

Nghiên cứu tác dụng chống viêm loét dạ dày - tá tràng của bài thuốc “Kiện tỳ chỉ thống HV” trên thực nghiệm

EVALUATION OF PROTETIVE EFFECT OF “KIEN TY CHI THONG HV” REMEDY ON GASTRIC-DUODENAL ULCER IN EXPERIMENT

Nguyễn Thanh Trung¹, Phạm Quốc Bình¹, Phạm Thị Vân Anh², Đinh Thị Thu Hằng²

¹Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam

²Bộ môn Dược Lý, trường Đại học Y Hà Nội

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá tác dụng của bài thuốc “Kiện tỳ chỉ thống HV” (KTHV) trên chuột cống bị gây viêm loét dạ dày - tá tràng do indomethacin.

Đối tượng và phương pháp: Chuột cống trắng được chia thành 5 lô: Lô 1 (chứng sinh học) và lô 2 (mô hình); lô 3 (misoprostol 50 µg/kg), lô 4 (KTHV liều 15 g/kg) và lô 5 (KTHV liều 30 g/kg). Chuột ở các lô được uống nước cất, thuốc và mẩu thử liên tục trong thời gian 7 ngày. Vào ngày thứ 7, chuột được uống indomethacin liều 40 mg/kg. Sau 6 giờ, tiến hành đánh giá tỷ lệ chuột có viêm loét dạ dày-tá tràng, chỉ số loét, khả năng ức chế loét và hình ảnh đại thể và vi thể của các lô.

Kết quả: Indomethacin gây loét dạ dày tá tràng ở 100% trên chuột lô mô hình. KTHV cả 2 mức liều làm giảm số ổ loét, chỉ số loét, tăng khả năng ức chế loét và trên hình ảnh đại thể và vi thể cho thấy tổn thương trên dạ dày, tá tràng nhẹ hơn so với lô mô hình.

Từ khóa: Bài thuốc “Kiện tỳ chỉ thống HV”, viêm loét dạ dày-tá tràng, indomethacin, chuột cống.

ABSTRACT

Objectives: Investigate the protective effect of “Kien ty chi thong HV” remedy on rats with indomethacine-induced gastric-duodenal ulcer.

Methods and materials: The animals were divided into 5 groups: Group 1 (control), group 2 (model), group 3 (misoprostol 50µg/kg), group 4 (KTHV 15g/kg) and group 5 (KTHV 30g/kg). All of rats were treated for 7 consecutive days. On day 7, rats were induced peptic-duodenal ulcers by oral indomethacine 40mg/kg. After 6 h, the number of rats with ulcer, ulcer index, the percentage of inhibition against ulceration, macroscopic and microscopic images were estimated.

Ngày nhận bài: 1/3/2021

Ngày phản biện: 2/3/2021

Ngày chấp nhận đăng: 2/3/2021



Results: Indomethacine caused peptic ulcer in 100% of rats. KTHV at both doses reduced the number of ulcers and the ulcer indexes, increasing the percentage of inhibition against ulceration, decreasing the level of severity of gastric-duodenal ulcer in macroscopic and microscopic images when compared with model group.

Keywords: “Kien ty chi thong HV” remedy, peptic-duodenal ulcer, indomethacine, rats.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm loét dạ dày tá tràng (VLDD-TT) là bệnh tiêu hóa phổ biến trên toàn thế giới với tỷ lệ mắc mới hàng năm từ 58 - 142 trên 100.000 người/năm.¹ Bệnh là hậu quả của sự mất cân bằng giữa các yếu tố tấn công (acid, pepsin, *Helicobacter pylori*, NSAIDs, rượu...) và yếu tố bảo vệ niêm mạc (prostaglandin, chất nhầy và bicarbonat, tuần hoàn niêm mạc, hàng rào biểu mô). Nếu không được điều trị kịp thời, VLDD-TT có thể dẫn đến những biến chứng như thủng ổ loét, xuất huyết tiêu hóa, hẹp môn vị. Các thuốc điều trị VLDD-TT hiện nay gồm thuốc ức chế bơm proton (Proton pump inhibitors-PPIs), kháng histamin, thuốc trung hòa acid dịch vị...² Đây là các thuốc có hiệu quả điều trị tốt, tuy nhiên bệnh nhân có tỷ lệ tái phát loét cao do xuất hiện tình trạng tăng tiết acid hồi ứng sau ngừng PPI, một số tác dụng không mong muốn khi dùng thuốc kéo dài và giá thành còn cao. Trong bối cảnh đó, nhiều vị thuốc nguồn gốc từ thiên nhiên đã được chứng minh có tác dụng chống loét ngang hoặc hơn các thuốc y học hiện đại bằng thử nghiệm trên cả người và động vật với ít tác dụng không mong muốn và giá thành hợp lý.³

Bài thuốc “Kien ty chi thong HV” là chế phẩm kết hợp 12 vị thuốc y học cổ truyền đã được sử dụng rộng rãi trong dân gian và được nghiên cứu có tác dụng trong điều trị viêm loét dạ dày-tá tràng gồm có Đảng sâm, Hoài sơn, Bạch truật, Trần bì, Bán hạ, Cam thảo, Sa nhân, Bạch linh, Mộc hương, Chi xác, Hậu phác và Sa sâm⁴. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu về tác dụng điều trị VLDD-TT

khi kết hợp các thành phần này trong cùng 1 chế phẩm. Trên cơ sở đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm đánh giá tác dụng bảo vệ của Bài thuốc “Kien ty chi thong HV” trên mô hình gây loét dạ dày tá tràng bằng indomethacin trên chuột cống trắng thực nghiệm.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thuốc nghiên cứu

Bài thuốc “Kien ty chi thong HV” (KTHV): Dạng nước sắc, có nguồn gốc từ “Nam Y nghiệm phương” của tác giả Nguyễn Đức Đoàn. Nguồn thuốc được cung cấp tại Viện Dược liệu Trung ương theo tiêu chuẩn ĐĐVN V và tiêu chuẩn cơ sở.

Thành phần bài thuốc: 16g Đảng sâm, 16g Hoài sơn, 16g Bạch truật, 10g Trần bì, 10g Bán hạ, 04g Cam thảo, 04g Sa nhân, 10g Bạch linh, 04g Mộc hương, 10g Chi xác, 10g Hậu phác và 12g Sa sâm.

Thuốc nguyên liệu dạng phiến được bào chế dưới dạng nước sắc bằng máy sắc tự động theo tỷ lệ 1:1 (100mL nước với 100g dược liệu), một thang thuốc (124g dược liệu) sắc lấy 50mL, sau đó cô đặc còn 12,4mL, tương đương 10g/mL. Thuốc nghiên cứu được bào chế tại Viện Nghiên cứu - Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam.

Hóa chất và máy móc phục vụ nghiên cứu

Indomethacin viên nén 25 mg (Kwality Pharmaceutical - Ấn Độ). Misoprostol STADA viên nén 200 mcg (STADA - Việt Nam). Nước muối sinh lý NaCl 0,9% (HDPharma - Việt Nam). Formaldehyd 5%, các hóa chất làm giải phẫu bệnh. Dụng cụ sinh thiết, thước đo, dao phẫu tích.

Đối tượng nghiên cứu



Chuột cống trắng chủng *Wistar*, cả hai giống, khoẻ mạnh, trọng lượng 180 – 220g, được nuôi 7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu trong điều kiện phòng thí nghiệm tại Bộ môn Dược lý – Đại học Y Hà Nội.

Phương pháp nghiên cứu

Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con với tỷ lệ đực/cái như nhau ở mỗi lô:

Lô 1 (chứng sinh học): uống nước cất 10 mL/kg.

Lô 2 (mô hình): uống nước cất 10 mL/kg + indomethacin 40 mg/kg.

Lô 3 (chứng dương): uống misoprostol 50 µg/kg + indomethacin 40 mg/kg.

Lô 4 (KTHV liều thấp): uống KTHV liều 15 g/kg/ngày + indomethacin 40 mg/kg.

Lô 5 (KTHV liều cao): uống KTHV liều 30 g/kg/ngày + indomethacin 40 mg/kg.

Chuột được uống nước cất/thuốc thử liên tục trong 7 ngày, một lần vào buổi sáng với thể tích 10mL/kg. Ngày thứ 7 của nghiên cứu, sau khi uống nước/thuốc thử 1 giờ, tiến hành gây loét cho chuột ở các lô 2, 3, 4, 5 bằng cách cho uống indomethacin liều duy nhất 40mg/kg. Chuột nhịn ăn 18 tiếng trước khi uống indomethacin. Thời điểm 06 giờ kể từ khi uống indomethacin, mổ bụng, bộc lộ dạ dày chuột, phần ống tiêu hóa từ thực quản sát tâm vị đến ruột non cách môn vị 3 cm được cắt riêng rẽ, mở tá tràng và dạ dày bằng kéo theo đường bờ cong lớn. Rửa sạch bằng NaCl 0,9%, thấm bề mặt vết loét bằng formaldehyd 5%, cố định dạ dày tá tràng trên tấm xốp phẳng.

Các chỉ số đánh giá:

Đánh giá tỷ lệ chuột có loét dạ dày.

Đánh giá mức độ loét theo thang điểm của Reddy và cộng sự (2012) (Quan sát bằng kính lúp độ phóng đại 10 lần)(Bảng 1)⁵.

Bảng 1. Phân loại mức độ loét theo thang điểm

Đặc điểm	Điểm
Dạ dày bình thường (Normal colored stomach)	0
Sung huyết (Red coloration)	0,5
Chấm loét (Spot ulcer)	1
Vết xuất huyết (Hemorrhagic streak)	1,5
Loét sâu (Deep ulcers)	2
Thủng (Perforation)	3

- Chỉ số loét (Ulcer Index – UI) được tính bằng điểm mức độ loét trung bình của mỗi lô (theo thang điểm Reddy):

$$UI = (UI \text{ chuột } 1 + UI \text{ chuột } 2 + \dots + UI \text{ chuột } n) / n$$

- Khả năng ức chế loét:

$$\% \text{ Ức chế loét} = ((UI \text{ mô hình} - UI \text{ thuốc thử}) \times 100) / (UI \text{ mô hình})$$

- Hình ảnh đại thể dạ dày-tá tràng chuột

- Hình ảnh vi thể dạ dày-tá tràng của 30% số chuột cống trắng ở mỗi lô. Xét nghiệm giải phẫu bệnh được đánh giá tại Trung tâm Nghiên cứu và phát hiện sớm ung thư thuộc Liên hiệp các hội khoa học và kỹ thuật Việt Nam, kết quả do PGS.TS. Lê Đình Roanh đọc và đưa ra kết luận.

Xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và SPSS 22.0, sử dụng test thống kê thích hợp. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

KẾT QUẢ

Ảnh hưởng của KTHV lên đặc điểm tổn thương viêm loét

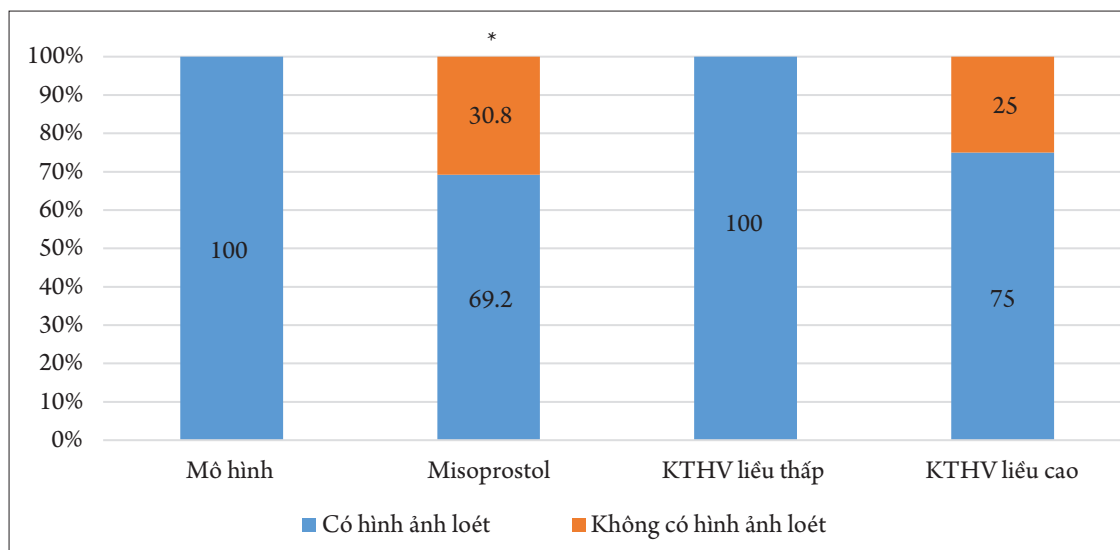
Tỷ lệ chuột có loét dạ dày tá tràng chuột

Kết quả biểu đồ 1 cho thấy: Tỷ lệ chuột bị loét ở lô mô hình là 100%. Misoprostol làm giảm rõ rệt



tỷ lệ loét do indomethacin so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Tỷ lệ chuột bị loét ở lô uống KTHV liều thấp (100%) không có sự thay đổi so với lô mô hình ($p > 0,05$).

Tỷ lệ chuột bị loét ở lô uống KTHV liều cao (75%) thấp hơn so với lô mô hình, tuy nhiên mức giảm này chưa đủ tạo ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.



Biểu đồ 1. Tỷ lệ chuột có có viêm loét dạ dày - tá tràng trên thực nghiệm

Chú thích: * $p < 0,05$ so với lô mô hình

Ảnh hưởng của KTHV đến số ổ loét và chỉ số loét trung bình

Bảng 2. Ảnh hưởng của KTHV đến chỉ số loét và khả năng ức chế loét

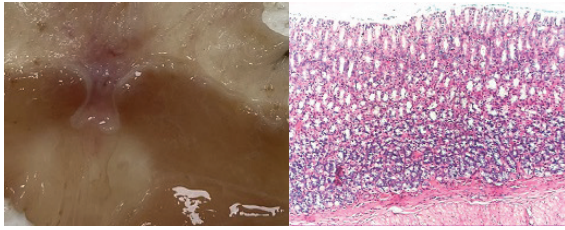
Lô nghiên cứu	Chỉ số loét	Khả năng ức chế loét (%)
Lô 2: Mô hình	1,40 ± 0,11	-
Lô 3: Misoprostol	0,87 ± 0,60*	37,86
Lô 4: KTHV liều 15 g/kg	1,36 ± 0,08	2,86
Lô 5: KTHV liều 30 g/kg	1,10 ± 0,64	21,43

Chú thích: * $p < 0,05$ so với lô mô hình

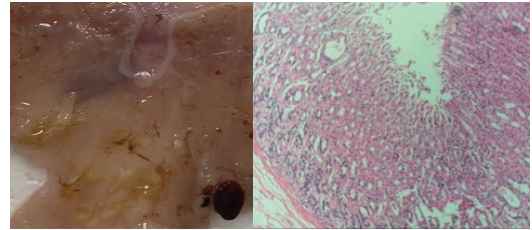
Misoprostol liều 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ làm giảm có ý nghĩa thống kê chỉ số loét so với lô mô hình ($p = 0,01$) với phần trăm ức chế loét là 37,86%. Mẫu KTHV ở cả hai mức liều đều có xu hướng làm giảm chỉ số loét so với lô mô hình. Trong đó KTHV liều cao có khả năng giảm chỉ số loét (1,10 ± 0,64) và khả

năng ức chế loét (21,43%) tốt hơn KTHV liều thấp (với chỉ số loét là 1,36 ± 0,08 và khả năng ức chế loét là 2,86%), tuy nhiên sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô mô hình ($p > 0,05$).

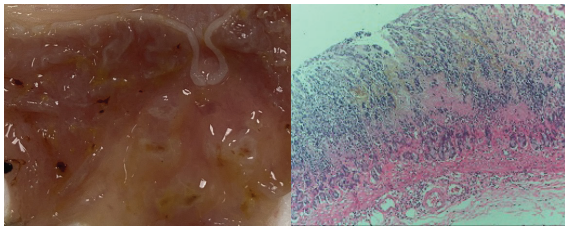
Hình ảnh đại thể và vi thể dạ dày-tá tràng của chuột sau 7 ngày uống thuốc



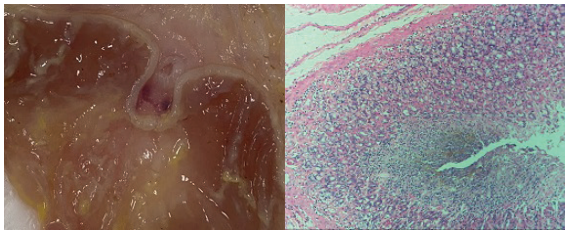
Ảnh 1. Hình ảnh đại thể và vi thể dạ dày, tá tràng chuột lô chứng (chuột số 7B) Dạ dày bình thường (HE x 400)



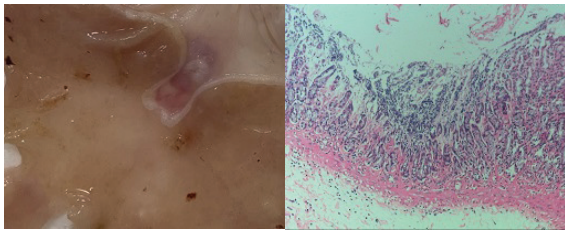
Ảnh 5. Hình ảnh đại thể và vi thể dạ dày – tá tràng chuột lô KTHV liều cao (Viêm loét mức độ nhẹ) (HE x 400)



Ảnh 2. Hình ảnh đại thể và vi thể dạ dày, tá tràng chuột lô mô hình (Viêm loét mức độ nặng) (HE x 400)



Ảnh 3. Hình ảnh đại thể và vi thể dạ dày-tá tràng chuột lô misoprostol (Viêm loét mức độ nhẹ)(HE x 400)



Ảnh 4. Hình ảnh đại thể và vi thể dạ dày – tá tràng chuột lô KTHV liều thấp (Viêm loét mức độ vừa) (HE x 400)

Kết quả cho thấy hình ảnh đại thể và vi thể dạ dày-tá tràng chuột ở lô chứng dương và lô uống KTHV có ít tổn thương và viêm loét ở mức độ nhẹ hơn lô mô hình. Trong đó, lô uống KTHV liều cao thể hiện tác dụng rõ rệt hơn liều thấp.

BÀN LUẬN

Viêm và loét dạ dày-tá tràng là bệnh lý thường gặp của đường tiêu hóa, trong đó có sự mất cân bằng giữa các yếu tố tấn công và yếu tố bảo vệ, lớp tế bào niêm mạc dạ dày bởi tổn thương ở các mức độ khác nhau bởi acid dịch vị và pepsin.⁶ Trên thế giới có nhiều mô hình thực nghiệm gây viêm loét dạ dày-tá tràng bằng các tác nhân như indomethacin, glucocorticoid, ethanol, acid acetic, indomethacin, stress, phẫu thuật thắt môn vị,...

Indomethacin là thuốc chống viêm thuộc nhóm non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) có tác dụng giảm đau và hạ sốt. Indomethacin có tác dụng ức chế mạnh quá trình tổng hợp prostaglandins là những chất trung gian trong quá trình viêm. Tác dụng chống viêm của indomethacin là nhờ khả năng ức chế tổng hợp prostaglandin E₂ và prostaglandin I₂ từ acid arachidonic qua con đường cyclo-oxygenase. Indomethacin ức chế cả hai enzyme cyclo-oxygenase I (COX-I) và cyclo-oxygenase-II (COX-II). Thiếu hụt enzyme COX-I gây ra một số tác dụng phụ như loét dạ dày của



các thuốc NSAID. Indomethacin nói riêng và các thuốc chống viêm không steroid nói chung ức chế enzym cylo-oxygenase do đó làm giảm tổng hợp prostaglandin dẫn đến giảm bài tiết chất nhày và bicarbonat, tạo điều kiện cho HCl và pepsin tấn công gây tổn thương niêm mạc và hệ thống mạch máu dưới niêm mạc, giảm lưu lượng máu nuôi dưỡng niêm mạc gây viêm loét dạ dày.⁷ Do đó, gây loét dạ dày bằng indomethacin là mô hình kinh điển dùng để nghiên cứu tác dụng bảo vệ dạ dày của thuốc theo cơ chế tăng cường yếu tố bảo vệ mà chủ yếu là tăng chất nhày bảo vệ niêm mạc.¹ Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng indomethacin liều 40 mg/kg dùng một lần duy nhất đường uống để gây mô hình loét dạ dày ở chuột cống trắng. Đây là mô hình được sử dụng từ lâu, tuy nhiên hiện nay vẫn rất phổ biến trên thế giới.

Kết quả nghiên cứu cho thấy indomethacin 40 mg/kg gây loét dạ dày tá tràng rõ rệt so với lô chứng sinh học với 100% chuột bị loét. Tỷ lệ chuột bị loét ở lô mô hình là 100%. Chuột ở lô misoprostol 69,2% có hình ảnh loét và 30,8% không có hình ảnh loét, sự khác biệt so với lô mô hình có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. 100% chuột ở lô KTHV liều thấp có hình ảnh loét. Tỷ lệ loét ở lô KTHV liều cao là 75%, có 25% không có hình ảnh loét. Cơ chế gây loét của indomethacin là làm giảm tiết chất nhày bảo vệ niêm mạc dạ dày. Vì vậy, kết quả bước đầu cho thấy KTHV có tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày, chống loét một phần do kích thích tiết chất nhày ở niêm mạc dạ dày.

Trong các mô hình nghiên cứu về loét dạ dày, có nhiều cách đánh giá khác nhau, nhưng đa số các tác giả đều đánh giá dựa vào chỉ số loét và phần trăm ức chế loét giữa các lô động vật thí nghiệm.⁶ Lô mô hình có chỉ số loét là $1,40 \pm 0,11$. Misoprostol liều 50 μ g/kg làm giảm chỉ số loét so với lô mô hình, xuống còn $0,87 \pm 0,60$ có ý nghĩa thống kê với $p <$

$0,05$. Lô KTHV liều thấp có chỉ số loét $1,36 \pm 0,08$, thấp hơn so với lô KTHV liều cao ($1,10 \pm 0,64$). Như vậy, KTHV có xu hướng giảm chỉ số loét so với lô mô hình, hay có sự cải thiện về mức độ loét cũng như số ổ loét trên mô hình chuột gây loét bằng Indomethacin 40mg/kg. Tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Khả năng ức chế loét của lô misoprostol liều 50 μ g/kg là 37,86%. Misoprostol có bản chất là prostaglandin E1, thuốc đã được chứng minh là có tác dụng tốt trong phòng và điều trị các trường hợp loét dạ dày do sử dụng NSAID ức chế enzym COX-1 nên làm giảm tổng hợp các PG có tác dụng bảo vệ dạ dày. Khả năng ức chế loét của KTHV liều cao (30 g/kg) là 21,43% cao hơn KTHV liều thấp (15 g/kg) là 2,86%.

Tổn thương đại thể và vi thể tương đương với các kết quả về chỉ số loét thu được. Trên lô uống misoprostol, đa số hình ảnh sung huyết trên đại thể, cũng như tổn thương viêm loét nhẹ đến vừa, chưa tổn thương đến lớp tuyến sát cơ niêm. Trên lô uống KTHV liều thấp có hình ảnh tổn thương từ viêm loét nhẹ đến nặng, rải rác tổn thương sâu đến lớp tuyến sát cơ niêm. Trên lô uống KTHV liều cao chủ yếu hình ảnh tổn thương viêm loét mức độ nhẹ đến vừa, không thấy có sự tổn thương đến lớp tuyến sát cơ niêm.

Các kết quả nghiên cứu này cho thấy KTHV cả 2 liều đều có tác dụng bảo vệ dạ dày-tá tràng trên mô hình gây loét bằng indomethacin. Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu về các thành phần trong bài thuốc “Kiện tỳ chỉ thống HV” trên thế giới. Theo nghiên cứu của Jalilzadeh-Amin G và cộng sự (2015) cho thấy chiết xuất hydroalcoholic của Cam thảo với các các liều khác nhau (50 – 200 mg/kg) có tác dụng cải thiện tình trạng loét trên mô hình gây loét dạ dày tá tràng bằng ethanol và indomethacin.⁷ Theo Li J và cộng sự (2017),

fructan CP-A typ inulin trong Đẳng sâm có tác dụng bảo vệ trong mô hình gây viêm loét dạ dày tá tràng bằng ethanol.⁸

KẾT LUẬN

Bài thuốc “Kiện tỳ chỉ thống HV” liều 15g/kg/ngày và liều 30g/kg/ngày dùng trong 7 ngày có tác dụng bảo vệ dạ dày-tá tràng trên mô hình chuột cống gây loét dạ dày - tá tràng bằng indomethacin.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Azhari H, Underwood F, King J, et al.** The Global Incidence of Peptic Ulcer Disease and Its Complications at the Turn of the 21st Century: A Systematic Review: 1199. *Off J Am Coll Gastroenterol ACG*. 2018;113:S684.
- Đào Văn Phan (2018)**, Dược lý học lâm sàng, Trường Đại học Y Hà Nội, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
- Bi W-P, Man H-B, Man M-Q.** Efficacy and safety of herbal medicines in treating gastric ulcer: a review. *World J Gastroenterol*. 2014;20(45):17020-17028.
- Đỗ Tất Lợi (2015)**, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học.
- Antonio J.M., Gracioso J.S., Toma W., et al (2004)**. Antiulcerogenic activity of ethanol extract of *Solanum variabile* (false “jurubeba”). *Journal of ethnopharmacology*, 93(1), 83-88.
- Patel K, Patel B, Patel A, Shah S (2017)**. Pharmacology Evaluation of Anti-ulcer Activity of *Caesalpinia crista* in Rats. *Int J Pharm Sci Nanotech*, Vol 10, Issue 4, 3772-3778.
- Jalilzadeh-Amin G., Najarnezhad V., Anassori E., Mostafavi M., et al (2015)**. Antiulcer properties of *Glycyrrhiza glabra* L. extract on experimental models of gastric ulcer in mice. *IJPR*, 14(4), 1163.
- Li J., Wang T., Zhu Z., et al (2017)**. Structure Features and Anti-Gastric Ulcer Effects of Inulin-Type Fructan CP-A from the Roots of *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(12), 2258.