lá bàng Lão nhà quê, xét nghiệm đánh giá nồng độ bilirubin toàn phần trong máu chuột, albumin, cholesterol toàn phần ở cả 2 lô

trị đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p > 0,05$).

Ảnh hưởng của Nước lá bàng Lão nhà quê đối với chức năng thận

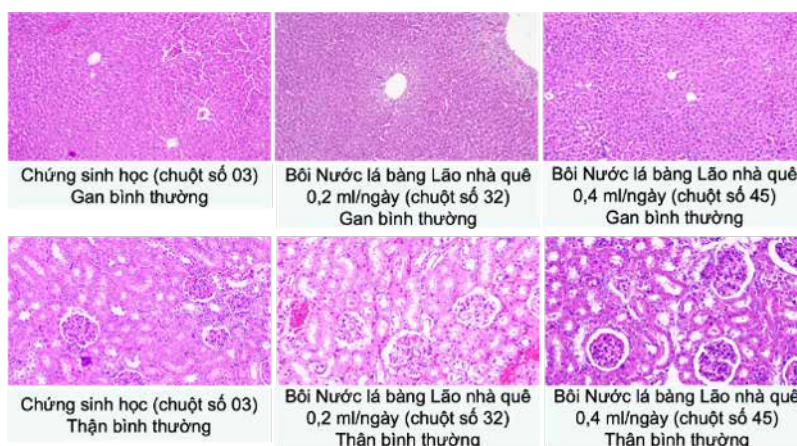


Biểu đồ 4. Ảnh hưởng của Nước lá bàng Lão nhà quê đến nồng độ creatinin trong máu chuột nhắt trắng

Kết quả ở Biểu đồ 4 cho thấy: Sau 21 ngày dùng Nước lá bàng Lão nhà quê, ở cả 2 lô trị, nồng độ creatinin trong máu chuột không có sự thay đổi khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p > 0,05$).

Hình ảnh vi thể

Không có sự khác biệt rõ rệt về mức độ tổn thương gan và thận của chuột trên hình ảnh giải phẫu bệnh giữa lô chứng sinh học và lô bôi Nước lá bàng Lão nhà quê.



Hình 3. Hình ảnh vi thể gan và thận (HE, 100X)

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu này đánh giá tác dụng liền vết thương và ảnh hưởng toàn thân của Nước lá bàng Lão nhà quê trên mô hình chuột nhất trắng gây loét da bằng doxorubicin. Kết quả nghiên cứu cho thấy Nước lá bàng Lão nhà quê bôi liều 0,1 và 0,2 ml/lần, 2 lần/ngày có tác dụng tăng liền sẹo trên mô hình chuột nhất gây loét da bằng doxorubicin thể hiện qua việc làm giảm diện tích tổn thương, cải thiện cấu trúc vi thể da so với lô mô hình. Ngoài ra, Nước lá bàng Lão nhà quê không gây độc tính toàn thân trên chuột nhất gây loét da.

Doxorubicin là thuốc điều trị ung thư thường dùng trên lâm sàng. Doxorubicin thuộc nhóm anthracyclin gây độc tế bào với cơ chế chính là gắn vào ADN, ức chế các enzym cần cho quá trình sao chép và phiên mã ADN của tế bào. Thoát mạch doxorubicin khi truyền là tai biến có thể gặp khi sử dụng thuốc đường truyền tĩnh mạch. Nồng độ thuốc hóa chất tại nơi thoát mạch cao gây lên hoại tử mô, gây viêm và đau tại vị trí thoát mạch. Cụ thể là sự hình thành phức hợp doxorubicin-ADN dẫn đến tế bào chết, sau đó doxorubicin được giải phóng và đến các tế bào lân cận, gây ra quá trình không kiểm soát. Điều này ngăn cản sự giải phóng cytokin và các yếu tố tăng trưởng, dẫn đến

không thể kích hoạt các tế bào tham gia vào quá trình lành vết thương. Ngoài ra, các gốc tự do như superoxid anion, các gốc hydroxyl và peroxid được tạo ra bởi sự tương tác của doxorubicin với màng ty thể, gây ra quá trình peroxid hóa lipid. Những gốc tự do này gây độc tế bào, dẫn đến tổn thương màng tế bào và giải phóng thêm các phức hợp doxorubicin-ADN. Do đó, phản ứng tại chỗ ngày càng lan rộng đến các tế bào khác, dẫn đến hoại tử mô thêm, hình thành một khu vực loét mạn tính trên bề mặt da, thường có hình tròn, sâu và cứng.^{13,14} Vì vậy, các nghiên cứu trên thế giới sử dụng doxorubicin đường tiêm trong da để gây ra vết loét mạn tính trên da động vật thực nghiệm.

Để điều trị thoát mạch do hoá chất, DMSO thường được sử dụng lâm sàng. Trong loét da do doxorubicin, các gốc tự do được tạo ra bởi sự khử enzym của doxorubicin. Các nghiên cứu *in vitro* và *in vivo* đã chứng minh rằng các chất chống oxy hóa mạnh, trong đó có DMSO, có thể giúp ngăn ngừa và điều trị loét da do doxorubicin thoát mạch nhờ tác dụng loại bỏ gốc tự do của chúng.¹⁵⁻¹⁷ DMSO đã được chứng minh là thúc đẩy quá trình lành vết thương bằng cách kích hoạt con đường tín hiệu Akt/mTORC1, tăng cường dịch mã của các gen liên

quan đến sự tăng sinh, tăng tốc độ tăng sinh nguyên bào sợi và di chuyển tế bào sừng, và tăng cường tiết chất nền ngoại bào.^{18,19} Vì vậy, DMSO được lựa chọn làm chứng dương trong nghiên cứu này.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, tại thời điểm kết thúc nghiên cứu, diện tích vết loét trên da của chuột lô mô hình vẫn lớn, nồng độ hydroxyprolin trong da giảm rõ rệt so với lô chứng sinh học. Như vậy, mô hình loét da mạn tính trên chuột nhất trắng đã thành công. Diện tích vết loét da và giải phẫu bệnh da của chuột là tiêu chí được đánh giá nghiên cứu. Tuy nhiên, trên hình ảnh vi thể nhuộm HE chỉ đánh giá chủ yếu về cấu trúc da, tình trạng viêm, sự tăng sinh tế bào sợi, tăng sinh mạch máu, biểu mô hóa vết thương. Sự hình thành collagen chưa được đánh giá trên vi thể da chuột. Thay vào đó, nghiên cứu này đánh giá nồng độ hydroxyprolin tại vị trí da tổn thương. Hydroxyprolin là một dấu hiệu sinh hóa quan trọng để theo dõi liền vết thương và chuyển hóa của collagen. Collagen là thành phần protein chính của mô liên kết, được cấu tạo chủ yếu từ glycin, prolin và hydroxyprolin. Tổng hợp collagen đòi hỏi quá trình hydroxyl hóa lysin và prolin. Phân hủy collagen giải phóng hydroxyprolin tự do và các peptid. Sự gia tăng hydroxyprolin cho thấy sự tổng hợp collagen tăng lên, tương ứng với việc tăng cường chữa liền vết thương.¹² DMSO thể hiện tác dụng tăng liền vết thương thông qua giảm diện tích tổn thương, cải thiện cấu trúc vi thể da, đồng thời làm tăng nồng độ hydroxyprolin trong da chuột có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình. Điều này phù hợp với kết quả thu được trong nghiên cứu này về tác dụng tăng liền vết loét mạn tính trên da của DMSO.¹⁸

Kết quả nghiên cứu cho thấy Nước lá bàng Lão nhà quê thể hiện tác dụng tăng liền sẹo trên mô hình chuột nhất gây loét da bằng doxorubicin. RA Nugroho và cộng sự đã chỉ ra rằng cao chiết nước của lá bàng có tác dụng làm tăng liền vết

thương trên vết rạch trên da trên chuột nhất. Lá bàng thể hiện tác dụng tăng liền vết thương thông qua việc làm thu hẹp diện tích tổn thương và tăng nồng độ hydroxyprolin trong da tại ngày thứ 12 sau khi bôi thuốc thử.⁵ Tuy nhiên, nghiên cứu này tiến hành trên chuột nhất bị rạch da. Đến nay chưa có nghiên cứu nào đánh giá tác dụng của cao chiết nước lá bàng trên mô hình loét da mạn tính. Ngoài tanin, trong thành phần của lá bàng còn chứa cả phytosterol, và flavonoid. Đây là các nhóm hợp chất chống viêm, kích thích sản sinh tế bào, đẩy nhanh tốc độ làm lành vết thương.⁸ Ngoài ra, tác dụng tăng liền vết thương của nước lá bàng có thể giải thích qua một số tác dụng đã được chứng minh của cao chiết nước của lá bàng như tác dụng chống oxy hoá, kháng khuẩn.^{7,8} Kết quả nghiên cứu này một lần nữa đã khẳng định tác dụng tăng liền vết thương mạn tính trên da của nước lá bàng. Trong dân gian, nước lá bàng được sử dụng từ lâu đời. Tuy nhiên, đến nay chưa có nghiên cứu nào đánh giá về độc tính của nước lá bàng. Hơn nữa, việc sử dụng sản phẩm bôi ngoài da kéo dài cũng có thể gặp tác dụng không mong muốn toàn thân, đặc biệt khi bôi trên vết thương hở.²⁰ Trong nghiên cứu này ảnh hưởng toàn thân của Nước lá bàng Lão nhà quê dùng theo đường bôi ngoài da được đánh giá thông qua tình trạng chung, các chỉ số huyết học, mức độ hủy hoại tế bào gan, chức năng gan, thận và hình thái vi thể gan, thận. Kết quả nghiên cứu cho thấy, Nước lá bàng Lão nhà quê dùng đường bôi ngoài da có tác dụng tăng liền vết thương trên mô hình chuột nhất gây loét da bằng doxorubicin và không gây độc tính toàn thân.

V. KẾT LUẬN

Nước lá bàng Lão nhà quê liều 0,1 ml/vết loét/lần, 2 lần/ngày và liều 0,2 ml/vết loét/lần, 2 lần/ngày có tác dụng tăng liền vết thương trên mô hình chuột nhất trắng gây loét da bằng

doxorubicin thể hiện qua việc làm giảm diện tích tổn thương, cải thiện cấu trúc vi thể da so với lô mô hình sau 21 ngày dùng thuốc thử. Nước lá bàng Lão nhà quê dùng đường ngoài da không gây độc tính toàn thân sau 21 ngày dùng sản phẩm thử trên chuột nhắt trắng gây loét da bằng doxorubicin.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Frykberg RG, Banks J. Challenges in the Treatment of Chronic Wounds. *Advances in Wound Care*. 2015; 4(9): 560-582.
2. Li FL, Wang YF, Li X, et al. Characteristics and clinical managements of chronic skin ulcers based on traditional chinese medicine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012; 2012: 930192.
3. Guo S, Dipietro LA. Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*. 2010; 89(3): 219-29.
4. Đỗ Tất Lợi (2004). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học, tr201-202
5. Nugroho RA, Utami D, Aryani R, et al. *In vivo* wound healing activity of ethanolic extract of *Terminalia catappa* L. leaves in mice (*Mus musculus*). *Journal of Physics: Conference Series*. 2019; 1277(1): 012031.
6. Chen PS, Li JH. Chemopreventive effect of punicalagin, a novel tannin component isolated from *Terminalia catappa*, on H-ras-transformed NIH3T3 cells. *Toxicology Letters*. 2006; 163(1): 44-53.
7. Chyau CC, Ko PT, Mau JL. Antioxidant properties of aqueous extracts from *Terminalia catappa* leaves. *LWT - Food Science and Technology*. 2006; 39(10): 1099-1108.
8. Mwangi WC, Waudo W, Shigwenya ME, et al. Phytochemical characterization, antimicrobial and antioxidant activities of *Terminalia catappa* methanol and aqueous extracts. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2024; 24(1): 137.
9. Alikhan FS, Maibach H. Topical absorption and systemic toxicity. *Cutaneous and Ocular Toxicology*. 2011; 30(3): 175-86.
10. Kesik V, Kurt B, Tunc T, et al. Melatonin ameliorates doxorubicin-induced skin necrosis in rats. *Annal of Plastic Surgery*. 2010; 65(2): 250-3.
11. Anh PTV, Huy VQ, Loan NTT, et al. The effects of KEM CON ONG and KEM TRI BONG creams on doxorubicin-induced skin ulcer in rats. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*. 2023; 166(5E12): 11-19.
12. Stegemann H, Stalder K. Determination of hydroxyproline. *Clinica Chimica Acta*. 1967; 18(2): 267-73.
13. Hilmer SN, Cogger VC, Muller M, et al. The hepatic pharmacokinetics of doxorubicin and liposomal doxorubicin. *Drug Metabolism and Disposition*. 2004; 32(8): 794-9.
14. Yilmaz M, Demirdover C, Mola F. Treatment options in extravasation injury: an experimental study in rats. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2002; 109(7): 2418-23.
15. Lebrede L, Barrie R, Woltering EA. DMSO protects against adriamycin-induced tissue necrosis. *Journal of Surgical Research*. 1992; 53(1): 62-5.
16. Olver IN, Aisner J, Hament A, et al. A prospective study of topical dimethyl sulfoxide for treating anthracycline extravasation. *Journal of Clinical Oncology*. 1988; 6(11): 1732-5.
17. Ludwig CU, Stoll HR, Obrist R, et al. Prevention of cytotoxic drug induced skin ulcers with dimethyl sulfoxide (DMSO) and alpha-tocopherole. *European Journal of Cancer and Clinical Oncology*. 1987; 23(3): 327-9.
18. Guo W, Qiu W, Ao X, et al. Low-concentration DMSO accelerates skin wound healing by Akt/mTOR-mediated cell proliferation

and migration in diabetic mice. *British Journal of Pharmacology*. 2020; 177(14): 3327-3341.

19. Kiritsi D, Nyström A. The role of TGFβ in wound healing pathologies. *Mechanism of*

Ageing and Development. 2018; 172: 51-58.

20. Alikhan FS, Maibach H. Topical absorption and systemic toxicity. *Cutaneous and Ocular Toxicology*. 2011; 30(3): 175-186.

Summary

WOUND HEALING EFFECTS OF NUOC LA BANG LAO NHA QUE ON DOXORUBICIN-INDUCED SKIN ULCER IN MICE

The study aimed to evaluate the wound healing effects of Nuoc la bang Lao Nha Que on doxorubicin-induced skin ulcers in Swiss mice and their systemic toxicity. skin ulcers in mice was induced by intradermally injecting 0.5 mg of doxorubicin and topically applying either dimethyl sulfate or Nuoc la bang Lao Nha Que for 21 consecutive days. Topical application of Nuoc la bang Lao Nha Que at 0.1 and 0.2 ml per application twice daily enhanced wound healing in mice's doxorubicin-induced skin ulcer model, as evidenced by reduced wounded size and improved histopathological structure of the affected tissues. Nuoc la bang Lao Nha Que at both doses tended to increase hydroxyproline levels in the mice's skin after 21 days of treatment. Additionally, the systemic toxicity of topical application of Nuoc la bang Lao Nha Que was assessed by evaluating haematological parameters, renal and hepatic functions and altering the histology of the liver and kidney. The results showed that after 21 days, topical administration of Nuoc la bang Lao Nha Que was deemed not to exert any systemic toxicity to the wounded animals. Thus, Nuoc la bang Lao Nha Que effectively treated skin ulcers while triggering no systemic toxicity in injured animals.

Keywords: Nuoc la bang Lao Nha Que, doxorubicin, skin ulcer, Swiss mice.