

KIỂM SOÁT PHÓNG THÍCH NANO-GRAPHENE OXIDE ỨNG DỤNG TIỀM NĂNG CHO CÁC BĂNG GẠC KHÁNG KHUẨN

Nguyễn Trung Hiếu¹, Er-Yuan Chuang²

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Graphene và họ graphene gần đây được nghiên cứu rộng rãi như một vật liệu sinh học lý tưởng cho các ứng dụng kỹ thuật mô và vận chuyển thuốc. Nhờ các đặc tính cơ sinh học tuyệt vời mà chúng có thể khắc phục những hạn chế của các giải pháp hiện tại dùng gạc vết thương dựa trên hydrogel và đáp ứng các yêu cầu chữa lành vết thương mãn tính của gạc kháng khuẩn.

Mục tiêu: Tìm ra một phương pháp khả thi để tẩm và kiểm soát phóng thích các hạt nano-graphene oxide (GO) từ màng liên kết chéo genipin - gelatin ứng dụng làm gạc vết thương kháng khuẩn.

Đối tượng - Phương pháp nghiên cứu: Dung dịch tiền gel gelatin - GO được pha ở các nồng độ định trước và được gel hóa bởi các nồng độ genipin (Gp) khác nhau. Sản phẩm nano gel tạo ra được đánh giá khả năng hấp thụ nước, tỷ lệ thoát hơi nước, các nghiên cứu in vitro về khả năng tương thích sinh học, kháng khuẩn, chữa lành vết thương. Bên cạnh đó, khả năng giải phóng GO cùng với tốc độ phân hủy của tẩm nano gel cũng được nghiên cứu kỹ lưỡng cho ứng dụng tiềm năng của băng gạc kháng khuẩn.

Kết quả: Các tẩm nano gel tạo ra có khả năng kiểm soát phóng thích GO tùy thuộc vào nồng độ Gp và nồng độ enzym mô phỏng môi trường vết thương. Ngoài ra, các hạt GO phóng thích từ tẩm nano gel có hoạt tính kháng khuẩn chống lại *Staphylococcus aureus* và *Pseudomonas aeruginosa* thông qua các cạnh sắc và cơ chế bao bọc của GO, đồng thời thúc đẩy sự lấp đầy các nguyên bào sợi ở người thuận lợi cho quá trình liền vết thương mãn tính.

Kết luận: Chúng tôi tin rằng việc kết hợp nano GO vào gelatin được gel hóa bởi Gp sẽ là một chiến lược khả thi để phát triển băng gạc vết thương đa chức năng cho các yêu cầu chữa lành vết thương mãn tính.

Từ khóa: gạc kháng khuẩn, genipin, hydrogel, nano-graphene oxide, vết thương

ABSTRACT

CONTROLLED RELEASE OF NANO-GRAPHENE OXIDE FOR POTENTIAL APPLICATION AS ANTIBACTERIAL WOUND DRESSINGS

Nguyen Trung Hieu, Er-Yuan Chuang

* Ho Chi Minh City Journal of Medicine * Vol. 26 - No 1 - 2022: 227-234

Background: Graphene and graphene-family have recently emerged as a shining star in biomaterials for tissue engineering and drug carrier applications due to their excellent properties, which could overcome the limitations of current hydrogel - based strategies and fulfill the requirements of antibacterial dressings for chronic wound healing.

Objective: To develop a feasible method to impregnate GO into genipin - crosslinked gelatin and control the GO particles released from nanocomposite hydrogel for application as antibacterial wound dressings.

Methods: GGO pre-hydrogel was crosslinked by different genipin (Gp) concentrations. The obtained nanocomposite hydrogels were evaluated by water absorption capacity, the in vitro studies of

¹Bộ môn Chấn Thương Chỉnh Hình, Khoa Y, Đại học Y Dược TP. HCM

²Khoa Kỹ Thuật Y Sinh, Đại Học Y Khoa Đài Bắc, Đài Bắc, Đài Loan

Tác giả liên lạc: TS.BS. Nguyễn Trung Hiếu

ĐT: 0909274971

Email: bshieundgd@gmail.com

biocompatibility, antibacterial, wound healing. Furthermore, the GO release kinetics in accordance with the degradation rate of nanocomposite hydrogels were thoroughly investigated to estimate the potential application as chronic wound dressings.

Results: *The GO release kinetics were depended on the crosslinking degrees and enzymatic levels following degradation rates. Most importantly, the released GO particles displayed uniformity and dispersity, retained the antibacterial activity against Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa via their sharp edges and wrapping mechanisms, and promoted human fibroblasts migration.*

Conclusion: *We highly believe that the incorporation of GO into genipin crosslinked gelatin hydrogels will be a feasible strategy to develop a multifunctional wound dressing for the requirements of chronic wound healing.*

Keywords: *antibacterial, genipin, hydrogel, nano-graphene oxide, wound healing*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Vết thương mạn tính là những vết thương không tiến triển qua các giai đoạn bình thường của quá trình lành vết thương một cách có trật tự và đúng thời gian. Có bốn giai đoạn liên tục và chồng lấp nhau của quá trình lành vết thương bình thường gồm giai đoạn cầm máu, viêm, tăng sinh và tái tạo. Bất kỳ rối loạn nào như viêm kéo dài hoặc quá mức, tăng sinh và di trú tế bào không đủ, quá trình hình thành mạch bị gián đoạn và nhiễm trùng dai dẳng đều có thể ảnh hưởng đến sự lành vết thương và chuyển thành vết thương mạn tính. Hậu quả có thể dẫn đến cắt cụt chi, nặng thêm bệnh tật và tử vong. Theo báo cáo của Trengove và cộng sự, mức metalloproteinase nền (MMP) ở vết thương mãn tính cao hơn 30 lần so với vết thương cấp tính (lần lượt là 22,8 µg/ml so với 0,76 µg/ml)^(1,2).

Cho đến nay vẫn chưa có phương pháp điều trị tối ưu cho các vết thương mãn tính không lành. Trong số các chất nano kháng khuẩn, nano bạc đã có mặt trên thị trường chăm sóc vết thương và đã đạt được một số thành công về mặt lâm sàng. Tuy nhiên, các hạt nano bạc không phải là giải pháp hoàn hảo trong việc thay thế thuốc kháng sinh do lo ngại về độc tính đối với người và cũng dễ gây ra sự phát triển dòng vi sinh vật kháng bạc. Do đó, các nanocarbon kháng khuẩn, đặc biệt là GO đã thu hút rất nhiều sự chú ý của các nhà nghiên cứu do tính tương hợp sinh học tốt, hoạt tính kháng khuẩn phổ rộng và kháng màng sinh học vi khuẩn⁽³⁾. Các cơ chế kháng khuẩn đặc biệt của GO bao

gồm các ứng suất oxy hóa hóa học, hiệu ứng dao nano sắc bén về mặt vật lý, các tế bào được bao bọc cơ học và chiết xuất lipid có thể tạo điều kiện thuận lợi cho việc thoát khỏi hoặc trì hoãn sự phát triển của vi sinh vật kháng GO⁽²⁾.

Dựa trên tất cả các đặc điểm tích cực của GO hướng tới việc chữa lành các vết thương mãn tính khiến nó trở thành một ứng viên tiềm năng để kết hợp vào băng gạc vết thương. Cho đến nay, vẫn chưa có nghiên cứu nào liên quan đến động học và hoạt tính sinh học của GO được giải phóng một cách có kiểm soát từ nano gel tổng hợp bởi gelatin - genipin tương ứng với nồng độ enzym tại chỗ của dịch tiết vết thương.

ĐỐI TƯỢNG - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chế tạo tấm nano gel

Bột gelatin được khuấy hòa tan trong nước cất 100 vòng/phút, ở 60°C trong 60 phút để thu được dung dịch màu vàng đồng nhất. Dung dịch GO được chuẩn bị bằng cách khuấy mạnh bột GO với nước cất trong 30 phút. Sau đó, dung dịch GO được làm cho phân tán đồng đều bằng sóng siêu âm (Elmasonic P, Đức) trong 15 phút ở 37°C. Tiếp theo, nhỏ giọt dung dịch GO vào dung dịch gelatin và tiếp tục khuấy mạnh ở 60°C trong 60 phút nữa. Để gel hóa bằng genipin (Gp) và thu được nano gel (3G), bột Gp được hòa tan trong dung môi etanol và nhỏ giọt vào dung dịch gelatin-GO rồi khuấy tiếp 2 phút. Đo pH và điều chỉnh đạt pH sinh lý từ 7,2 ~ 7,4 bằng dung dịch HCl. Lấy 500 µL dung dịch tiền gel cho vào mỗi giếng của đĩa 24 giếng và ủ ở 37°C cho đến khi gel hóa. Các nano gel được liên kết chéo

bằng Gp trong 48 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó chúng được rửa khử khuẩn bằng etanol 70% trong 30 phút, và rửa lại ba lần bằng PBS để làm sạch etanol. Nhóm chứng nghiên cứu dùng gel gelatin - Gp (2Gpx) được chế tạo cùng phương pháp như trên. Gelatin cho toàn bộ nghiên cứu được cố định ở 8 w/v%. Nồng độ của các thành phần khác trong các nano gel khác nhau được viết tắt là 3Gpx (px đại diện cho nồng độ Gp dao động từ 0,1 ~ 3% trọng lượng với nồng độ GO cố định là 1% trọng lượng) và 3GOy (Oy đại diện cho nồng độ GO dao động từ 0,5 ~ 2% trọng lượng với nồng độ Gp cố định là 1% trọng lượng)⁽²⁾.

Độ hấp thu nước của tấm nano gel (SR)

Các mẫu đông khô 2Gp1, 3Gpx và 3GOy, đã được cân trước, được ngâm trong PBS (pH 7,4) ở 37°C. Qua từng mốc thời gian, các mẫu được vớt ra, làm ráo nước bằng giấy thấm rồi cân lại. SR được tính theo công thức sau:

$$SR (\%) = [(Wt - W0) / W0] \times 100;$$

Trong đó Wt và W0 lần lượt là trọng lượng cân được theo mốc thời gian và trọng lượng ban đầu của mẫu. Thí nghiệm được lặp lại ba lần (n=3)⁽²⁾.

Tỷ lệ thoát hơi nước (WVTR)

WVTR được xác định bằng cách sử dụng các lọ thủy tinh (đường kính 16 mm) chứa nước cất, được đậy nắp bằng tấm gel thử nghiệm 2Gp1 và 3Gp1 (n=3). Các lọ không đậy nắp được sử dụng làm nhóm chứng. Tất cả các lọ được đặt trong tủ ủ ở 37°C và độ ẩm 95%. WVTR được ước tính là trọng lượng của nước mất qua một đơn vị diện tích của tấm gel thử nghiệm trong 24 giờ⁽²⁾.

Độ tan tấm nano gel trong môi trường men

Để mô phỏng độ tan của gel trong môi trường men như dịch vết thương, các mẫu đông khô 2Gp1 và 3Gpx được xác định trọng lượng, cho ngâm trong dung dịch cơ thể mô phỏng có chứa collagenase (SBF, pH 7,4) ở các nồng độ khác nhau là 2, 10 và 20 µg/ml, và được ủ ở 37°C. Môi trường enzym được làm mới mỗi ngày. Ở các khoảng thời gian xác định, các mẫu

được lấy ra và đông khô trong 48 giờ rồi cân lại. Độ tan của tấm nano gel trong môi trường men được thể hiện qua phần trọng lượng còn lại (WR) của gel được tính theo công thức sau:

$$WR (\%) = [(Wi - Wt) / Wi] \times 100;$$

Trong đó Wi và Wt lần lượt là trọng lượng ban đầu và trọng lượng quan sát được của mẫu tại thời điểm t. Thí nghiệm được lặp lại ba lần (n=3)⁽²⁾.

Giải phóng GO từ tấm nano gel

Chất dịch từ các mẫu 3Gpx bị tan trong môi trường men được quay ly tâm 5000 vòng/phút trong 10 phút để thu lại các GO được phóng thích ra. Sau khi ly tâm, GO phóng thích được hòa tan lại trong PBS và đo mật độ quang (OD) ở bước sóng 230 nm bằng máy quang phổ V-770 UV-Visible/NIR (Jasco, ST, USA) (n=3). Các nồng độ xác định trước của GO trong PBS được đo bằng OD để thiết lập đường cong chuẩn⁽⁴⁾.

Hoạt tính kháng khuẩn của GO được giải phóng từ nano gel

Hoạt tính kháng khuẩn của GO được giải phóng từ nano gel chống lại vi khuẩn *S. aureus* (BCRC10781) và *P. aeruginosa* (BCRC11864) được đánh giá bằng thí nghiệm đo mật độ quang vi khuẩn OD600 và đếm khuẩn lạc (CFU). Cấy 500 µL dung dịch vi khuẩn (OD600: 0,07) với các nồng độ GO khác nhau được giải phóng từ nano gel trong mỗi giếng của đĩa 24 giếng. Đĩa được ủ trong máy lắc 50 vòng/phút ở 37°C trong 24 giờ. Nhóm đối chứng là dung dịch vi khuẩn không có GO. Sau 24 giờ ủ, dung dịch vi khuẩn ở các giếng được đo giá trị OD600 và được pha loãng với nước muối 0,85% rồi lấy 100 µL trải đều lên các đĩa thạch LB. Các khuẩn lạc vi khuẩn được ghi lại và đếm sau khi ủ ở 37°C trong 18 giờ. Các thử nghiệm kháng khuẩn được lặp lại ba lần (n=3)⁽⁵⁾.

Kính hiển vi điện tử quét SEM được thực hiện để hiểu thêm về những thay đổi hình thái của vi khuẩn khi tiếp xúc với GO được giải phóng từ nano gel. Sau 3 giờ cấy với GO, dung dịch vi khuẩn được ly tâm hai lần với PBS ở tốc

độ 6000 vòng/phút trong 5 phút để loại bỏ hoàn toàn môi trường. Cố định vi khuẩn bằng dung dịch formalin 10% qua đêm và sau đó được khử nước bằng một loạt các dung dịch etanol (30% ~ 95%). Cuối cùng, lấy mỗi mẫu 1 giọt nhỏ lên lam kính và để khô ở nhiệt độ phòng rồi phủ lại bằng lớp bột vàng. Hình thái vi khuẩn có và không tương tác với GO được quan sát bằng kính hiển vi S-3500 SEM⁽⁵⁾.

Thử nghiệm lành vết thương trong ống nghiệm

Tế bào nguyên bào sợi của người (CG1475, BCRC, Đài Loan) được cấy trong đĩa 12 giếng ở mật độ 5×10^4 tế bào/giếng. Sau 24 giờ ủ, sử dụng đầu pipet 200 μ L vô trùng tạo một vết xước ở trung tâm của mỗi giếng rồi rửa sạch tế bào chết bằng PBS. Các mẫu gel 2Gp1 và 3GO1 được đặt vào các giếng và ủ với tế bào bằng môi trường nuôi cấy có chứa 1 μ g/ml collagenase (mô phỏng dịch tiết vết thương bình thường). Mức độ liền kín vết xước của tế bào ở 0, 12 và 24 giờ được ghi lại bằng kính hiển vi. Tỷ lệ đóng vết xước ở 12 giờ so với vết xước ở 0 giờ xác định tỷ lệ di chuyển tế bào⁽⁴⁾.

Phân tích thống kê

Dữ liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (SD).

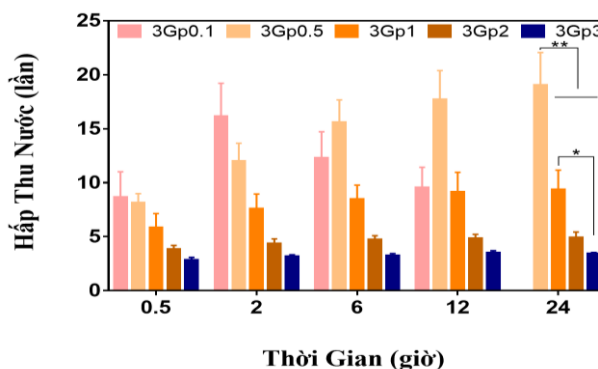
So sánh nhóm được thực hiện bằng phép kiểm Student's t không ghép đôi cho hai nhóm và phân tích phương sai một chiều (ANOVA) cho hơn hai nhóm, tiếp theo là phép kiểm Tukey.

Sự khác biệt về kết quả được coi là không có ý nghĩa (ns) và có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (*) và $p < 0,01$ (**).

KẾT QUẢ

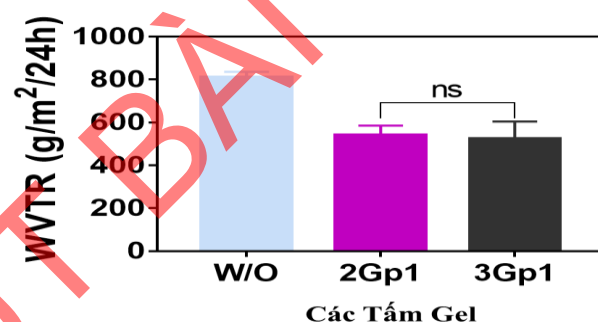
Khả năng hấp thụ nước

Hầu hết các nano gel tổng hợp đều tăng khả năng hấp thụ nước ngoại trừ 3Gp0.1. Nó hấp thụ nước rất nhanh trong vòng 2 giờ đầu với hơn 15 lần trọng lượng của nó và sau đó tan biến trong PBS. Điều này cho thấy gel 3Gp0.1 vẫn còn đặc tính thủy phân và không thích hợp làm gạc vết thương. Mặt khác, nồng độ Gp dùng càng thấp thì tốc độ hấp thụ nước càng cao ở 24 giờ đầu.



Hình 1: Mức độ hấp thụ nước theo thời gian của các nano gel sử dụng GO 1% và các nồng độ Gp khác nhau. (Nguồn: tác giả)

Tỷ lệ thoát hơi nước của tấm nano gel



Hình 2: Tỷ lệ thoát hơi nước của các tấm gel 2Gp1 so với 3Gp1. (Nguồn: tác giả)

WVTR của nhóm đối chứng, 2Gp1 và 3Gp1 lần lượt là $810 \pm 26,5$, $540 \pm 26,4$, 523 ± 47 g/m² mỗi 24 giờ. WVTR của gel 2Gp1 cao hơn không đáng kể so với nano gel 3Gp1. Những kết quả này cho thấy sự hiện diện của GO không ảnh hưởng đến WVTR của các tấm nano gel. Các tấm nano gel này cho thấy khả năng thoáng khí đáp ứng các yêu cầu của gạc vết thương.

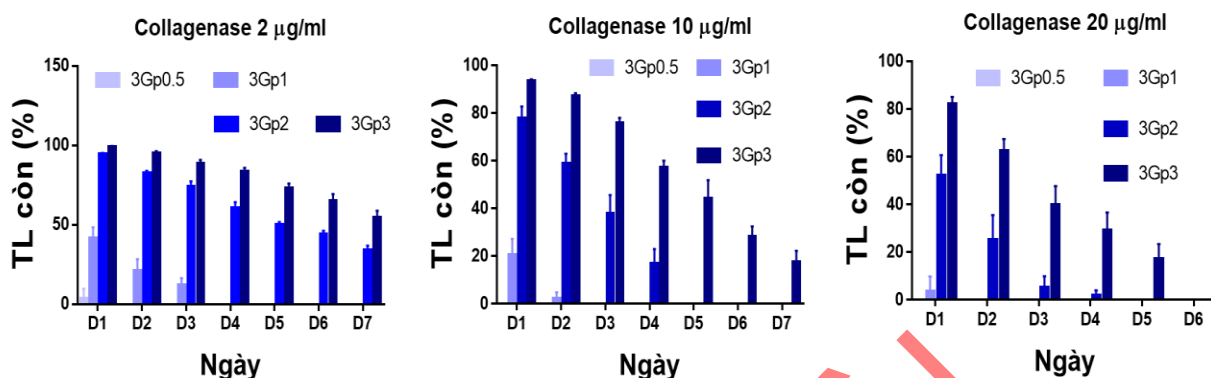
Độ tan tấm nano gel trong môi trường men

Để mô phỏng môi trường enzyme của vết thương, collagenase loại I với các nồng độ khác nhau (2, 10 và 20 μ g/ml) được sử dụng để ước tính tốc độ tan các nano gel và đặc tính phóng thích GO tương ứng. Nhìn chung, nồng độ Gp thấp hơn hoặc nồng độ enzyme cao hơn sẽ có thời gian phân hủy nano gel nhanh hơn. Do đó, nồng độ Gp cao hơn có thể thích hợp sử dụng cho các vết thương mãn tính có môi trường enzyme tại chỗ cao (Hình 3).

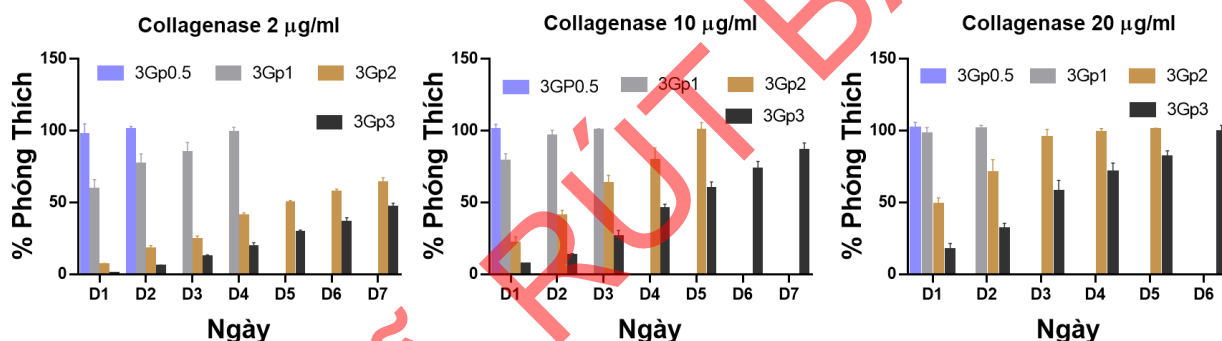
GO được phóng thích từ nano gel

Sự phóng của GO cũng bị chi phối bởi nồng độ Gp dùng trong gel và nồng độ enzyme tương ứng với tốc độ phân hủy của nano gel. Sự phóng thích GO tỷ lệ thuận trực tiếp với tốc độ phân

hủy của nano gel. Các nồng độ enzyme cao hơn hoặc nồng độ Gp thấp hơn dẫn đến việc giải phóng GO tích lũy nhanh hơn và cao hơn từ nano gel tổng hợp (Hình 4).



Hình 3: Trọng lượng còn lại của các nano gel sử dụng nồng độ Gp khác nhau gồm 3Gp0,5, 3Gp1, 3Gp2, 3Gp3 tan trong môi trường có nồng độ collagenase là 2 µg/ml, 10 µg/ml và 20 µg/ml. (Nguồn: tác giả)



Hình 4: Nồng độ GO tích lũy được phóng thích từ các nano gel sử dụng nồng độ Gp khác nhau gồm 3Gp0,5, 3Gp1, 3Gp2, 3Gp3 ở nhiều nồng độ collagenase khác nhau là 2 µg/ml, 10 µg/ml và 20 µg/ml. (Nguồn: tác giả)

Hoạt tính kháng khuẩn của GO được giải phóng từ nano gel

Để đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của GO, *S. aureus* và *P. aeruginosa* được tuyển chọn để ủ với các nồng độ GO khác nhau bằng cách sử dụng thí nghiệm OD600. Giá trị OD600 nm của cả hai dòng vi khuẩn đều giảm phụ thuộc vào nồng độ sau 24 giờ ủ với GO. Hơn nữa, kết quả giá trị OD600 nm phù hợp với kết quả thí nghiệm CFU. Số lượng khuẩn lạc trong nhóm 3GO2 cũng ít hơn đáng kể so với các nhóm khác đối với cả hai dòng vi khuẩn. Điều này có nghĩa GO phóng thích có thể ức chế sự phát triển của vi khuẩn một cách hiệu quả (Hình 5).

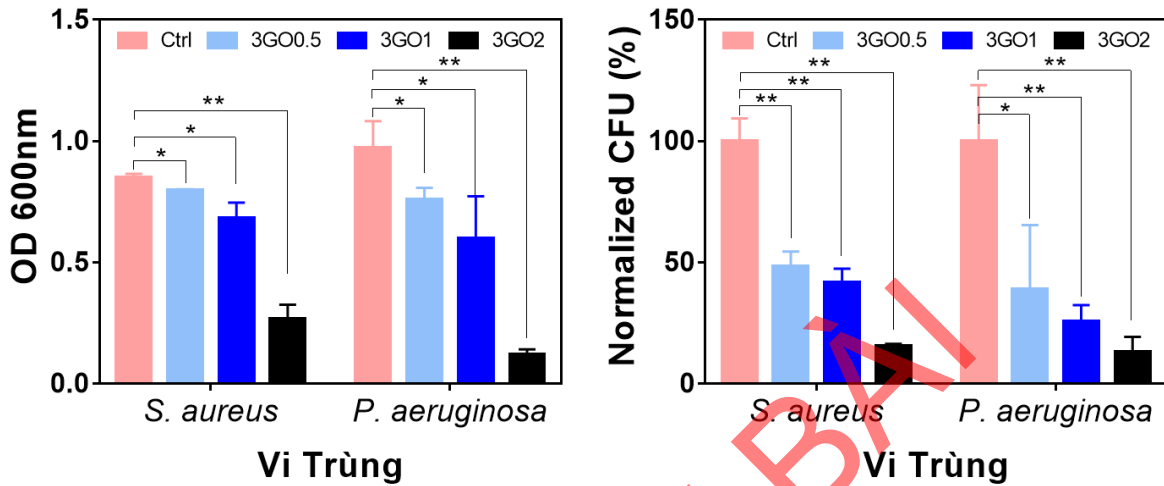
Để nghiên cứu sâu hơn ảnh hưởng của GO

phóng thích từ nano gel đối với hình thái vi khuẩn, phân tích hình ảnh SEM của hai chủng vi khuẩn ở trên đã được ghi lại sau khi cấy với GO phóng thích. Hầu hết *P. aeruginosa* bị mắc kẹt trong các tấm GO dẫn đến tách khỏi môi trường dinh dưỡng của chúng và không sinh sôi được. Với *S. aureus*, các cạnh sắc của tấm GO hoạt động như dao cắt qua màng tế bào của vi khuẩn, dẫn đến mất tính toàn vẹn của màng và cuối cùng là chết tế bào vi khuẩn (Hình 6).

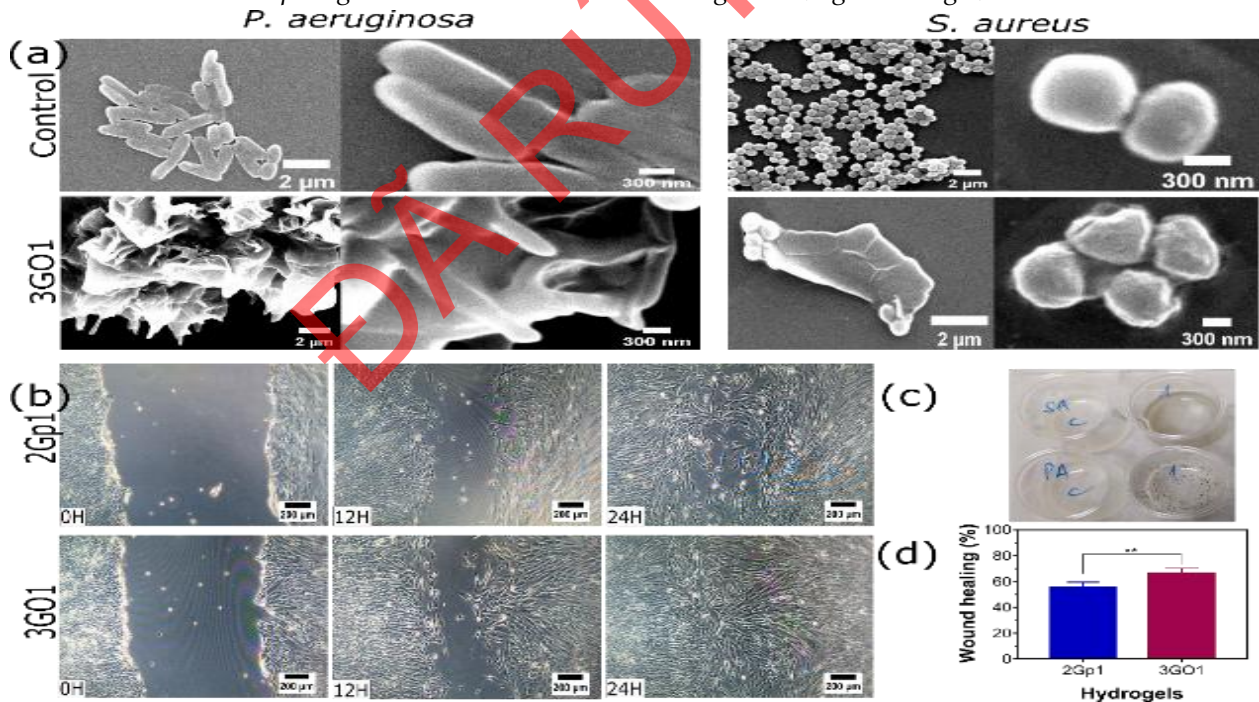
Để đánh giá ứng dụng tiềm năng của nano gel làm băng vết thương, thí nghiệm làm lành vết thương được tiến hành trên các tế bào nguyên bào sợi của người được cấy trực tiếp với gel 3GO1 so với 2Gp1 ở nồng độ thấp của

collagenase. Sự hiện diện của GO trong nano gel có thể tăng cường sự di chuyển của tế bào nguyên bào sợi của người một cách đáng kể sau 12 giờ cấy và đóng kín vết xước hoàn toàn ở 24 giờ so với gel 2Gp1. Tuy nhiên, xét nghiệm lành vết thương trong phòng thí nghiệm không thể

phản ánh tình hình thực tế của những vết thương phức tạp ở người và động vật. Do đó, một nghiên cứu in vivo nên được tiến hành để chứng minh hiệu quả và tạo điều kiện thuận lợi cho nano gel được đưa vào ứng dụng lâm sàng trong tương lai.



Hình 5: Thí nghiệm đo mật độ quang vi khuẩn OD600 nm và thí nghiệm CFU dùng nồng độ khác nhau của GO phóng thích ử với *S. aureus* và *P. aeruginosa*. (Nguồn: tác giả)



Hình 6: (a) Hình ảnh SEM của *P. aeruginosa* và *S. aureus* trước (đôi chứng) và sau 3 giờ tiếp xúc với GO phóng thích, (b) thí nghiệm lành vết thương của gel không có GO (2Gp1) so với gel có tăng cường GO (3GO1) trên tế bào nguyên bào sợi của người ở nồng độ collagenase thấp, (c) hình ảnh GO phóng thích ử với *S. aureus* (SA) và *P. aeruginosa* (PA) trong 3 giờ (C: nhóm chứng, 1: nhóm GO phóng thích), (d) dữ liệu định lượng của thí nghiệm lành vết thương bằng phần mềm Image J. (Nguồn: tác giả)

BÀN LUẬN

Nghiên cứu tạo ra các tấm nano gel ứng dụng làm gạc kháng khuẩn. Do đó, khả năng hấp thu nước của tấm nano gel phản ánh trực tiếp khả năng kiểm soát dịch tiết vết thương. Hầu hết các tấm nano gel đều tăng tốc độ hấp thu nước theo thời gian. Nồng độ Gp sử dụng thấp hơn sẽ có tốc độ hấp thu nước cao hơn đáng kể sau 24 giờ. Do đó, để sử dụng các nano gel này làm băng vết thương để kiểm soát dịch tiết ra, nên sử dụng Gp tối ưu từ 0,5 đến 1% trọng lượng. Khi nano gel hấp thu nước đạt trạng thái cân bằng, quá trình phân hủy sẽ xảy ra nếu nano gel liên tục tiếp xúc với môi trường enzym. Trên thực tế, dịch tiết vết thương chứa nhiều enzym khác nhau như serine proteinase, cysteine proteinase, aspartic proteinase và metalloproteinase nên với các nồng độ khác nhau tùy thuộc vào tình trạng vết thương⁽¹⁾. Do đó, nồng độ Gp dùng cao hơn có thể phù hợp để sử dụng cho các vết thương mãn tính có dịch tiết enzym tại chỗ cao.

Trong quá trình phân hủy, các nano gel bắt đầu phân ly từ ngoại vi đến trung tâm và giải phóng các hạt GO. Nồng độ enzyme cao hơn hoặc nồng độ Gp thấp hơn dẫn đến sự giải phóng GO tích lũy nhanh hơn và cao hơn từ các nano gel. Do đó, 3Gp1 có thể thích hợp sử dụng cho vết thương cấp tính với nồng độ enzym thấp, trái ngược với 3Gp2 và 3Gp3 cho vết thương mãn tính. Trong báo cáo của Rehman SRU sử dụng GelMA kết hợp GO cho thấy sự giải phóng GO liên tục và kéo dài phù hợp với việc kéo dài thời gian thủy phân trong PBS trong 28 ngày⁽⁴⁾. GO được giải phóng từ nano gel có thể kích thích tăng sinh tế bào, di chuyển tế bào và thúc đẩy sự hình thành các mạch máu mới để chữa lành vết thương.

Các thí nghiệm kháng khuẩn bao gồm OD600 nm và CFU chứng minh rằng GO phóng thích có thể ức chế hiệu quả sự phát triển của cả *S. aureus* và *P. aeruginosa* với đặc tính phụ thuộc nồng độ. Những kết quả này cho thấy rằng các nano gel được dùng làm băng vết thương dưới

dịch tiết enzym tại chỗ có thể giải phóng các hạt GO kháng khuẩn để ngăn ngừa nhiễm trùng vết thương hoặc tạo điều kiện chữa lành vết thương bị nhiễm trùng. Kể từ khi GO lần đầu tiên được báo cáo về việc ức chế đáng kể sự phát triển của vi khuẩn *E. coli* vào năm 2010. Điều này đã truyền cảm hứng cho các nghiên cứu về graphene và các vật liệu kháng khuẩn thuộc họ graphene để chữa lành các loại vết thương khác nhau như chitosan-PVA sợi nano chứa graphene chống lại vi khuẩn *E. coli* và vi khuẩn *Agrobacterium*, GO chống lại vi sinh vật gây vết thương mãn tính, muối amoni bậc bốn dựa trên cơ sở chống lại vi khuẩn Gram âm đa kháng và màng sinh học của chúng^(6,7). *P. aeruginosa* bị mắc kẹt trong các tấm GO phóng thích dẫn đến ngắt kết nối với môi trường dinh dưỡng của chúng và không sinh sôi được. Cơ chế bao bọc này của GO chống lại vi khuẩn cũng đã được báo cáo bởi Giulio và cộng sự dẫn đến mất tính toàn vẹn của màng và cuối cùng là chết tế bào vi khuẩn. Phát hiện của chúng tôi cũng giống như các ấn phẩm trước đây đã báo cáo rằng GO chứng minh đặc tính diệt khuẩn đối với vi khuẩn Gram dương và Gram âm dựa trên sự tiếp xúc trực tiếp của thành tế bào vi khuẩn với các cạnh sắc và các vị trí góc có trên các tấm GO, tiếp theo là sự xâm nhập hoàn toàn của graphene vào vi khuẩn thông qua lớp kép lipid⁽⁶⁾. Ngoài ra, sự di chuyển của các nguyên bào sợi từ bờ vết thương cũng là một trong những bước quan trọng trong quá trình chữa lành vết thương. Kết quả của chúng tôi được ủng hộ bởi Rehman và cộng sự sử dụng GelMA ngâm tấm GO có nồng độ 0,002% w/w đã tăng cường đáng kể sự di chuyển của nguyên bào sợi 3T3, tế bào nội mô EA.hy926 và tế bào sừng Haca⁽⁴⁾. Gần đây, Chen và cộng sự đã công bố việc kết hợp 0,5% trọng lượng GO trong nano gel chitosan-PVA giúp tăng đáng kể khả năng chữa lành vết thương thông qua việc tăng cường tái biểu mô hóa trong nghiên cứu in vivo⁽⁷⁾.

KẾT LUẬN

Các tấm nano gel chứa đựng GO và có thể được kiểm soát phóng thích các hạt GO tùy

thuộc vào nồng độ Gp và nồng độ enzym tương ứng với tốc độ phân hủy gel. Ngoài ra, các nano gel còn chứng minh khả năng phóng thích GO duy trì hoạt tính kháng khuẩn chống lại *S. aureus* và *P. aeruginosa* thông qua các cạnh sắc và cơ chế bao bọc của chúng, đồng thời thúc đẩy sự di cư của nguyên bào sợi ở người. Tận dụng đặc tính đa chức năng của GO, chúng tôi tin rằng nghiên cứu kết hợp GO vào hydrogel liên kết chéo sẽ là một chiến lược khả thi để phát triển băng vết thương đa chức năng cho các yêu cầu chữa lành vết thương mãn tính.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trengove N, Stacey M, Macauley S, Bennett N, Gibson J, Burslem F, et al (1999). Analysis of the acute and chronic wound environments: the role of proteases and their inhibitors. *Wound Repair and Regeneration*, 7.
2. Nguyen HT, Ho TL, Pratomo A, Ihsan NA, Huang TW, Chen CH, et al (2021). Enzymatically triggered graphene oxide released from multifunctional carriers boosts anti-pathogenic properties for promising wound-healing applications. *Materials Science and Engineering*, 128:112265.
3. Di Giulio M, Zappacosta R, Di Lodovico S, Di Campli E, Siani G, Fontana A, et al (2018). Antimicrobial and Antibiofilm Efficacy of Graphene Oxide against Chronic Wound Microorganisms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(7):e00547-18.
4. Rehman SRU, Augustine R, Zahid AA, Ahmed R, Tariq M, Hasan A (2019). Reduced Graphene Oxide Incorporated GelMA Hydrogel Promotes Angiogenesis For Wound Healing Applications. *Int J Nanomedicine*, 14:9603-17.
5. Wang H, Zhao B, Dong W, Zhong Y, Zhang X, Gong Y, et al (2020). A dual-targeted platform based on graphene for synergistic chemo-photothermal therapy against multidrug-resistant Gram-negative bacteria and their biofilms. *Chemical Engineering Journal*, 393:124595.
6. Karahan HE, Wiraja C, Xu C, Wei J, Wang Y, Wang L, et al (2018). Graphene Materials in Antimicrobial Nanomedicine: Current Status and Future Perspectives. *Advanced Healthcare Materials*, 7(13):1701406.
7. Chen S, Wang H, Jian Z, Fei G, Qian W, Luo G, et al (2020). Novel Poly (vinyl alcohol)/Chitosan/Modified Graphene Oxide Biocomposite for Wound Dressing Application. *Macromol Biosci*, 20(3):e1900385.

Ngày nhận bài báo: 10/12/2021
 Ngày nhận phản biện nhận xét bài báo: 10/02/2022
 Ngày bài báo được đăng: 15/03/2022