

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM

BỘ Y TẾ



ĐÀO THỊ HƯỜNG

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG DƯỢC LÝ
CỦA BÀI THUỐC DDHV ĐIỀU TRỊ
VIÊM LOÉT DẠ DÀY TÁ TRÀNG DO
VI KHUẨN HELICOBACTER PYLORI
TRÊN THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

HÀ NỘI, NĂM 2019

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



ĐÀO THỊ HƯỜNG

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG DƯỢC LÝ
CỦA BÀI THUỐC DDHV ĐIỀU TRỊ
VIÊM LOÉT DẠ DÀY TÁ TRÀNG DO
VI KHUẨN HELICOBACTER PYLORI
TRÊN THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

Chuyên ngành: Y học cổ truyền

Mã số : 8720115

Hướng dẫn khoa học: PGS. TS. Đậu Xuân Cảnh

HÀ NỘI, NĂM 2019

LỜI CẢM ƠN

Sau 2 năm học tập khóa cao học tại Học viện Y học cổ truyền Việt Nam, đến nay tôi đã hoàn thành chương trình học tập. Với lòng biết ơn và kính trọng tôi xin chân thành cảm ơn:

- Ban Giám hiệu, phòng Đào tạo Sau đại học Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam.

- Ban Giám đốc, Viện nghiên cứu Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam.

- Tập thể bộ môn Dược lý Học viện Quân Y đặc biệt là PGS. Ts Nguyễn Hoàng Ngân đã giúp đỡ tôi tận tình để hoàn thành luận văn.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới là người Thầy PGS. TS Đậu Xuân Cảnh đã trực tiếp giúp đỡ, hướng dẫn, đóng góp nhiều ý kiến quý báu, tận tâm dìu dắt tôi từng bước hoàn thành luận văn.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới tất cả các Giáo sư, Phó giáo sư, Tiến sỹ trong Hội đồng: Là những người thầy, những Nhà khoa học dạy dỗ tôi suốt quá trình học tập và đóng góp cho tôi những ý kiến quý báu để tôi hoàn thành và bảo vệ thành công luận văn này.

Cuối cùng tôi xin dành những tình cảm trân trọng nhất cảm ơn gia đình, anh chị em, bạn bè những người luôn lo lắng, vất vả sớm hôm vì tôi, để cho tôi có được thành công ngày hôm nay.

Hà Nội, ngày tháng năm 2019

Học viên

Đào Thị Hương

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Đào Thị Hương, học viên cao học khóa 10 Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam, chuyên ngành Y học cổ truyền, xin cam đoan:

1. Đây là luận văn do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của Thầy PGS. TS Đậu Xuân Cảnh.

2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.

3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về những cam kết này.

Hà Nội, ngày tháng năm 2019

Người viết cam đoan

Đào Thị Hương

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

H.P	:	Helicobacter pylori
HE	:	Hematoxylin - Eosin
WHO	:	World health Organization - Tổ chức Y tế Thế giới
YHCT	:	Y học cổ truyền
YHHĐ	:	Y học hiện đại
TCCS	:	Tiêu chuẩn cơ sở

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Y học hiện đại về viêm loét dạ dày tá tràng	3
1.1.1. Định nghĩa.....	3
1.1.2. Nguyên nhân	3
1.1.3. Điều trị viêm loét dạ dày tá tràng có <i>Helicobacter pylori</i> theo y học hiện đại.....	4
1.2. Quan điểm Y học cổ truyền về viêm loét dạ dày	5
1.2.1. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh.....	6
1.2.2. Phân thể điều trị theo Y học cổ truyền.....	6
1.3. Một số nghiên cứu về Y học cổ truyền điều trị viêm loét dạ dày tá tràng	7
1.4. Tổng quan về mô hình gây viêm loét dạ dày tá tràng trên thực nghiệm	8
1.4.1. Mô hình gây viêm loét bằng phương pháp vật lý.....	8
1.4.2. Mô hình gây viêm loét bằng phương pháp hoá học.....	9
1.5. Tổng quan về bài thuốc DDHV	10
1.5.1. Hoài sơn	10
1.5.2. Bạch truật.....	11
1.5.3. Tam thất	11
1.5.4. Phục linh	12
1.5.5. Ô tặc cốt	12
1.5.6. Trần bì.....	13
1.5.7. Đẳng sâm	13
1.5.8. Mạch nha.....	14
1.5.9. Cam thảo	14
1.5.10. Mộc hương	15
1.6. Tổng quan về cao thuốc (cao dược liệu)	15
1.6.1. Khái niệm	15
1.6.2. Một số đặc điểm của cao thuốc.....	15

1.6.3. Kỹ thuật điều chế cao thuốc	16
1.6.4. Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cao thuốc	16
Chương 2. CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU ...	17
2.1. Đối tượng, vật liệu nghiên cứu	17
1.1.1. Chế phẩm nghiên cứu: bài thuốc DDHV.	17
1.1.2. Động vật nghiên cứu	18
2.1.3. Hóa chất nghiên cứu	20
2.1.4. Dụng cụ, máy móc, thiết bị	20
2.2. Phương pháp nghiên cứu	21
2.2.1. Bào chế cao đặc DDHV và xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cao đặc DDHV ...	21
2.2.2. Nghiên cứu tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày của cao đặc DDHV trên mô hình thực nghiệm gây loét dạ dày bằng Asprine kết hợp thất môn vị ở chuột cống trắng.	21
2.2.3. Nghiên cứu tác dụng giảm đau của cao đặc DDHV theo phương pháp “mâm nóng” (Hotplate).	23
2.2.4. Nghiên cứu tác dụng giảm đau của cao đặc DDHV theo phương pháp gây đau quặn bằng acid acetic (phương pháp Koster).	25
2.2.5. Nghiên cứu tác dụng ức chế vi khuẩn H.P của cao đặc DDHV	26
2.3. Xử lý số liệu	26
Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	27
3.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày của cao lỏng DDHV trên mô hình thực nghiệm gây loét dạ dày ở chuột cống trắng	27
3.1.1. Ảnh hưởng của DDHV lên các chỉ tiêu đánh giá về chức năng bài tiết dịch vị.	27
3.1.2. Ảnh hưởng của DDHV lên các chỉ tiêu đánh giá tổn thương loét	30
3.1.3. Kết quả đại thể và mô bệnh học dạ dày của chuột thí nghiệm.	32
3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau của DDHV theo phương pháp “mâm nóng” (Hotplate).	35
3.3. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau của DDHV theo phương pháp gây đau quặn bằng acid acetic (phương pháp Koster)	37

3.4. Tác dụng ức chế vi khuẩn <i>Helicobacter pylori</i> của DDHV in vitro	46
Chương 4. BÀN LUẬN	47
4.1. Mô hình loét dạ dày bằng Asprine kết hợp thất môn vị	47
4.2. Thuốc đối chứng omeprazol	47
4.3. Tác dụng của cao đặc DDHV	48
4.4. Về tác dụng giảm đau của cao đặc DDHV	51
4.5. Về tác dụng ức chế vi khuẩn <i>Helicobacter pylori</i> của DDHV	51
KẾT LUẬN	53
KIẾN NGHỊ VÀ ĐỀ XUẤT	55
TÀI LIỆU THAM KHẢO	56

DANH MỤC BẢNG

Bảng 2.1. Số lượng động vật thực nghiệm	18
Bảng 3.1. Ảnh hưởng của DDHV lên thể tích dịch vị của chuột nghiên cứu (n = 9).....	27
Bảng 3.2. Ảnh hưởng của DDHV lên pH dịch vị của chuột nghiên cứu (n = 9).....	28
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của DDHV lên độ acid tự do của dịch vị (n = 9)..	29
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của DDHV lên độ acid toàn phần của dịch vị (n = 9).....	30
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của DDHV lên các chỉ tiêu đánh giá tổn thương loét (n = 9).	31
Bảng 3.6: Ảnh hưởng của DDHV tới thời gian tiềm của chuột nhất trắng (n = 10)	35
Bảng 3.7: Ảnh hưởng của DDHV tới thời gian xuất hiện đau quặn của chuột nhất trắng (n = 10).....	38
Bảng 3.8: Ảnh hưởng của cao đặc DDHV tới số cơn đau quặn của chuột nhất trắng trong khoảng thời gian từ 0 đến 5 phút đầu tiên sau khi tiêm acid acetic (n = 10).	39
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của DDHV tới số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 5 đến 10 phút sau khi tiêm acid acetic (n = 10).	40
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của DDHV tới số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 10 đến 15 phút sau khi tiêm acid acetic (n = 10).	41
Bảng 3.11. Ảnh hưởng của DDHV tới số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 15 đến 20 phút sau khi tiêm acid acetic (n = 10).	42
Bảng 3.12. Ảnh hưởng của DDHV tới số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 20 đến 25 phút sau khi tiêm acid acetic (n = 10).	43
Bảng 3.13. Ảnh hưởng của DDHV tới số cơn đau quặn trong cả 25 phút sau khi tiêm acid acetic (n = 10).	45
Bảng 3.14. Mức độ ức chế vi khuẩn H.P của DDHV	46

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Ảnh 1.1. Hoài sơn	10
Ảnh 1.2. Bạch truật	11
Ảnh 1.3. Tam thất	11
Ảnh 1.4. Phục linh	12
Ảnh 1.5. Ô tặc cốt	12
Ảnh 1.6. Trần bì	13
Ảnh 1.7. Đẳng sâm	13
Ảnh 1.8. Mạch nha.....	14
Ảnh 1.9. Cam thảo	14
Ảnh 1.10. Mộc hương	15
Ảnh 2.1. Chuột nhất trắng và chuột cống trắng	19
Ảnh 2.2. Kính hiển vi soi nổi Luxeo 2S (a)	20
và Máy đo đau bản nóng lạnh - Hot Cold Plate (b)	20
Ảnh 3.1. Dạ dày chuột lô chứng (chuột số 04)	32
Ảnh 3.2. Dạ dày chuột lô mô hình (chuột số 12).....	32
Ảnh 3.3. Dạ dày chuột lô Omeprazole liều 20mg/kg/ngày (chuột số 22)	32
Ảnh 3.4. Dạ dày chuột lô DDHV liều 0,84g/kg/ngày (chuột số 32)	32
Ảnh 3.5. Dạ dày chuột lô DDHV liều 1,68g/kg/ngày (chuột số 44)	32
Ảnh 3.6. Mô bệnh học dạ dày chuột lô chứng (chuột số 05), HE,x 100 Hình ảnh niêm mạc dạ dày bình thường, không có tổn thương.....	33
Ảnh 3.7. Mô bệnh học dạ dày chuột mô hình (chuột số 14), HE,x 100 Hình ảnh tổn thương xâm nhiễm viêm, loét và bong tróc niêm mạc dạ dày	33
Ảnh 3.8. Mô bệnh học dạ dày chuột lô tham chiếu uống Omeprazole liều 20mg/kg/ngày (chuột số 21), HE,x 100. Tổn thương niêm mạc dạ dày có biểu hiện hồi phục, giảm viêm và giảm bong tróc niêm mạc	34
Ảnh 3.9. Mô bệnh học dạ dày chuột lô trị uống DDHV liều 1, (chuột số 32), HE, x 100. Tổn thương niêm mạc dạ dày có biểu hiện hồi phục, giảm viêm và giảm bong tróc niêm mạc	34

- Ảnh 3.10. Mô bệnh học dạ dày chuột uống DDHV liều 2, (chuột số 41), HE, x 100. Tổn thương niêm mạc dạ dày có biểu hiện hồi phục, giảm viêm và giảm bong tróc niêm mạc34
- Ảnh 3.11. Chuột nhắt trắng trong thử nghiệm tác dụng giảm đau của DDHV theo phương pháp “mâm nóng” (Hotplate). Chuột được đặt lên máy đo đau bàn nóng lạnh, nhiệt độ bề mặt đặt chuột được tự động duy trì ở nhiệt độ 56⁰C (±1⁰C) 36
- Ảnh 3.12. Chuột đưa chân sau lên liềm. Thời gian từ lúc đặt chuột lên bề mặt nóng đến khi chuột đưa chân sau lên liềm là thời gian tiềm. Thuốc có tác dụng giảm đau theo phương pháp “mâm nóng” sẽ làm kéo dài tiềm của chuột.....36
- Ảnh 3.13. Chuột nhắt trắng khi ở trạng thái bình thường (không đau quặn) trong đánh giá tác dụng giảm đau của DDHV theo phương pháp gây đau quặn bằng acid acetic (phương pháp Kosster)37
- Ảnh 3.14. Con đau quặn của chuột trắng với một số các biểu hiện sau: oằn thân, thóp bụng lại, áp bụng xuống sàn, duỗi dài thân và chân sau37

ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm loét dạ dày tá tràng là bệnh lý thường gặp, trong đó viêm loét dạ dày tá tràng mạn có *Helicobacter pylori* là yếu tố nguy cơ quan trọng nhất với ung thư dạ dày [33]. Kể từ khi được Warren J.R. và Marshall B.J. [49] phát hiện và công bố vào năm 1983 đến nay, *Helicobacter pylori* vẫn đang thu hút sự quan tâm nghiên cứu của cộng đồng y học trên toàn cầu. Năm 1994, Tổ chức Y tế thế giới ước chừng hơn 50% dân số toàn cầu bị nhiễm *H. pylori* [38], [34]. Ở Việt Nam, tỷ lệ nhiễm H.P ở lứa tuổi từ 15-75 là 56%- 75,2% với xét nghiệm huyết thanh học và tỷ lệ nhiễm trong các thể bệnh qua nội soi ở người lớn vào khoảng 53-89,5% tại một số bệnh viện thành phố lớn. Tỷ lệ nhiễm H.P trong viêm dạ dày mạn ở miền Bắc Việt Nam từ 53-72,8%; ở thành phố Hồ Chí Minh 64,7% [28],[11].

Viêm loét dạ dày, đặc biệt là viêm loét dạ dày có vi khuẩn HP dương tính nếu không được điều trị dễ gây nhiều biến chứng ảnh hưởng đến tính mạng như xuất huyết dạ dày, ung thư hóa,... [28], [3]. Tổ chức Y tế thế giới xác định việc điều trị diệt trừ *Helicobacter pylori* là một trong các biện pháp chủ yếu ngăn ngừa ung thư dạ dày [39] [43]. Xu hướng chung trong điều trị viêm loét dạ dày là loại trừ nguyên nhân gây bệnh, diệt vi khuẩn HP, bình thường hóa chức năng dạ dày, nâng cao khả năng miễn dịch sinh học của cơ thể và tăng cường quá trình tái tạo niêm mạc dạ dày. Các thuốc Y học hiện đại hiện nay rất nhiều và cho hiệu quả cao nhưng tỷ lệ kháng thuốc HP là một vấn đề quan tâm lớn của các nhà nghiên cứu [5], [8].

Theo Y học cổ truyền, viêm loét dạ dày tá tràng mạn tính là tình trạng rối loạn công năng của các tạng phủ Can, Tỳ, Vị và thường mô tả bệnh này trong các phạm trù “Vị quản thống”. Nguyên nhân gây chứng Vị quản thống theo YHCT có rất nhiều tập trung vào 3 nhóm nguyên nhân chính bao gồm nội nhân, ngoại nhân và bất nội ngoại nhân. Trong y học cổ truyền không có tên *Helicobacter pylori* nhưng đối chiếu với chứng bệnh mà nó gây ra thì đây là một loại tà khí gây bệnh - nhiệt tà [51], [52], [53]. Từ khi phát hiện sự có mặt của vi

khuẩn *Helicobacter pylori* trong niêm mạc dạ dày đã có sự thay đổi hẳn về quan niệm nguyên nhân gây bệnh, cũng như phương thức điều trị theo y học hiện đại và y học cổ truyền. Y học cổ truyền có nhiều phương pháp để điều trị bệnh này [41], [51]. Các thuốc thảo dược có khả năng diệt vi khuẩn H.P có rất nhiều và đã được chứng minh trên thực nghiệm, lâm sàng có hiệu quả điều trị cao. Bài thuốc DDHV gồm mười vị dược liệu, là bài thuốc nghiệm phương, dựa trên lý luận của y học cổ truyền trong điều trị chứng vị quản thống cũng như việc phối ngũ các vị thuốc theo pháp, phương và hài hòa các vị dược liệu để nâng cao chất lượng điều trị bệnh lý này. Bài thuốc đã được bước đầu đánh giá điều trị cho bệnh nhân viêm loét dạ dày mạn tính trên lâm sàng cho kết quả khả quan. Tuy nhiên chưa có một nghiên cứu một cách toàn diện, hệ thống để khẳng định hiệu quả của bài thuốc DDHV trong điều trị viêm loét dạ dày tá tràng do vi khuẩn *Helicobacter pylori*. Nghiên cứu đánh giá tác dụng của bài thuốc trên thực nghiệm là một bước quan trọng trong nghiên cứu phát triển hiện đại hóa Y học cổ truyền, tạo sản phẩm phục vụ rộng rãi cho cộng đồng.

Vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài “Nghiên cứu tác dụng dược lý của bài thuốc DDHV điều trị viêm loét dạ dày do vi khuẩn *Helicobacter Pylori* trên thực nghiệm”. Mục tiêu:

- *Nghiên cứu một số tác dụng giảm đau, chống viêm, bảo vệ niêm mạc dạ dày của cao đặc DDHV trên động vật thực nghiệm..*

- *Nghiên cứu tác dụng ức chế vi khuẩn *Helicobacter pylori* của cao đặc DDHV trên thực nghiệm.*

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Y học hiện đại về viêm loét dạ dày tá tràng

1.1.1. Định nghĩa

Viêm dạ dày tá tràng là thuật ngữ dùng để chỉ tất cả những tổn thương viêm ở niêm mạc dạ dày, tá tràng, thể hiện sự đáp ứng của niêm mạc dạ dày, tá tràng với các yếu tố tấn công [29], [44].

Loét dạ dày-tá tràng (peptic ulcer) là hệ quả cuối cùng của quá trình viêm do mất cân bằng giữa các yếu tố tấn công và các yếu tố bảo vệ niêm mạc dạ dày và tá tràng. Bệnh sinh viêm, loét dạ dày tá tràng phức tạp, do nhiều yếu tố tham gia cùng dẫn đến tăng tiết dịch vị vượt quá khả năng chống đỡ của niêm mạc dạ dày-tá tràng. Các tổn thương dạ dày-tá tràng có thể thấy được qua nội soi. Viêm dạ dày tá tràng mạn thường thể hiện dưới dạng tăng sinh tổ chức hạt gây viêm dạng hạt (granular gastritis). Khi tổn thương ăn sâu qua lớp cơ niêm dạ dày hoặc tá tràng sẽ dẫn đến loét (peptic ulcers).

1.1.2. Nguyên nhân

Viêm loét dạ dày tá tràng do nhiều nguyên nhân khác nhau và được chia thành 3 typ nguyên nhân:

Typ A (Autoimmune): Do tự miễn

Typ B (Bacteria): Do vi khuẩn. Nguyên nhân gây viêm dạ dày do vi khuẩn *Helicobacter pylori* chiếm đến 70-80% [40].

Typ C (Chemical) : Do các thuốc và hóa chất.

* *Vai trò của Helicobacter pylori:*

Năm 1983, Marshall và Warren mới nuôi cấy thành công và chứng minh vai trò gây bệnh của vi khuẩn sống trong niêm mạc dạ dày gọi là *Helicobacter pylori*, chúng có khả năng di chuyển xuống dưới lớp nhầy của niêm mạc dạ dày [48]. *H. pylori* là vi khuẩn gram âm có hình cong vắn, là nguyên nhân chính gây viêm dạ dày mạn tính hoạt động, loét dạ dày và nguy cơ gây ung thư dạ dày. Nguồn truyền nhiễm của *H. pylori* chủ yếu là người. Kết quả của các nghiên cứu cho thấy tỉ lệ

nhiễm *H. pylori* cao ở những gia đình có người mang vi khuẩn hoặc bị bệnh dạ dày tá tràng do nhiễm *H. pylori*. Tỷ lệ huyết thanh dương tính với *H. pylori* cao ở những người ngủ chung giường, sinh hoạt cùng phòng, sống trong điều kiện đông đúc như trại mồ côi, gia đình đông người chật chội [13], [45].

Tổn thương niêm mạc dạ dày tá tràng do H.P gây viêm loét dạ dày tá tràng qua 3 cơ chế khác nhau: sự thay đổi sinh lý dạ dày, nhiễm độc trực tiếp từ các sản phẩm của vi khuẩn, các phản ứng viêm với sự giải phóng nhiều sản phẩm phản ứng độc tố khác nhau [18], [10], [30]. Nếu nhiễm trùng không được điều trị thì sau 10-20 năm sẽ teo niêm mạc dạ dày, làm tăng pH dạ dày lên 6-8. Các tuyến bị mất, viêm teo niêm mạc dạ dày và dị sản ruột, điều này có thể khởi đầu cho giai đoạn ác tính [20].

1.1.3. Điều trị viêm loét dạ dày tá tràng có Helicobacter pylori theo y học hiện đại

Phương thức điều trị hiện nay dựa trên quan niệm cơ chế bệnh sinh của bệnh là sự mất cân bằng giữa các yếu tố bảo vệ niêm mạc và các yếu tố tấn công (acid và pepsin) với nguyên nhân sinh bệnh là nhiễm H.P. Do vậy điều trị viêm loét dạ dày có nhiễm H.P là sự kết hợp các tiêu chí sau [17]:

- Làm giảm acid HCL và pepsin (giảm yếu tố tấn công).
- + Thuốc giảm tiết acid và pepsin: thuốc ức chế thụ thể H_2 (Cimetidin, Tagamet,...), thuốc ức chế bơm proton (Omeprazole, Lansoprazole,...).
- + Thuốc trung hòa acid (Antacid): là nhóm thuốc có tác dụng trung hoà acid trong dịch vị, nâng độ pH của dạ dày lên (4-4,5) tạo điều kiện cho tái tạo niêm mạc bị tổn thương và giảm hoạt tính của Pepsin.
- Dùng các thuốc có tác dụng bảo vệ niêm mạc (tăng cường yếu tố bảo vệ).
- + Thuốc băng se niêm mạc dạ dày: Phosphalugel, Gastropulgite, Trymo, Noigel, Silicate Al (Kaolin, Smecta),...
- + Misoprostol là chất tổng hợp tương tự Prostaglandin E1, có tác dụng ức chế tiết acid dạ dày, tăng sinh chất nhầy bảo vệ niêm mạc dạ dày.

+ Epidermal growth factor, có tác dụng kích thích phân chia đối với các loại tổ chức tế bào trong cơ thể, chống lại sự tiêu hóa của protease, đóng vai trò quan trọng trong việc bảo vệ niêm mạc dạ dày và làm lành vết loét dạ dày.

- Dùng thuốc tiết trừ H.P (điều trị nguyên nhân).

Vi khuẩn H.P khó bị tiêu diệt vì nó nằm ở lớp màng nhày bao phủ niêm mạc dạ dày là nơi thuốc không khuếch tán tới được hoặc khuếch tán tới ít với nồng độ thấp. Mặt khác, H.P là vi khuẩn phát triển chậm, đòi hỏi phải phối hợp thuốc và dùng kéo dài. Muốn đạt được hiệu quả cao cần sử dụng thuốc có khả năng ức chế toan mạnh thông qua cơ chế thể dịch và thời gian bán hủy chậm để chuyển H.P từ dạng xoắn khuẩn hoạt động sang dạng cầu khuẩn ngừng hoạt động do vậy nhóm thuốc ức chế bơm proton PPI (Proton Pump Inhibitor) thường được lựa chọn. Đối với kháng sinh phải chịu được môi trường acid, có tác dụng cộng hưởng tăng hiệu lực, lưu kháng sinh ở dạ dày càng lâu càng tốt (chỉ dùng kháng sinh đường uống) và khả năng kháng thuốc với vi trùng ít nhất [15], [46]. Các kháng sinh thường được sử dụng trong điều trị tiết trừ H.P từ trước tới nay gồm: Amoxicillin, Clarithromycin, Metronidazole hoặc Tinidazole, Tetracycline. Những năm gần đây, với sự ra đời của nhiều loại kháng sinh mới được dùng tiết trừ H.P như: Levofloxacin, Furazolidone, Rifabutin [11], [1]. Ngoài ra các thuốc ức chế bơm proton, các muối Bismuth cũng có tác dụng diệt H.P theo cơ chế tự ức chế vi khuẩn của thuốc và đạt hiệu quả diệt trừ H.P cao khi kết hợp với thuốc kháng sinh trong các phác đồ điều trị tiết trừ H.P [11].

- Ngoài ra, để giảm đau cần dùng thuốc giảm đau chống co thắt cơ trơn: Atropin, Nospa, Spasmaverin,...

1.2. Quan điểm Y học cổ truyền về viêm loét dạ dày

Theo y học cổ truyền, các triệu chứng mô tả trong bệnh viêm loét dạ dày thuộc phạm trù “vị thông” [9], được mô tả trong sách nội kinh “Linh Khu trường luận” ghi: “Vị tương thì phúc mãn, vị quản thống, ảnh hưởng đến ăn uống, đại tiện khó” [12], [32]. Bệnh phần lớn do ăn uống thất điều, tinh thần căng thẳng, sinh hoạt không điều độ, ngoại tà xâm nhập,... dẫn đến khí cơ bị trở ngại, vị mất hòa giáng mà thành [12], [32].

1.2.1. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh

- Lục dâm xâm nhập: bệnh thường khởi phát vào mùa thu đông và đông xuân, thời tiết hay thay đổi là yếu tố thuận lợi cho tà khí của lục dâm như hàn tà, thấp tà dễ gây bệnh [12], [32].

- Bệnh tà trở lạc: bao gồm các sản phẩm bệnh lý được sinh ra như đàm, ứ, thấp trệ gây trở trệ vị lạc quay lạ gây nên bệnh [12].

- Tình chí thất điều: cấu gắt, giận dữ làm cho can khí uất kết, sơ tiết thất thường, đường vận hành khí bị trở trệ dẫn đến hoành nghịch phạm vị làm vị mất hoà giáng gây nên bệnh [12].

- Chính khí hư suy: bẩm tố bất túc (không đầy đủ) hoặc lao thương quá độ hoặc tỳ vị bị tổn thương lâu ngày hoặc thận dương bất túc làm rối loạn công năng ôn ấm... đều là nguyên nhân gây nên bệnh [12].

1.2.2. Phân thể điều trị theo Y học cổ truyền

Căn cứ vào các chứng trạng chia vị quản thống ra 4 thể lâm sàng [12], [32]:

1.2.2.1. Can vị bất hoà

- Triệu chứng lâm sàng: can khí uất kết hoành nghịch phạm vị gây nên bệnh, thường gặp ở thời kỳ đầu của bệnh loét dạ dày. Triệu chứng chủ yếu là đau vùng thượng vị thành cơn thường có chu kỳ, bụng đầy trướng, ản tức kèm ợ hơi, ợ chua, đại tiện táo bón, chất lưỡi hồng, rêu lưỡi vàng, mạch huyền.

- Pháp điều trị: sơ can lý khí, hoà vị chỉ thống.

- Bài thuốc: Sài hồ sơ can tán (*Cảnh Nhạc toàn thư*).

1.2.2.2. Tỳ hư can uất

- Triệu chứng lâm sàng: thường gặp khi bệnh tình kéo dài không khỏi dẫn đến tỳ khí hư nhược, can uất khí trệ, hư thực thác tạp với biểu hiện: đau thượng vị từng cơn với tính chất nóng rát, bứt rứt khó chịu, hay cấu gắt, miệng khô và đắng, ợ chua nhiều, đại tiện táo bón, tiểu tiện vàng, chất lưỡi hồng nhợt, rêu lưỡi vàng, mạch huyền sắc.

- Pháp điều trị: kiện tỳ sơ can, lý khí chỉ thống.

- Bài thuốc: Tứ quân tử thang (Thái bình huệ dân hoà tế cục phương) phối hợp với Tứ nghịch tán.

1.2.2.3. *Huyết ứ đình trệ*

- Triệu chứng lâm sàng: đau dữ dội vùng thượng vị, không thích xoa nắn.

Thể này có 2 loại là thực chứng và hư chứng:

+ Hư chứng: đau vùng thượng vị, cảm giác nóng rát, người gầy, mệt mỏi vô lực, không muốn ăn, chất lưỡi bệu có ban điểm ứ huyết, mạch tế sắc.

+ Thực chứng: đau như châm kim vùng thượng vị, có điểm đau cố định, không thích xoa nắn, buồn nôn và nôn ra máu, đi ngoài phân đen, chất lưỡi ám tím, rêu lưỡi vàng, mạch huyền sắc.

- Pháp trị (hư chứng): bổ huyết ích vị, hoà trung chỉ thống.

- Bài thuốc: Nhất quán tiễn phối hợp với Thược dược cam thảo thang gia giảm.

- Pháp trị (thực chứng): hoạt huyết hoá ứ, hoà vị chỉ thống.

Bài thuốc: Thất tiểu tán phối hợp với Đan sâm ẩm.

1.2.2.4. *Tỳ vị hư hàn*

- Triệu chứng lâm sàng: đau thượng vị liên tục thường không có chu kỳ, buồn nôn và nôn, cơ thể mệt mỏi, thích xoa bóp và chườm nóng, sợ lạnh, chân và tay lạnh, đại tiện thường phân nát, cũng có khi táo, chất lưỡi nhợt, rêu lưỡi trắng, mạch hư nhược.

- Pháp điều trị: ôn trung kiện tỳ, hoà vị chỉ thống.

- Bài thuốc: Hoàng kỳ kiến trung thang (*Kim quĩ yếu lược*).

1.3. Một số nghiên cứu về Y học cổ truyền điều trị viêm loét dạ dày tá tràng

Có nhiều nghiên cứu về các thuốc YHCT điều trị viêm loét dạ dày tá tràng cho thấy có hiệu quả tốt làm giảm acid dịch vị, ức chế H.P, làm liền tổn thương và giảm đau tốt cả trên lâm sàng và thực nghiệm. Một số nghiên cứu có thể kể tới như:

Nghiên cứu của Đỗ Thị Thanh Trung và cộng sự (2018) cho thấy có 10 trong tổng số 30 dược liệu được khảo sát có tác dụng ức chế vi khuẩn H.P mạnh, trong đó có một số loài như đỗ rùng, nghệ đen, trầu không, mộc hương [7].

Nghiên cứu của Vũ Minh Hoàn (2014) đánh giá tác dụng của cao lỏng Vị quản kháng trên bệnh nhân viêm dạ dày mạn tính *Helicobacter pylori* dương tính cho kết quả giảm rõ các triệu chứng trên lâm sàng và trên X quang [23].

Nghiên cứu của Nguyễn Văn Toại (2003) đánh giá tác dụng diệt *Helicobacter pylori* bằng hoạt chất toàn phần của lá trầu không trên thực nghiệm và

trong viêm dạ dày mạn tính, cho thấy hoạt chất toàn phần của lá trầu không có tác dụng ức chế HP mạnh và có tác dụng trong điều trị viêm dạ dày mạn tính [14].

Nghiên cứu của Vũ Nam (1995) cho thấy cây chè dây có tác dụng tốt trong điều trị loét hành tá tràng [22].

Trần Công Trường, Nguyễn Tuấn Lượng và cộng sự (2017) nghiên cứu tác dụng điều trị loét hành tá tràng của cốm An Vị trên mô hình thực nghiệm. Kết quả cho kết quả liền sẹo tốt [31].

Vũ Bình Dương, Nguyễn Hoàng Ngân và cộng sự (2015) đánh giá tác dụng của cốm dạ dày amiprogast gồm: Mai mực, Khương hoàng, Hương phụ, Cam thảo bắc, Hoài sơn, Chi xác, Mật ong trên mô hình gây loét bằng Indomethacine cho thấy có tác dụng làm giảm loét từ 48,82% (liều 1) đến 57,30% so với lô mô hình [21].

Cao Tiên Hỷ và cộng sự (2002) nghiên cứu thuốc cốm đơn số 12 (gồm: Hoài sơn, bột Nghệ, Trần bì, Phèn phi, Bàng sa phi, Hương phụ, Mai mực, Glucose, Belladon) điều trị loét dạ dày, hành tá tràng. Kết quả tỷ lệ 82,5% hết đau, 75% hết rối loạn tiêu hoá và 90% có hình ảnh Xquang tốt hơn sau 3 tháng điều trị [4].

Phạm Bá Tuyền nghiên cứu tác dụng của chế phẩm HPmax (Dạ cảm, Chè dây và lá Khôi) điều trị loét hành tá tràng có HP. Kết quả HPmax có tác dụng cắt cơn đau tốt tỷ lệ 33,3%, trung bình 61,9%, loại kém 4,8%; HPmax diệt 59,5% vi khuẩn HP [19].

1.4. Tổng quan về mô hình gây viêm loét dạ dày tá tràng trên thực nghiệm

Dựa trên những nghiên cứu về cơ chế bệnh sinh bệnh viêm loét dạ dày tá tràng, các mô hình gây viêm loét thực nghiệm đã mô phỏng điều kiện, nguyên nhân gây loét và tạo ra một tình trạng bệnh gần giống trong thực tế. Từ đó, nhà nghiên cứu đánh giá tác dụng chống viêm loét dạ dày tá tràng và cơ chế tác dụng của thuốc theo từng mô hình [27], [36].

1.4.1. Mô hình gây viêm loét bằng phương pháp vật lý

* *Mô hình thắt môn vị (mô hình Shay) trên chuột*: Shay và cộng sự (1945) đã đề xuất phương pháp thắt môn vị trên chuột cống. Đây là phương pháp mô phỏng tình trạng tăng tiết acid cũng như làm chậm tháo rỗng dạ dày tương tự bệnh hẹp môn vị, từ đó gây loét dạ dày tá tràng [36].

Chuột được cho uống thuốc trong 5-7 ngày hoặc hơn. Trước ngày uống liều thuốc cuối cùng, cho chuột nhịn đói 24-48 giờ nhưng vẫn cho uống nước trước khi làm thực nghiệm. Gây mê chuột, mổ ổ bụng bộc lộ môn vị dạ dày chuột. Dùng chỉ phẫu thuật thắt môn vị (tránh thắt vào động mạch tạng), rồi khâu đóng thành bụng. Sau 19 giờ, giết chuột, mở ổ bụng, cắt phần dạ dày ra khỏi ổ bụng. Dịch vị trong dạ dày được đo thể tích và quay li tâm để xác định độ acid bằng NaOH 0,1N. Dạ dày được mở dọc theo bờ cong lớn, rửa bằng nước muối sinh lý, thấm khô và cố định trên đĩa. Niêm mạc dạ dày được soi dưới kính hiển vi để kiểm tra mức độ tổn thương. Các vết loét thường xuất hiện nhiều ở dạ dày và hang vị.

*** Mô hình gây viêm loét bằng stress:**

- Gây stress bằng cách giữ cố định con vật thí nghiệm (phương pháp gò bó). Selye (1936) là người đầu tiên giới thiệu mô hình này, sau đó được cải tiến bởi các tác giả Hanson và Brodie (1960), Bofitls và cộng sự (1966). Gây stress bằng cách gò bó, con vật có tình trạng tương tự như bị một stress kéo dài [36] [16].

- Gây stress bằng cách nhúng đột ngột trong nước lạnh (cold restraint stress). Phương pháp này được Takagi và cộng sự (1964), West (1982) đề xuất. Nhúng con vật trong nước lạnh suốt quá trình làm thí nghiệm, kết hợp với việc giữ cố định con vật trong một thời gian ngắn để gây nên tình trạng bị kích thích như một stress kéo dài [42].

1.4.2. Mô hình gây viêm loét bằng phương pháp hoá học

* Mô hình gây viêm loét bằng acid: các acid thường dùng là acid HCl, acid acetic (dùng để gây mô hình loét mạn tính). Acid HCl thường dùng để gây viêm loét cấp. Acid acetic dùng gây viêm loét mạn [27], [36], [16].

* Mô hình gây viêm loét bằng thuốc chống viêm không steroid (NSAIDs): Các thuốc NSAIDs (Aspirin, Indomethacin...) làm ức chế tổng hợp prostaglandin và NO, kết quả gây suy giảm hàng rào bảo vệ bằng cách giảm sản xuất chất nhày, bicarbonat, giảm lưu lượng tuần hoàn, ngăn cản quá trình tái tạo niêm mạc. Ngoài ra còn tác dụng trực tiếp làm tổn thương niêm mạc do tính acid yếu. Dựa trên cơ chế này, các nhà nghiên cứu đã sử dụng NSAIDs như là một tác nhân gây viêm loét

trong mô hình thực nghiệm để nghiên cứu tác dụng chống viêm loét dạ dày của thuốc [27], [36].

* Mô hình gây viêm loét hành tá tràng bằng cysteamin [35], [47].

1.5. Tổng quan về bài thuốc DDHV

Bài thuốc DDHV là bài thuốc nghiệm phương, được sử dụng điều trị viêm loét dạ dày trên lâm sàng tại bệnh viện Tuệ Tĩnh, Học viện Y Dược học Cổ truyền Việt Nam, bước đầu cho thấy có kết quả khả quan. Bài thuốc DDHV gồm mười vị dược liệu với lượng dược liệu cho 01 thang thuốc dùng cho 01 người trong 01 ngày như sau:

STT	Tên Thuốc	Tên khoa học	Liều lượng
1	Hoài sơn	<i>Tuber Dioscoreae persimilis</i>	16g
2	Bạch truật	<i>Rhizoma Atractylodis macrocephalae</i>	10g
3	Tam thất	<i>Radix Panaxis notoginseng</i>	06g
4	Phục linh	<i>Poria</i>	06g
5	Mai mực	<i>Os Sepiae</i>	16g
6	Trần bì	<i>Pericarpium Citri reticulatae perenne</i>	06g
7	Đẳng sâm	<i>Radix Codonopsis pilosulae</i>	10g
8	Mạch nha	<i>Fructus Hordei germinates</i>	06g
9	Cam thảo	<i>Radix Glycyrrhizae</i>	02g
10	Mộc hương	<i>Radix Saussureae lappae</i>	06g

1.5.1. Hoài sơn

- Tên gọi khác: Củ mài, sơn dược, thur dự (Bản Kinh), hĩa dòi (Dao)..

- Tên khoa học: *Dioscorea persimilis* Prain et Burk. Họ: Củ nâu (Dioscoreaceae).

- Bộ phận dùng: Rễ củ (*Tuber Dioscoreae persimilis*).

- Tính vị: Vị ngọt tính bình. Quy kinh: Vào kinh tỳ, phế, thận

- Thành phần hóa học: Tinh bột 16%, choline, dopamine, batatine, abscisin, mannan, phytic acid [25]



Ảnh 1.1. Hoài sơn

- Dược năng: Ích khí, bổ tỳ âm, vị âm, phế âm, thận âm, sinh tân chỉ khát, bình suyễn, sáp tinh [6], [24].

- Chủ trị:

+ Dùng sống: trị bạch đái, thận kém, tiêu chảy do thấp hàn.

+ Dùng chín: chữa tỳ vị hư yếu. Trị lở, ung nhọt, thổ huyết.

Liều dùng: 9 - 30g dạng thuốc sắc hay thuốc bột, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

1.5.2. Bạch truật

- Tên gọi khác: Truật, Truật sơn kế (Bản Kinh), Sơn khương...

- Tên khoa học: *Atractylodes macrocephal* Koidz.

Họ: Cúc (*Compositae*).

- Tính vị: Vị ngọt, hơi đắng, tính ôn.

- Quy kinh: Vào kinh Tỳ, Vị.

- Thành phần hóa học: Thân rễ chứa 1,5% tinh dầu. Thành phần của tinh dầu gồm: atractylol, atractylenolid I, II và III, eudesmol và vitamin A. Ngoài ra còn có glycosid, inulin và muối kali atractylat [25].

- Dược năng: Ích khí, kiện tỳ, táo thấp, chỉ hãn, an thai [6], [24].

- Chủ trị: Dùng sống: trị thấp nhiệt. Tẩm hoàng thổ sao: bổ tỳ, trị nôn mửa, bụng trướng đau, an thai. Tẩm mật sao: bổ tỳ, nhuận phế. Sao cháy: cầm huyết, ấm trung tiêu.

Liều dùng: 5 - 15g.

Kiêng kỵ: Thận, tỳ hư không có thấp tà không nên dùng.



Ảnh 1.2. Bạch truật

1.5.3. Tam thất

- Tên khác: Điền thất, Sán xi (Mông) - Kim bất hoán...

- Tên khoa học: *Panax notoginseng* (Burk F.H. Chen)

- Họ: Nhân sâm (*Araliaceae*)

- Thành phần hóa học: chủ yếu là saponin. Ngoài ra còn có alkaloid, tinh dầu [26].



Ảnh 1.3. Tam thất

- Tính vị: Vị ngọt, hơi đắng, tính ôn. Quy kinh: Vào kinh Can, Vị, Đại trường.

- Công dụng và chủ trị: Cầm máu, tán ứ, tiêu sưng, ngừng đau [6], [24].

Liều dùng: Phần nhiều nghiền bột uống, 1 ~ 1,5g; Sắc uống 3 ~ 10g, cũng cho vào hoàn, tán. Dùng ngoài lượng thích hợp, nghiền bột thấm ngoài hoặc điều đắp.

Kiêng kỵ: người huyết hư nhưng không tụ huyết thì kiêng dùng; phụ nữ có thai kiêng dùng; người huyết hư, thổ huyết, đổ máu cam, huyết nhiệt an hành kiêng không dùng.

1.5.4. Phục linh

- Tên khác: bạch linh.
- Tên khoa học: *Poria cocos Wolf*.
- Họ: Nấm lỗ (*Polyporaceae*).
- Thành phần hóa học: Phục linh



Ảnh 1.4. Phục linh

chứa polysaccharid, acid pachymic, acid dehydropachymic, acid pinicolic, adenin, cholin, lecithin, dầu béo, sucrose, fructose, muối vô cơ [25]

- Tính vị: Vị nhạt tính bình. Qui kinh: qui kinh Tâm, Tỳ, Thận.

- Công dụng và chủ trị: bổ tỳ, lợi tiểu, kiện tỳ, định tâm, chữa suy nhược cơ thể, phù thũng, tiêu chảy, tỳ hư, bụng đầy chướng. Phục linh bì ưu tiên lợi tiểu, tiêu thũng; xích linh hành thủy, trừ thấp, bạch linh bổ tỳ vị, chống hư tổn. Liều dùng hàng ngày: 10 - 20g. Dùng riêng hoặc phối hợp với các vị thuốc khác [6], [24].

Phục linh thiên về thấm nhạt, đối với người hư hàn hoặc tinh và khí hư hạ hãm, cần bớt liều dùng hoặc khi dùng phải thận trọng.

1.5.5. Ô tặc cốt

- Tên khác: mai mực, hải phiêu tiêu.
- Tên khoa học: *Os Sepiae*
- Thành phần chủ yếu: Calcium carbonate, calcium phosphate, magnesium chloride, sodium chloride, ohitin.



Ảnh 1.5. Ô tặc cốt

- Tính vị: Vị mặn, tính hơi ôn. Quy kinh: Vào kinh can, thận, vị.

- Công dụng và chủ trị: Thông huyết mạch, trừ hàn thấp. Trị đới hạ, bế kinh, đau dạ dày [6], [24].

Liều dùng: Một số bài thuốc dùng ô tặc cốt điều trị viêm loét dạ dày hành tá tràng với liều dùng 16g trong 01 thang thuốc.

Thận trọng và chống chỉ định: không dùng ô tặc cốt cho các trường hợp âm suy và nhiệt vượng.

1.5.6. Trần bì

- Tên khác: quất bì, quảng trần bì, vỏ quýt...
- Tên khoa học: *Citrus deliciosa Tenore*
- Họ Cam (Rutaceae).
- Thành phần hoá học: Thành phần chính là tinh dầu



Ảnh 1.6. Trần bì

(khoảng 2%). Các hoạt chất quan trọng trong thành phần tinh dầu,

bao gồm: limonene, isopropenyl-toluen, humulene, hesperidin, vitamin B1, vitamin C...[26]

- Tính vị: Vị cay, tính ôn (Bản Kinh). Không độc (Biệt Lục).
- Quy kinh: Vào kinh Phế, Can, Tỳ (Lôi Công Bào Chế Dược Tính Giải).
- Tác dụng: Hành thủ thái âm, túc thái âm kinh (Bản Thảo Phẩm Hội Tinh Yếu). Giải tửu độc (Thang Dịch Bản Thảo). Lợi Phế khí (Trân Châu Nang).

- Liều dùng: 4 – 12g.

1.5.7. Đẳng sâm

- Tên khác: Ngân đằng – Cây đùi gà – Phòng đẳng sâm
- Tên khoa học: *Codonopsis pilosula* (Franch) Nannf.
- Họ: Hoa chuông (*Campanulaceae*)
- Bộ phận dùng: Bộ phận dùng làm thuốc của cây Đẳng sâm là rễ củ.



Ảnh 1.7. Đẳng sâm

- Tính vị: Vị ngọt, tính bình. Quy kinh: Vào kinh tỳ, phế.

- Thành phần hoá học: Saponin, đường, tinh bột [25]

- Công năng, chủ trị: Bổ trung ích khí, kiện tỳ, ích phế. Làm thuốc bổ máu, tăng hồng cầu. Dùng trong bệnh suy nhược, ăn không ngon, thiếu máu, ốm lâu ngày, lòi dom, sa dạ con, rong huyết. Kiên ky: Không dùng chung với Lê lô [6], [24].

Liều lượng: Ngày 6 -12g, có thể đến 40g.

1.5.8. Mạch nha

- Tên khác: Lúa mạch, Đại mạch, Mâu mạch, Nhu mạch, Nếp mạch.
- Tên khoa học: *Fructus Hordei germinatus*.
- Họ: Lúa (*Poaceae*)
- Thành phần hoá học chính: Trong hạt có tinh bột, chất béo, protid, đường, các men amylase, maltase, vitamin B,C. Trong mầm hạt có men giúp cho sự tiêu hoá, chất hordenin [25].



Ảnh 1.8. Mạch nha

- Tính vị: vị ngọt tính bình. Qui kinh: Tỳ, vị, can.
- Công năng, chủ trị: mạch nha có tác dụng tiêu thực hòa trung, cắt giảm sữa (hồi nhũ). Chủ trị các chứng: thực tích đình trệ, rối loạn tiêu hóa, phụ nữ cắt sữa, vú sưng đau [6], [24].
- Liều lượng: Ngày dùng 12-30g, dưới dạng nước pha hay cao mạch nha.
- Phụ nữ cho con bú không nên dùng

1.5.9. Cam thảo

- Tên gọi khác: Bắc cam thảo, cam thảo, quốc lão.
- Tên khoa học: *Glycyrrhiza* spp. – Fabaceae.
- Thành phần hoá học chính: hoạt chất chính trong cam thảo là chất glyxyridin (glycyrrhizin) với tỷ lệ 6-14%, có khi lên tới 23%. Ngoài ra có tinh bột, tinh dầu, asparagin, vitamin C, các chất anbuyminoit, gôm, nhựa [25].



Ảnh 1.9. Cam thảo

- Tính vị, quy kinh: vị ngọt, tính bình, vào kinh tỳ, vị, phế và tâm.
- Công năng, chủ trị: chỉ khái, hóa đàm.
- Tác dụng dược lý: có tác dụng tăng giải nhiệt, chống rối loạn nhịp tim, ngoài ra còn có tác dụng giải độc đối với rất nhiều loại thuốc và độc tố, như Acetylcholin, Pilocarpin [6], [24].

1.5.10. Mộc hương

- Tên khác: Vân mộc hương, Quảng mộc hương.
- Tên khoa học: *Radix Saussureae*. Họ Cúc (*Asteraceae*).
- Thành phần hóa học: Trong củ có costus lactone, dihydrocostus lactone, saussurea lactone, costunotide và dihydrocostunolide [25].



Ảnh 1.10. Mộc hương

- Tính vị: Vị cay, đắng, tính ấm.
- Qui kinh: Tỳ, Vị, Đại tràng, Đờm.
- Công năng, chủ trị: Hành khí, chỉ thống, kiện tỳ, hòa vị, khai uất, giải độc, lợi tiểu. Dùng trị cảm lạnh khí trệ, thượng vị trường đau, ỉ, tiêu chảy, nôn mửa, tiểu tiện bí tắc, đầy bụng không tiêu, không muốn ăn, đau dạ dày. Ngày dùng 4 - 6g dạng thuốc sắc hoặc bột [6], [24].

- Tác dụng dược lý:

+ Trên thực nghiệm, Mộc hương có tác dụng chống co thắt cơ ruột trực tiếp làm giảm nhu động ruột. Thuốc có tác dụng kháng Histamin và acetylcholine, chống co thắt phế quản, trực tiếp làm giãn cơ trơn của phế quản.

+ Nồng độ tinh dầu 1:3.000 có tác dụng ức chế liên cầu khuẩn, tụ cầu vàng và trắng sinh trưởng.

1.6. Tổng quan về cao thuốc (cao dược liệu)

1.6.1. Khái niệm

Cao thuốc (cao dược liệu) là chế phẩm điều chế bằng cách cô hoặc sấy đến thể chất qui định các dịch chiết thu được từ dược liệu thực vật hay động vật với các dung môi thích hợp.

Cao thuốc được chia làm 3 loại: cao lỏng, cao đặc, cao khô.

Dịch chiết được cô đặc đến khi độ ẩm còn lại không quá 20% ta được cao đặc.

1.6.2. Một số đặc điểm của cao thuốc

- Đã được loại bỏ một phần hoặc hoàn toàn các tạp chất (chất nhầy, gôm, nhựa,...).

- Trong quá trình điều chế có thể hình thành một số chất là sản phẩm của quá trình oxy hóa, thủy phân, tác dụng của enzym. Tỷ lệ hoạt chất trong cao thuốc (đặc, khô) thường cao hơn tỉ lệ hoạt chất trong dược liệu.

- Cao thuốc ít khi được sử dụng trực tiếp, thường được dùng để bào chế các dạng thuốc khác như siro, potio, viên tròn, thuốc mỡ, thuốc đạn, thuốc trứng, viên nén, thuốc bột .

1.6.3. Kỹ thuật điều chế cao thuốc

Quá trình điều chế cao đặc thường bao gồm những giai đoạn sau:

a. Điều chế dịch chiết

- Chọn nguyên liệu: bào gồm chọn dược liệu và dung môi chiết.
- Chọn phương pháp chiết xuất.

b. Loại tạp chất

Tùy vào loại tạp chất là tan trong nước hay tan trong ethanol mà có những phương pháp xử lý khác nhau.

c. Cô đặc

Mục đích là để điều chế cao lỏng và cao đặc. Khi cô không được gây phân hủy hoạt chất có trong dịch chiết, do vậy cần chú ý đến các điều kiện sau: cô ở nhiệt độ thấp, thời gian cô ngắn, cô dịch chiết loãng trước, dịch chiết đậm đặc sau.

1.6.4. Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cao thuốc

Tiêu chuẩn cơ sở được xây dựng dựa trên các kết quả nghiên cứu khoa học và công nghệ, tiến bộ kỹ thuật, kinh nghiệm, nhu cầu và khả năng thực tiễn. TCCS có thể được xây dựng theo những phương thức cơ bản sau:

- Chấp nhận tiêu chuẩn quốc gia, tiêu chuẩn khu vực hoặc tiêu chuẩn nước ngoài tương ứng thành tiêu chuẩn cơ sở.
- Sửa đổi, bổ sung tiêu chuẩn cơ sở hiện hành.
- Xây dựng mới tiêu chuẩn cơ sở trên cơ sở sử dụng các kết quả nghiên cứu khoa học và công nghệ, các kết quả thử nghiệm, đánh giá, phân tích và thực nghiệm.

Chương 2

CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, vật liệu nghiên cứu

1.1.1. Chế phẩm nghiên cứu: bài thuốc DDHV.

Thành phần của bài thuốc DDHV

STT	Tên Thuốc	Tên khoa học	Liều lượng
1	Hoài sơn	<i>Tuber Dioscoreae persimilis</i>	16g
2	Bạch truật	<i>Rhizoma Atractylodis macrocephalae</i>	10g
3	Tam thất	<i>Radix Panaxis notoginseng</i>	06g
4	Phục linh	<i>Poria</i>	06g
5	Mai mực	<i>Os Sepiae</i>	16g
6	Trần bì	<i>Pericarpium Citri reticulatae perenne</i>	06g
7	Đẳng sâm	<i>Radix Codonopsis pilosulae</i>	10g
8	Mạch nha	<i>Fructus Hordei germinates</i>	06g
9	Cam thảo	<i>Radix Glycyrrhizae</i>	02g
10	Mộc hương	<i>Radix Saussureae lappae</i>	06g

Các dược liệu trong bài thuốc được dùng dưới dạng dược liệu khô và đạt tiêu chuẩn trong Dược điển Việt Nam V.

Từ các dược liệu khô của bài thuốc DDHV, tiến hành nghiên cứu chiết xuất và bào chế cao đặc DDHV, xây dựng tiêu chuẩn cơ sở và kiểm định tiêu

chuẩn cho cao đặc DDHV. Cao đặc DDHV đạt tiêu chuẩn cơ sở được sử dụng là chế phẩm nghiên cứu để đánh giá tác dụng trên thực nghiệm.

Cao đặc DDHV được pha loãng trong nước cất thành các dung dịch có nồng độ khác nhau tùy theo mức liều sử dụng cho chuột uống, dùng để đánh giá tác dụng trên thực nghiệm.

Liều dùng được tính theo g dược liệu khô/kg/ngày hoặc g cao đặc/kg/ngày. Liều dự kiến sử dụng trên người là 84g/người/ngày. Tính quân bình một người 50kg thì liều dùng dự kiến trên người sẽ là 1,68g/kg/ngày. Quy đổi theo hệ số quy đổi từ người sang động vật thực nghiệm [2], liều tương đương trên chuột nhất với hệ số quy đổi là 12 thì liều dự kiến có tác dụng trên chuột nhất là 20,16g/kg/ngày. Quy đổi ra liều tương đương trên chuột cống với hệ số quy đổi là 07 thì liều dự kiến có tác dụng trên chuột cống là 11,76 g/kg/ngày. Từ các mức liều dùng tính theo g dược liệu khô/kg/ngày và tỷ lệ điều chế (từ bao nhiêu g dược liệu khô để tạo ra 1 g cao đặc DDHV), ta tính được mức liều dùng tính theo g cao đặc/kg/ngày.

1.1.2. Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, Chuột cống trắng chủng Wistar với số lượng được trình bày ở bảng 2.1.

Bảng 2.1. Số lượng động vật thực nghiệm

Động vật	n	Tiêu chuẩn	Nghiên cứu
Chuột nhắt trắng chủng Swiss	40	khỏe mạnh, trọng lượng 18 - 22g	Mô hình “mâm nóng”
	40		Mô hình gây đau quận bằng acid acetic
Chuột cống trắng chủng Wistar	50	khỏe mạnh, trọng lượng 160 - 180g	Mô hình gây viêm loét dạ dày

Các chuột khỏe mạnh được đánh giá gồm: lông mượt, mắt trong, hậu môn khô, hoạt động, vận động bình thường, ăn uống bình thường, chất thải bình thường. Việc

lựa chọn chuột nghiên cứu được tiến hành bởi 2 kỹ thuật viên có nhiều kinh nghiệm. Sau khi lựa chọn xong, trực tiếp cán bộ nghiên cứu kiểm tra, đánh giá lại.

Động vật thí nghiệm do Ban chăn nuôi - Học viện Quân y cung cấp, nuôi dưỡng trong phòng nuôi động vật thí nghiệm ít nhất một tuần trước khi tiến hành thí nghiệm. Động vật ăn thức ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu, nước sạch đun sôi để nguội uống tự do. Hàng ngày theo dõi ghi chép diễn biến kết quả thí nghiệm.



Chuột cống trắng, chủng Wistar, 160 – 180g



Chuột nhắt trắng, chủng Swiss, 18 - 22g

Ảnh 2.1. Chuột nhắt trắng và chuột cống trắng

2.1.3. Hóa chất nghiên cứu

- Dung dịch chuẩn độ NaOH 0,1N
- Các thuốc thử Toper và Phenophtalein
- Dung dịch acid acetic.
- Thạch nuôi cấy vi khuẩn
- Hematoxylin (sigma)
- Eosin (sigma)
- Một số hóa chất khác.

2.1.4. Dụng cụ, máy móc, thiết bị

- Cân phân tích 10-4, model CP224S (Sartorius - Đức)
- Kính hiển vi soi nổi Luxeo 2S (Labomed - Mỹ)
- Máy đo đau bản nóng lạnh - Hot Cold Plate (Ugo Basile 35100 - Ý)
- Bộ dụng cụ mổ động vật cỡ nhỏ, kim cho chuột uống thuốc và các dụng cụ thí nghiệm khác.



a



b

Ảnh 2.2. Kính hiển vi soi nổi Luxeo 2S (a)
và Máy đo đau bản nóng lạnh - Hot Cold Plate (b)

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bào chế cao đặc DDHV và xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cao đặc DDHV

* Bào chế cao đặc DDHV

- Cân các dược liệu đạt tiêu chuẩn kiểm nghiệm đầu vào theo công thức.
- Chiết theo phương pháp sắc với dung môi chiết là nước.
- Lọc loại tạp.
- Gộp các dịch chiết, cô dịch chiết thành cao đặc.

* Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cho cao đặc.

Xây dựng TCCS của cao đặc DDHV trên các chỉ tiêu sau:

- Hình thức: Về màu sắc, mùi vị, độ đồng nhất, độ tan trong nước, cặn bã dược liệu hoặc tạp chất lạ.

- Mất khối lượng do làm khô: Không quá 20%.
- Định tính: Có phản ứng định tính của hoài sơn, bạch truật, ô tặc cốt và đẳng sâm.
- Giới hạn nhiễm khuẩn: Theo yêu cầu của DĐVN V

2.2.2. Nghiên cứu tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày của cao đặc DDHV trên mô hình thực nghiệm gây loét dạ dày bằng Asprine kết hợp thất môn vị ở chuột cống trắng.

Đánh giá tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày của cao đặc DDHV trên mô hình thực nghiệm gây loét dạ dày bằng Asprine kết hợp thất môn vị ở chuột cống trắng, theo phương pháp mô tả bởi Vijayakumar AR và cộng sự (2016) [48], có sửa đổi cho phù hợp với điều kiện nghiên cứu.

* Cách tiến hành

Chuột cống trắng được đánh số thứ tự và được chia thành 5 lô, mỗi lô 9 con với tỷ lệ đực/cái như nhau ở mỗi lô.

Các lô chuột được uống thuốc như sau:

- + Lô 1 (lô chứng): không gây loét dạ dày, uống nước cất.
- + Lô 2 (lô mô hình): gây loét dạ dày, uống nước cất.
- + Lô 3 (lô tham chiếu): gây loét dạ dày, uống omeprazole liều 20mg/kg/ngày.
- + Lô 4 (lô trị 1): gây loét dạ dày, uống DDHV liều 0,84g cao đặc/kg/ngày (liều dự kiến có tác dụng).

+ Lô 5 (lô trị 2): gây loét dạ dày, uống DDHV liều 1,68g cao đặc/kg/ngày (gấp 2 liều 1).

Chuột (ở các lô 2, 3, 4, 5) được gây loét dạ dày bằng cách cho uống Aspirin liều 200mg/kg (Aspirine được hòa tan trong dung dịch sodium carboxymethyl cellulose - CMC 1%), trong 5 ngày liên tiếp. Vào ngày thứ 6 tiến hành thắt môn vị chuột (trong điều kiện gây mê chuột) ngay sau khi uống Aspirine lần cuối. Thuốc tham chiếu (omeprazole) và thuốc nghiên cứu (DDHV liều 1, liều 2) được cho uống hàng ngày 30 phút trước khi cho chuột uống Aspirine.

* Đánh giá kết quả

Sau 4 giờ kể từ khi thắt môn vị, tất cả chuột được gây mê bằng thiopental. Chuột được mổ bụng, bộc lộ dạ dày. Cắt mở dạ dày dọc theo bờ cong lớn. Dịch chứa bên trong dạ dày được ly tâm, thu lấy phần dịch trong để xác định thể tích và độ acid của dịch vị. Bề mặt dạ dày được rửa sạch bằng dung dịch nước muối lạnh, thấm bề mặt vết loét bằng Fomaldehyd 5% để đánh giá mức độ loét.

- Các chỉ tiêu đánh giá về chức năng bài tiết dịch vị trong dạ dày

+ Thể tích dịch vị tính theo 100g cân nặng: Đo thể tích dịch vị từng chuột công trống, tính ra theo 100g cân nặng. Lấy trị số trung bình của từng lô để so sánh.

+ pH dịch vị: đo bằng máy đo pH.

+ Xác định độ acid dịch vị: độ acid tự do và độ acid toàn phần được xác định bằng phương pháp chuẩn độ acid – base, dùng dung dịch NaOH 0,01N. Độ acid tự do được xác định bằng chuẩn độ NaOH cho tới khi thuốc thử Toper chuyển màu cam. Tiếp tục chuẩn độ cho tới khi thuốc thử phenolphthalein chuyển màu hồng. Tổng lượng NaOH dùng chuẩn độ được dùng để tính độ acid toàn phần.

- Các chỉ tiêu đánh giá tổn thương loét:

+ Tính chỉ số loét:

Quan sát bằng kính lúp độ phóng đại 10 lần. Tính chỉ số loét bằng phương pháp cho điểm được mô tả bởi V. Prasanth Reddy và cộng sự (2012) [8]. Cụ thể: 0 điểm cho niêm mạc dạ dày màu sắc bình thường; 0,5 điểm cho niêm mạc dạ dày xung huyết đỏ; 1 điểm cho chấm loét nhỏ (< 3mm); 1,5 điểm cho vết xuất huyết; 2

điểm cho vết loét kích thước từ 3 đến 5 mm; và 3 điểm cho vết loét kích thước trên 5 mm.

Chỉ số loét được đánh giá theo công thức:

$$UI = UN + US + UP \times 10^{-1}$$

Trong đó, UI (Ulcer Index) là chỉ số loét; UN (Average number of ulcers per animal) là số vết loét trung bình trên mỗi động vật; US (Average number of severity score) là trung bình của điểm tổn thương; UP (Percentage of animals with ulcers) là phần trăm số động vật bị loét.

+ Phần trăm ức chế loét: được tính theo công thức

$$I (\%) = \frac{(UIC - UIT)}{UIC} \times 100 (\%)$$

Trong đó I (%) là phần trăm ức chế loét; UIC là chỉ số loét ở lô chứng gây loét; UIT là chỉ số loét ở lô ở lô dung thuốc.

- Đánh giá tổn thương mô bệnh học

Mẫu mô dạ dày được cố định trong dung dịch formalin đậm trung tính trong 24h, sau đó được đúc khối paraffin và cắt lát dày 5 μ m làm tiêu bản nhuộm HE. Soi tiêu bản trên kính hiển vi đánh giá các thay đổi mô bệnh học của dạ dày chuột ở các lô.

2.2.3. Nghiên cứu tác dụng giảm đau của cao đặc DDHV theo phương pháp “mâm nóng” (Hotplate).

Tác dụng giảm đau trung ương của cao đặc DDHV được đánh giá trên chuột nhắt trắng theo phương pháp “mâm nóng” (Hotplate), được mô tả bởi Woolfe. G và Mc Donald. A.D., (1944) [50].

Chuột nhắt trắng chia ngẫu nhiên làm 4 lô, mỗi lô 10 con.

+ Lô 1 (lô chứng): uống nước cất, thể tích 10ml/kg.

+ Lô 2 (tham chiếu): tiêm dưới da cổ morphin liều 10 mg/kg – 0,1ml/10g chuột.

+ Lô 3 (trị 1): Uống DDHV liều 19,44g dược liệu/kg (liều tương đương với liều điều trị theo hệ số 12).

+ Lô 4 (trị 2): Uống DDHV liều 38,88g dược liệu/kg (liều gấp 2 lần so với liều tương đương với liều điều trị theo hệ số 12).

Chuột ở lô 1 được uống nước cất, chuột ở lô 3, 4 được uống thuốc nghiên cứu mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng trong 5 ngày liên tục.

Nguyên lý của phương pháp nghiên cứu được mô tả như sau:

- Chuột được đặt lên mâm nóng có nhiệt độ ổn định ở 56⁰C của Máy đo đau bản nóng, lạnh. Bàn chân chuột sau một thời gian tiếp xúc với nhiệt độ này sẽ có cảm giác đau. Khi cảm giác đau xuất hiện và truyền về não bộ của chuột, chuột sẽ có đáp ứng với cảm giác đau bằng cách đưa bàn chân lên liếm để giảm đau. Chỉ khi chuột đưa bàn chân sau lên liếm mới được tính, không tính khi chuột đưa chân trước lên liếm. Điều này được giải thích vì đưa chân trước lên liếm là hành vi bình thường của chuột, còn được gọi là “hành vi làm duyên”. Chuột thường xuyên đưa chân trước lên vuốt ve râu, mép và liếm chân trước mà không liên quan gì đến cảm giác đau để lòng bàn chân.

- Thời gian từ khi chuột được đặt lên bản nóng đến khi chuột đưa chân sau lên liếm gọi là thời gian tiềm. Thời gian tiềm càng dài chứng tỏ hoặc là ngưỡng đau của chuột cao hơn nên phải thời gian lâu hơn mới có cảm nhận đau, hoặc là khả năng chịu đau (dung nạp đau) của chuột tốt hơn nên đáp ứng với cảm giác đau chậm hơn. Vì vậy, thuốc có tác dụng giảm đau sẽ làm kéo dài thời gian tiềm.

- Các thuốc có tác dụng giảm đau trung ương (như Morphine) sẽ thể hiện tác dụng trên mô hình này, vì vậy mô hình này là mô hình sàng lọc các thuốc có tác dụng giảm đau trung ương.

Trong nghiên cứu này, để đánh giá tác dụng giảm đau của chế phẩm, thời gian tiềm được đo tại hai thời điểm: trước khi cho chuột uống thuốc thử và sau khi cho chuột uống thuốc thử 5 ngày.

- Trước khi cho chuột uống thuốc: tiến hành đo thời gian tiềm của từng chuột, loại bỏ những chuột phản ứng trước 8 giây và sau 30 giây.

- Sau khi cho chuột uống thuốc thử 5 ngày: vào ngày thứ 5, sau khi chuột uống thuốc lần cuối 1 giờ hoặc sau khi tiêm Morphin 30 phút, đặt chuột lên mâm

nóng có nhiệt độ ổn định ở 56⁰C của Máy đo đau bản nóng, lạnh để đo thời gian tiêm của từng chuột ở các lô nghiên cứu.

Đánh giá tác dụng giảm đau thông qua chỉ tiêu mức tăng thời gian tiêm. So sánh giữa các lô với nhau, tính phần trăm kéo dài thời gian tiêm.

2.2.4. Nghiên cứu tác dụng giảm đau của cao đặc DDHV theo phương pháp gây đau quận bằng acid acetic (phương pháp Koster).

Tác dụng giảm đau ngoại vi của cao đặc DDHV được đánh giá trên chuột nhắt trắng theo phương pháp của Koster và cs (1959) [37]. Các thuốc có tác dụng giảm đau ngoại vi (aspegic, diclofenac...) sẽ thể hiện tác dụng trên mô hình này.

Chuột nhắt trắng chia ngẫu nhiên làm 4 lô, mỗi lô 10 con.

+ Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất.

+ Lô 2 (lô tham chiếu): Uống Aspegic liều 100mg/kg.

+ Lô 3 (lô trị 1): Uống DDHV liều 19,44g dược liệu/kg (liều tương đương với liều điều trị theo hệ số 12).

+ Lô 4 (lô trị 2): Uống DDHV liều 38,88g dược liệu/kg (liều gấp 2 lần so với liều tương đương với liều điều trị theo hệ số 12).

Chuột được uống thuốc hoặc nước cất 5 ngày liên tục, vào một giờ cố định (8h sáng).

Ngày thứ 5, sau khi dùng thuốc 60 phút, tiến hành gây đau quận bằng cách tiêm phúc mạc dung dịch acid acetic 0,6% liều 0,1 ml/10g thể trọng. Chuột sẽ xuất hiện những cơn đau quận biểu hiện như thóp bụng lại, áp bụng xuống sàn, duỗi dài thân và chân sau. Đếm số cơn đau quận trong các khoảng 5 phút trong thời gian 20 phút kể từ khi tiêm acid acetic. So sánh kết quả giữa các lô nghiên cứu, tính % ức chế đau quận theo công thức:

$$A\% = \frac{D_c - D_t}{D_c} \times 100$$

Trong đó: A% là tỷ lệ giảm số cơn đau quận của lô thử thuốc; D_c là số cơn đau quận của lô chứng sinh lý; D_t là số cơn đau quận của lô thử thuốc.

2.2.5. Nghiên cứu tác dụng ức chế vi khuẩn H.P của cao đặc DDHV

** Phương pháp nuôi cấy*

Vi khuẩn H.P được cấy vào các hộp thạch chứa môi trường thạch máu, được ủ ở nhiệt độ 37°C trong điều kiện vi hiếu khí được tạo bởi bao tạo khí Campy- Pak.

Đọc kết quả sau 5-7 ngày, khuẩn lạc là những khúm nhỏ, đường kính 1-2 mm, màu xám trong suốt. Thử các phản ứng để định danh vi khuẩn như urease, catalase, oxidase. Chọn khuẩn lạc mọc tốt, nhiều, đem hoạt hoá trong môi trường lỏng để làm thử nghiệm.

** Phương pháp thử nghiệm tác dụng kháng khuẩn*

Tiến hành theo phương pháp pha loãng trong môi trường lỏng xác định nồng độ tối thiểu của thuốc.

Bước 1: Cao đặc DDHV được pha thành cao lỏng DDHV 1:1 (1mg dược liệu khô/1ml cao lỏng). Sau đó cao lỏng DDHV 1:1 được pha loãng thành các độ loãng 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/252 so với mẫu nguyên ban đầu.

Bước 2: Vi khuẩn (VK) *Helicobacter pylori* được pha loãng trong nước muối sinh lý thành hỗn dịch 108 vi khuẩn/ml, sau đó lại pha loãng tiếp thành các nồng độ 107, 106, 105, 104, 103, 102 vi khuẩn/ ml .

Bước 3: Trộn hỗn dịch vi khuẩn 108 VK/ml với các nồng độ thuốc đã pha loãng ở bước 1 theo tỷ lệ 1:1, ủ 37°C trong 2 giờ, sau đó lấy ra dùng loop định lượng cấy trên thạch *Pylori* agar.

Các nồng độ vi khuẩn ở bước 2 cũng được cấy trên thạch *Pylori* agar để tạo thành các đĩa thạch nồng độ chuẩn vi khuẩn để đối chiếu với các đĩa thạch có thuốc tác dụng với vi khuẩn. Đọc kết quả sau 2 giờ, 6 giờ và 24 giờ.

2.3. Xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý theo các phương pháp thống kê y sinh học, so sánh bằng anova test sử dụng phần mềm SPSS 16.0. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày của cao lỏng DDHV trên mô hình thực nghiệm gây loét dạ dày ở chuột cống trắng

3.1.1. Ảnh hưởng của DDHV lên các chỉ tiêu đánh giá về chức năng bài tiết dịch vị.

Kết quả nghiên cứu được trình bày ở bảng 3.1, bảng 3.2, bảng 3.3 và bảng 3.4.

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của DDHV lên thể tích dịch vị của chuột nghiên cứu (n = 9).

Lô nghiên cứu		Thể tích dịch vị (ml/100g)	P so với (1)	P so với (2)	P so với (3)
Lô chứng	(1)	0,451 ± 0,094	-	< 0,05	> 0,05
Mô hình	(2)	0,594 ± 0,070	< 0,01	-	< 0,05
Thuốc tham chiếu	(3)	0,488 ± 0,199	> 0,05	< 0,05	-
DDHV liều 1	(4)	0,495 ± 0,085	> 0,05	< 0,05	> 0,05
DDHV liều 2	(5)	0,486 ± 0,089	> 0,05	< 0,05	> 0,05

Nhận xét:

- So với lô chứng, thể tích dịch vị của lô mô hình tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- So với lô mô hình, thể tích dịch vị của các lô thuốc tham chiếu (omeprazole) và thuốc nghiên cứu (DDHV) đều giảm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Thuốc tham chiếu và thuốc nghiên cứu ở các mức liều đã dùng đều có tác dụng làm giảm sự tăng thể tích dịch vị.

- So với lô thuốc tham chiếu, thể tích dịch vị ở lô dùng DDHV mức liều 1 và 2 khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). DDHV ở cả 2 mức liều dùng có tác dụng làm giảm thể tích dịch vị tương đương so với lô thuốc tham chiếu omeprazole liều 100mg/kg/ngày.

- So sánh giữa hai lô dùng DDHV, ở lô mức liều cao thể tích dịch vị ít hơn so với ở lô dùng mức liều thấp, chứng tỏ DDHV có xu hướng đáp ứng theo liều, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của DDHV lên pH dịch vị của chuột nghiên cứu ($n = 9$).

Lô nghiên cứu		pH dịch vị	P so với (1)	P so với (2)	P so với (3)
Lô chứng	(1)	$3,62 \pm 0,23$	-	$< 0,01$	$> 0,05$
Mô hình	(2)	$2,75 \pm 0,45$	$< 0,001$	-	$< 0,01$
Thuốc tham chiếu	(3)	$3,44 \pm 0,42$	$> 0,05$	$< 0,01$	-
DDHV liều 1	(4)	$3,31 \pm 0,63$	$> 0,05$	$< 0,05$	$> 0,05$
DDHV liều 2	(5)	$3,41 \pm 0,52$	$> 0,05$	$< 0,05$	$> 0,05$

Nhận xét:

- So với lô chứng, pH dịch vị của lô mô hình thấp hơn có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

- So với lô mô hình, pH dịch vị của các lô thuốc tham chiếu (omeprazole) và thuốc nghiên cứu (DDHV) đều tăng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$ và $p < 0,05$). Thuốc tham chiếu và thuốc nghiên cứu ở các mức liều đã dùng đều có tác dụng làm tăng pH dạ dày trên chuột gây loét.

- So với lô thuốc tham chiếu, pH dịch vị ở các lô dùng DDHV khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). DDHV ở cả 2 mức liều dùng đều có tác dụng làm tăng pH dịch vị tương đương so với thuốc tham chiếu omeprazole liều 100mg/kg/ngày.

- So sánh giữa hai lô dùng DDHV, ở lô mức liều cao pH dịch vị cao hơn so với ở lô dùng mức liều thấp, chứng tỏ DDHV có xu hướng đáp ứng theo liều, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của DDHV lên độ acid tự do của dịch vị (n = 9)..

Lô nghiên cứu		Độ acid tự do (Meq/l/100g)	P so với (1)	P so với (2)	P so với (3)
Chứng sinh lý	(1)	10,06 ± 1,08	-	< 0,001	> 0,05
Mô hình	(2)	13,38 ± 1,88	< 0,001	-	< 0,01
Thuốc tham chiếu	(3)	10,42 ± 1,01	> 0,05	< 0,01	-
DDHV liều 1	(4)	11,12 ± 1,32	> 0,05	< 0,01	> 0,05
DDHV liều 2	(5)	10,55 ± 1,35	> 0,05	< 0,01	> 0,05

Nhận xét:

- So với lô chứng, độ acid tự do của dịch vị ở lô mô hình cao hơn có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

- So với lô mô hình, độ acid tự do của dịch vị ở các lô thuốc tham chiếu (omeprazole) và thuốc nghiên cứu (DDHV) đều giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$). Thuốc tham chiếu và thuốc nghiên cứu ở các mức liều đã dùng đều có tác dụng làm giảm acid tự do của dịch vị trên chuột gây loét.

- So với lô thuốc tham chiếu, độ acid tự do của dịch vị ở các lô dùng DDHV khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). DDHV ở cả 2 mức liều dùng đều có tác dụng làm giảm acid tự do của dịch vị tương đương so với thuốc tham chiếu omeprazole liều 100mg/kg/ngày.

- So sánh giữa hai lô dùng DDHV, ở lô mức liều cao độ acid tự do của dịch vị thấp hơn so với ở lô dùng mức liều thấp, chứng tỏ DDHV có xu hướng đáp ứng theo liều, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của DDHV lên độ acid toàn phần của dịch vị (n = 9).

Lô nghiên cứu		Độ acid toàn phần (Meq/l/100g)	P so với (1)	P so với (2)	P so với (3)
Lô chứng	(1)	21,08 ± 2,14	-	< 0,001	> 0,05
Mô hình	(2)	26,52 ± 3,06	< 0,001	-	< 0,01
Thuốc tham chiếu	(3)	22,34 ± 2,36	> 0,05	< 0,01	-
DDHV liều 1	(4)	23,08 ± 2,11	> 0,05	< 0,05	> 0,05
DDHV liều 2	(5)	22,68 ± 2,12	> 0,05	< 0,01	> 0,05

Nhận xét:

- So với lô chứng, độ acid toàn phần của dịch vị ở lô chứng gây loét cao hơn có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

- So với lô chứng gây loét, độ acid toàn phần của dịch vị ở các lô thuốc tham chiếu (omeprazole) và thuốc nghiên cứu (DDHV) đều giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$ và $p < 0,05$). Thuốc tham chiếu và thuốc nghiên cứu ở các mức liều đã dùng đều có tác dụng làm giảm acid toàn phần của dịch vị trên chuột gây loét.

- So với lô thuốc tham chiếu, độ acid toàn phần của dịch vị ở các lô dùng DDHV khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). DDHV ở cả 2 mức liều dùng đều có tác dụng làm giảm acid toàn phần của dịch vị tương đương so với thuốc tham chiếu omeprazole liều 100mg/kg/ngày.

- So sánh giữa hai lô dùng DDHV, ở lô mức liều cao độ acid toàn phần của dịch vị thấp hơn so với ở lô dùng mức liều thấp, chứng tỏ DDHV có xu hướng đáp ứng theo liều, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.1.2. Ảnh hưởng của DDHV lên các chỉ tiêu đánh giá tổn thương loét

Kết quả nghiên cứu được trình bày ở bảng 3.5.

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của DDHV lên các chỉ tiêu đánh giá tổn thương loét (n = 9).

Lô nghiên cứu	Chỉ số loét	Phần trăm ức chế loét	Số chuột không phát hiện loét/tổng số chuột
Lô chứng	Không có vết loét	-	9/9
Mô hình	18,00 ± 3,47	-	0/9
Thuốc tham chiếu	11,94 ± 4,55**	33,64	3/9
DDHV liều 1	13,39 ± 4,11*	25,62	2/9
DDHV liều 2	11,50 ± 4,45**	36,11	3/9

* p_{so} với mô hình < 0,05; ** p_{so} với mô hình < 0,01

Kết quả nghiên cứu ở trên cho thấy

- Lô 1 (lô chứng): tất cả các chuột đều không quan sát thấy ổ loét, dạ dày hoàn toàn bình thường.

- Lô 2 (lô mô hình): quan sát thấy các ổ loét dạ dày ở toàn bộ chuột. Chỉ số loét đánh giá theo V. Prasanth Reddy là 18,00 ± 3,47.

- Lô 3 (lô thuốc tham chiếu): Chuột được cho uống omeprazole liều 20mg/kg/ngày: loét xuất hiện ở 6/9 chuột; chỉ số loét giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,01$; phần trăm ức chế loét là 33,64 (%).

- Lô 4 (DDHV liều 1): Chuột được cho uống DDHV liều 0,84g cao đặc/kg/ngày: loét xuất hiện ở 7/9 chuột; chỉ số loét giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,05$; phần trăm ức chế loét là 25,62 (%).

- Lô 5 (DDHV liều 2): Chuột được cho uống DDHV liều 1,68 g cao đặc/kg/ngày: loét xuất hiện ở 6/9 chuột; chỉ số loét giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,01$; phần trăm ức chế loét là 36,11 (%).

3.1.3. Kết quả đại thể và mô bệnh học dạ dày của chuột thí nghiệm.

* Hình ảnh đại thể dạ dày của chuột đại diện cho các lô nghiên cứu



Ảnh 3.1. Dạ dày chuột lô chứng
(chuột số 04)



Ảnh 3.2. Dạ dày chuột lô mô hình
(chuột số 12)



Ảnh 3.3. Dạ dày chuột lô Omeprazole
liều 20mg/kg/ngày (chuột số 22)



Ảnh 3.4. Dạ dày chuột lô DDHV
liều 0,84g/kg/ngày (chuột số 32)

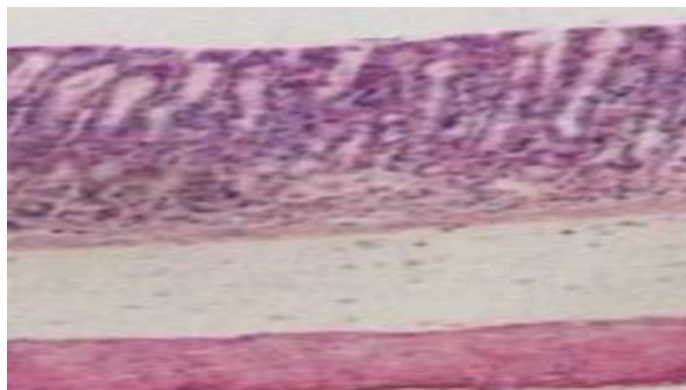


Ảnh 3.5. Dạ dày chuột lô DDHV
liều 1,68 g/kg/ngày (chuột số 44)

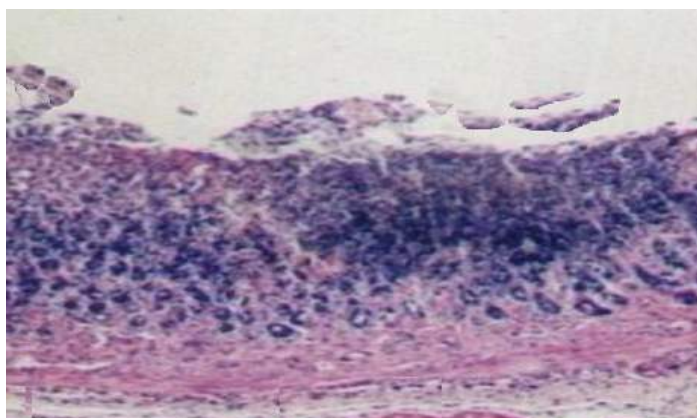
Nhận xét ảnh:

Niêm mạc dạ dày chuột lô chứng bình thường, không có tổn thương (ảnh 3.1). Niêm mạc dạ dày chuột lô mô hình có tổn thương ăn mòn và loét (ảnh 3.2). Niêm mạc dạ dày chuột ở các lô dùng thuốc điều trị giảm rõ các biểu hiện tổn thương so với hình ảnh niêm mạc dạ dày chuột ở lô mô hình (ảnh 3.3, 3.4, 3.5).

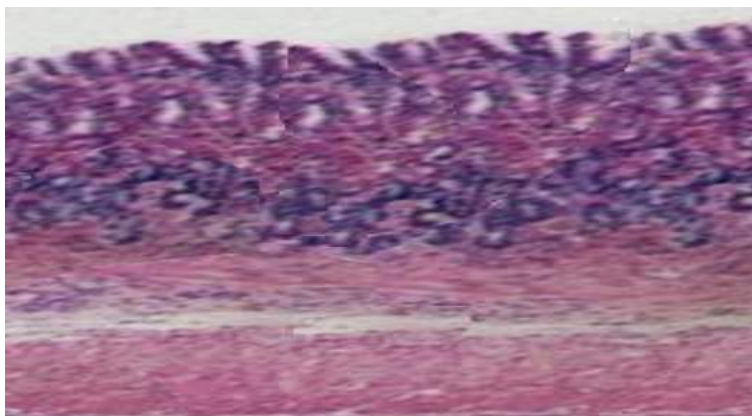
*** Hình ảnh mô bệnh học dạ dày của các chuột đại diện cho các lô**



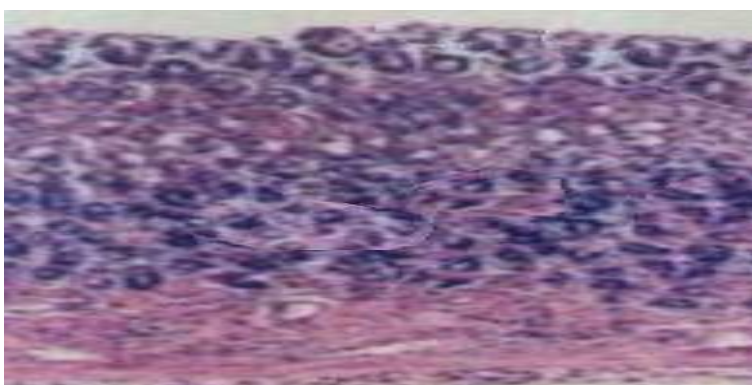
Ảnh 3.6. Mô bệnh học dạ dày chuột lô chứng (chuột số 05), HE, x 100
Hình ảnh niêm mạc dạ dày bình thường, không có tổn thương



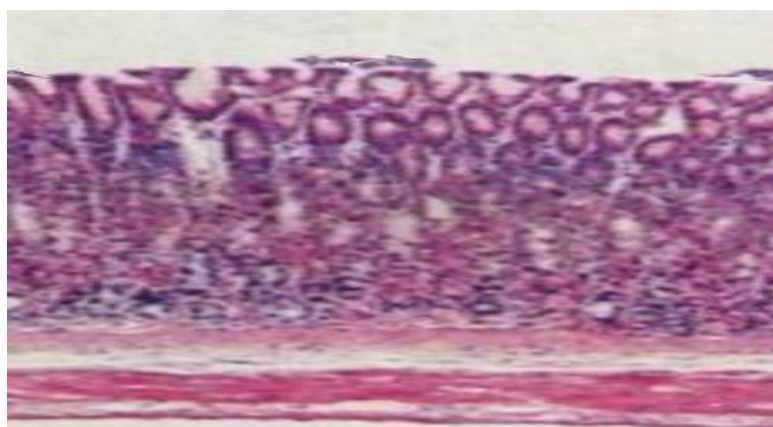
Ảnh 3.7. Mô bệnh học dạ dày chuột mô hình (chuột số 14), HE, x 100
Hình ảnh tổn thương xâm nhiễm viêm, loét và bong tróc niêm mạc dạ dày.



Ảnh 3.8. Mô bệnh học dạ dày chuột lô tham chiếu uống Omeprazole liều 20mg/kg/ngày (chuột số 21), HE, x 100. Tổn thương niêm mạc dạ dày có biểu hiện hồi phục, giảm viêm và giảm bong tróc niêm mạc



Ảnh 3.9. Mô bệnh học dạ dày chuột lô trị 1 uống DDHV liều 1, (chuột số 32), HE, x 100. Tổn thương niêm mạc dạ dày có biểu hiện hồi phục, giảm viêm và giảm bong tróc niêm mạc



Ảnh 3.10. Mô bệnh học dạ dày chuột uống DDHV liều 2 (chuột số 41), HE, x 100. Tổn thương niêm mạc dạ dày có biểu hiện hồi phục, giảm viêm, giảm bong tróc niêm mạc.

Nhận xét ảnh: Hình ảnh vi thể dạ dày chuột lô chứng bình thường, không có tổn thương (ảnh 3.1). Hình ảnh vi thể dạ dày chuột lô mô hình có tổn thương xâm nhiễm viêm, loét và bong tróc niêm mạc dạ dày (ảnh 3.7). Hình ảnh vi thể dạ dày chuột ở các lô dùng thuốc điều trị (ảnh 3.8, 3.9, 3.10) giảm rõ các biểu hiện tổn thương so với hình ảnh vi thể dạ dày chuột lô mô hình.

3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau của DDHV theo phương pháp “mâm nóng” (Hotplate).

Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau của DDHV theo phương pháp “mâm nóng” (Hotplate) trên chuột nhắt trắng được trình bày ở bảng 6.

Bảng 3.6: Ảnh hưởng của DDHV tới thời gian tiềm của chuột nhắt trắng (n = 10)

Lô nghiên cứu	Thời gian tiềm (giây)			P _{so sánh} trước sau (p _{b-a})
	Trước uống thuốc NC (a)	Sau uống thuốc NC (b)		
		Mean ± SD	% tăng so với (1)	
Lô chứng (1)	13,70 ± 3,37	13,95 ± 2,47	-	> 0,05
Morphin (2)	13,89 ± 2,29	35,86 ± 11,22	157,06 %	< 0,001
DDHV liều 1 (3)	13,46 ± 1,58	16,85 ± 2,82	20,79 %	< 0,05
DDHV liều 2 (4)	14,15 ± 2,72	19,38 ± 5,86	38,92%	< 0,05
P _{so sánh} giữa các lô	p > 0,05	p _{3,4-1} < 0,05; p ₂₋₁ < 0,001 p _{3,4-2} < 0,001; p ₃₋₄ > 0,05		-

Nhận xét :

- Trước khi uống thuốc NC: thời gian tiềm của chuột ở các lô nghiên cứu không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

- Sau uống thuốc nghiên cứu:

+ So sánh giữa các lô với nhau:

. Thời gian tiềm của chuột ở các lô dùng DDHV (cả 2 mức liều) dài hơn có ý nghĩa thống kê so với ở lô chứng sinh lý với p < 0,05. Như vậy, cao đặc DDHV dùng uống liều 1,44g cao đặc/kg/ngày và 2,88g cao đặc/kg/ngày có tác dụng giảm đau tốt trên khi thử theo phương pháp “mâm nóng” (Hotplate).

. Thời gian tiềm của chuột ở lô dung Morphin dài hơn rõ rệt so với các lô dung cao đặc DDHV. Tác dụng giảm đau của cao đặc DDHV dùng đường uống kém hơn so với morphin tiêm dưới da liều 10 mg/kg ($p_{3,4-2} < 0,001$).

. Giá trị trung bình của thời gian tiềm ở lô chuột dùng DDHV liều cao dài hơn so với ở lô chuột dùng DDHV liều thấp, chứng tỏ tác dụng giảm đau theo phương pháp mâm nóng của DDHV có xu hướng đáp ứng theo liều, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p_{3-4} > 0,05$).

+ So sánh trong từng lô, thời gian đáp ứng đau của chuột ở các lô dùng DDHV (cả 2 mức liều) tại thời điểm sau uống thuốc dài hơn có ý nghĩa thống kê so với tại thời điểm trước uống thuốc với $p < 0,05$. Kết quả so sánh tự chứng càng khẳng định cho tác dụng giảm đau của DDHV khi thử theo phương pháp “mâm nóng” (Hotplate)



Ảnh 3.11. Chuột nhắt trắng trong thử nghiệm tác dụng giảm đau của DDHV theo phương pháp “mâm nóng” (Hotplate). Chuột được đặt lên máy đo đau bản nóng-lạnh, nhiệt độ bề mặt đặt chuột được tự động duy trì ở nhiệt độ $56^{\circ}\text{C} (\pm 1^{\circ}\text{C})$.



Ảnh 3.12. Chuột đưa chân sau lên liếm. Thời gian từ lúc đặt chuột lên bề mặt nóng đến khi chuột đưa chân sau lên liếm là thời gian tiềm. Thuốc có tác dụng giảm đau theo phương pháp “mâm nóng” sẽ làm kéo dài tiềm của chuột.

3.3. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau của DDHV theo phương pháp gây đau quặn bằng acid acetic (phương pháp Koster)



Ảnh 3.13. Chuột nhắt trắng khi ở trạng thái bình thường (không đau quặn) trong đánh giá tác dụng giảm đau của DDHV theo phương pháp gây đau quặn bằng acid acetic (phương pháp Koster).



Ảnh 3.14. Con đau quặn của chuột nhắt trắng với một số các biểu hiện sau: uốn oằn thân, thóp bụng lại, áp bụng xuống sàn, duỗi dài thân và chân sau.

Acid acetic sau khi tiêm phúc mạc ổ bụng chuột sẽ tạo ra kích thích gây viêm đau. Khi kích thích vượt qua ngưỡng đau của chuột sẽ gây ra đáp ứng với đau của chuột gọi là cơn đau quặn, với các biểu hiện sau: uốn oằn thân, thóp bụng lại, áp bụng xuống sàn, duỗi dài thân và chân sau. Thuốc có tác dụng giảm đau sẽ làm tăng ngưỡng đau, do đó thời gian xuất hiện đau quặn sẽ muộn hơn và số cơn đau quặn sẽ ít hơn.

* Kết quả đánh giá ảnh hưởng của DDHV tới thời gian xuất hiện đau quặn của chuột nhắt trắng được thể hiện ở bảng 3.7.

Bảng 3.7: Ảnh hưởng của DDHV tới thời gian xuất hiện đau quận của chuột nhất trắng (n = 10).

Lô nghiên cứu	Thời gian xuất hiện đau sớm nhất (giây)	Thời gian xuất hiện đau trễ nhất (giây)	Trung bình thời gian xuất hiện đau (giây)	
			Mean \pm SD	p
Lô chứng (1)	145,3	415,2	276,15 \pm 81,54	p _{2,3,4-1} < 0,05 p _{3,4-2} > 0,05
Diclofenac (2)	219,1	446,4	360,34 \pm 94,24	
DDHV liều 1 (3)	213,3	469,2	358,65 \pm 93,15	
DDHV liều 2 (4)	224,8	475,4	362,44 \pm 85,62	

Kết quả bảng 3.7 cho thấy:

- Thời gian xuất hiện đau quận sớm nhất cũng như thời gian xuất hiện đau quận trễ nhất ở các lô dùng thuốc đều lớn hơn so với ở lô chứng sinh lý.

- So với lô chứng, các lô dùng DDHV và lô dùng thuốc tham chiếu Diclofenac có thời gian xuất hiện đau lớn hơn có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).

Như vậy, cao đặc DDHV và thuốc tham chiếu Diclofenac đều thể hiện tác dụng làm thời gian xuất hiện đau quận muộn hơn so với lô chứng.

- So với lô tham chiếu dùng Diclofenac, các lô dùng DDHV có thời gian xuất hiện đau sau tiêm acid acetic là tương đương, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05). Với các mức liều dùng trong nghiên cứu, cao đặc DDHV có tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quận tương đương với Diclofenac liều 20mg/kg cân nặng.

* Kết quả đánh giá ảnh hưởng của cao đặc DDHV tới số cơn đau quận của chuột nhất trắng đếm được trong từng khoảng thời gian 5 phút sau tiêm acid acetic được thể hiện ở các bảng 3.8, 3.9, 3.10, 3.11, 3.12.

Bảng 3.8: Ảnh hưởng của cao đặc DDHV tới số cơn đau quặn của chuột nhắt trắng trong khoảng thời gian từ 0 đến 5 phút đầu tiên sau khi tiêm acid acetic (n = 10).

Lô nghiên cứu	Số chuột không có cơn đau quặn	Số chuột có cơn đau quặn	Trung bình số cơn đau quặn	
			Mean \pm SD	p
Chứng sinh lý (1)	03	07	2,60 \pm 12,32	> 0,05
Diclofenac (2)	07	03	0,90 \pm 9,52	
DDHV liều 1 (3)	06	04	1,20 \pm 8,93	
DDHV liều 2 (4)	07	03	0,80 \pm 9,65	

Nhận xét:

- Sau khi tiêm acid acetic, cần một khoảng thời gian nhất định để kích thích gây viêm đau của acid acetic vượt ngưỡng đau của chuột, khi đó mới bắt đầu xuất hiện cơn đau. Vì vậy, thoảng thời gian từ 0 đến 5 phút đầu tiên sau tiêm acid acetic, có nhiều chuột chưa xuất hiện cơn đau, cụ thể lô chứng có 3 chuột chưa xuất hiện cơn đau, các lô dùng thuốc số chuột chưa xuất hiện cơn đau nhiều hơn (6, 7 chuột). Một số chuột chỉ mới bắt đầu xuất hiện cơn đau (số cơn đau là 1, 2). Một số chuột có thời gian xuất hiện cơn đau sớm thì số cơn đau đếm được trong khoảng thời gian này có chuột lên đến 6, 7 cơn đau (ở lô chứng). Vì vậy, giá trị đếm số cơn đau của chuột ở các lô trong khoảng thời gian từ 0 đến 5 phút đầu tiên sau tiêm acid acetic dao động rất lớn, làm cho độ lệch chuẩn (SD) ở các lô lớn. Vì vậy, mặc dù trung bình số cơn đau quặn ở lô chứng cao hơn hẳn so với ở các lô dùng thuốc, tuy nhiên so sánh thống kê chưa thấy có sự khác biệt ($p > 0,05$).

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của DDHV tới số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 5 đến 10 phút sau khi tiêm acid acetic (n = 10).

Lô nghiên cứu	Số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 5 đến 10 phút	Tỷ lệ (%) giảm số cơn đau quặn so với lô chứng sinh lý
Lô chứng (1)	11,80 ± 3,52	-
Diclofenac (2)	8,20 ± 3,29	30,51 %
DDHV liều 1 (3)	8,80 ± 2,25	25,42 %
DDHV liều 2 (4)	8,50 ± 2,95	27,97 %
<i>p</i>	$p_{2,3,4-1} < 0,05$ $p_{3,4-2} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$	-

Nhận xét:

Kết quả ở bảng 3.9 cho thấy:

- So với lô chứng, các lô dùng DDHV (cả 2 mức liều), và lô dùng thuốc tham chiếu diclofenac liều 20 mg/kg/ngày có số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 5 đến 10 phút sau tiêm acid acetic nhỏ hơn có ý nghĩa thống kê ($p_{2,3,4-1} < 0,05$). Tính toán ở trong khoảng thời gian 5 phút này, tỷ lệ phần trăm làm giảm số cơn đau quặn ở lô dùng diclofenac liều 20 mg/kg/ngày, và các lô dùng DDHV cả 2 mức liều 1,44g cao đặc/kg/ngày và 2,88g cao đặc/kg/ngày, lần lượt là 30,51%; 25,42%; và 27,97%.

- So với lô tham chiếu dùng diclofenac liều 20 mg/kg/ngày, số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 5 đến 10 phút sau tiêm acid acetic ở các lô dùng DDHV cả 2 mức liều (1,44g cao đặc/kg/ngày và 2,88g cao đặc/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p_{3,4-2} > 0,05$).

- So với ở lô dùng DDHV liều thấp, ở lô dùng DDHV liều cao có số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 5 đến 10 phút sau tiêm acid acetic ít hơn, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p_{3-4} > 0,05$).

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của DDHV tới số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 10 đến 15 phút sau khi tiêm acid acetic (n = 10).

Lô nghiên cứu	Số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 10 đến 15 phút	Tỷ lệ (%) giảm số cơn đau quặn so với lô chứng sinh lý
Lô chứng (1)	12,40 ± 2,55	-
Diclofenac (2)	7,60 ± 3,10	38,71 %
DDHV liều 1 (3)	8,60 ± 2,22	30,65 %
DDHV liều 2 (4)	8,40 ± 2,80	32,26 %
<i>p</i>	$p_{2,3,4-1} < 0,01$ $p_{3,4-2} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$	-

Nhận xét:

Kết quả ở bảng 3.10 cho thấy:

- So với lô chứng, các lô dùng DDHV (cả 2 mức liều), và lô dùng thuốc tham chiếu diclofenac liều 20 mg/kg/ngày có số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 10 đến 15 phút sau tiêm acid acetic nhỏ hơn có ý nghĩa thống kê ($p_{2,3,4-1} < 0,01$). Tính toán ở trong khoảng thời gian 5 phút này, tỷ lệ phần trăm làm giảm số cơn đau quặn ở lô dùng diclofenac liều 20 mg/kg/ngày, và các lô dùng DDHV cả 2 mức liều 1,44g cao đặc/kg/ngày và 2,88g cao đặc/kg/ngày, lần lượt là 38,71%; 30,65%; và 32,26%.

- So với lô tham chiếu dùng diclofenac liều 20 mg/kg/ngày, số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 10 đến 15 phút sau tiêm acid acetic ở các lô dùng DDHV cả 2 mức liều (1,44g cao đặc/kg/ngày và 2,88g cao đặc/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p_{3,4-2} > 0,05$).

- So với ở lô dùng DDHV liều thấp, ở lô dùng DDHV liều cao có số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 10 đến 15 phút sau tiêm acid acetic ít hơn, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p_{3-4} > 0,05$).

Bảng 3.11. Ảnh hưởng của DDHV tới số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 15 đến 20 phút sau khi tiêm acid acetic (n = 10).

Lô nghiên cứu	Số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 15 đến 20 phút	Tỷ lệ (%) giảm số cơn đau quặn so với lô chứng sinh lý
Lô chứng (1)	10,60 ± 1,84	-
Diclofenac (2)	7,50 ± 2,99	38,30 %
DDHV liều 1 (3)	8,30 ± 2,26	28,72 %
DDHV liều 2 (4)	8,10 ± 3,07	39,36 %
<i>p</i>	$p_{2,3,4-1} < 0,05$ $p_{3,4-2} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$	-

Nhận xét:

Kết quả ở bảng 3.11 cho thấy:

- So với lô chứng, các lô dùng DDHV (cả 2 mức liều), và lô dùng thuốc tham chiếu diclofenac liều 20 mg/kg/ngày có số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 15 đến 20 phút sau tiêm acid acetic nhỏ hơn có ý nghĩa thống kê ($p_{2,3,4-1} < 0,05$). Tính toán ở trong khoảng thời gian 5 phút này, tỷ lệ phần trăm làm giảm số cơn đau quặn ở lô dùng diclofenac liều 20 mg/kg/ngày, và các lô dùng DDHV cả 2 mức liều 1,44g cao đặc/kg/ngày và 2,88g cao đặc/kg/ngày, lần lượt là 29,25%; 21,70%; và 23,58%.

- So với lô tham chiếu dùng diclofenac liều 20 mg/kg/ngày, số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 15 đến 20 phút sau tiêm acid acetic ở các lô dùng DDHV cả 2 mức liều (1,44g cao đặc/kg/ngày và 2,88g cao đặc/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p_{3,4-2} > 0,05$).

- So với ở lô dùng DDHV liều thấp, ở lô dùng DDHV liều cao có số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 15 đến 20 phút sau tiêm acid acetic ít hơn, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p_{3-4} > 0,05$).

Bảng 3.12. Ảnh hưởng của DDHV tới số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 20 đến 25 phút sau khi tiêm acid acetic (n = 10).

Lô nghiên cứu	Số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 20 đến 25 phút	Tỷ lệ (%) giảm số cơn đau quặn so với lô chứng sinh lý
Lô chứng (1)	9,40 ± 5,02	-
Diclofenac (2)	5,80 ± 2,90	29,25 %
DDHV liều 1 (3)	6,70 ± 3,30	21,70 %
DDHV liều 2 (4)	5,70 ± 3,74	23,58 %
<i>p</i>	$p_{2,3,4-1} > 0,05$ $p_{3,4-2} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$	-

Nhận xét:

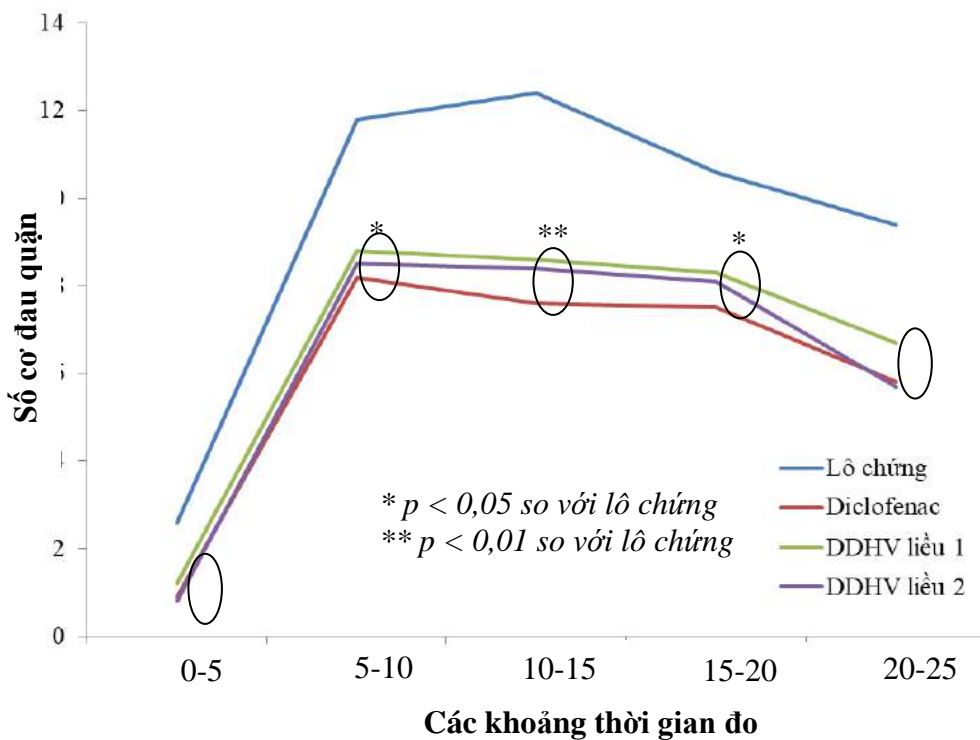
Kết quả ở bảng 3.12 cho thấy:

- So với lô chứng, các lô dùng DDHV (cả 2 mức liều), và lô dùng thuốc tham chiếu diclofenac liều 20 mg/kg/ngày có số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 20 đến 25 phút sau tiêm acid acetic nhỏ hơn, tuy nhiên chưa có ý nghĩa thống kê ($p_{2,3,4-1} > 0,05$). Trong khoảng thời gian này, kích thích gây đau do acid acetic bắt đầu giảm, làm giảm tự nhiên số cơn đau quặn ở các lô. Cũng giống như giai đoạn bắt đầu xuất hiện các cơn đau quặn, giai đoạn bắt đầu thoái lui của các cơn đau quặn cũng gây ra sự khác biệt nhiều về số cơn đau quặn của các chuột trong mỗi lô, thể hiện bởi độ lệch chuẩn cao. Vì vậy, mặc dù thấy rõ sự giảm số cơn đau quặn ở các lô dùng thuốc so với lô chứng, tuy nhiên khi so sánh thống kê không thấy có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Tính toán ở trong khoảng thời gian 5 phút này, tỷ lệ phần trăm làm giảm số cơn đau quặn ở lô dùng diclofenac liều 20 mg/kg/ngày, và các lô dùng DDHV cả 2 mức liều 1,44g cao đặc/kg/ngày và 2,88g cao đặc/kg/ngày, lần lượt là 29,25%; 21,70%; và 23,58 %.

- So với lô tham chiếu dùng diclofenac liều 20 mg/kg/ngày, số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 20 đến 25 phút sau tiêm acid acetic ở các lô dùng DDHV cả 2 mức liều (1,44g cao đặc/kg/ngày và 2,88g cao đặc/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p_{3,4-2} > 0,05$).

- So với ở lô dùng DDHV liều thấp, ở lô dùng DDHV liều cao có số cơn đau quặn trong khoảng thời gian từ 15 đến 20 phút sau tiêm acid acetic ít hơn, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p_{3-4} > 0,05$).

* Tổng hợp kết quả đánh giá số cơn đau quặn trong từng khoảng thời gian 5 phút sau tiêm acid acetic (0 - 5 phút, 5 - 10 phút, 10 - 15 phút, 15 - 20 phút và 20 - 25 phút) được trình bày ở biểu đồ 3.1.



Biểu đồ 3.1. Số cơn đau quặn của các lô nghiên cứu đo được ở mỗi khoảng thời gian 5 phút sau tiêm acid acetic.

Kết quả biểu đồ 3.1 cho thấy:

Trong cả 5 khoảng thời gian đo, số cơn đau quặn ở các lô dùng DDHV và lô tham chiếu luôn nhỏ hơn so với lô chứng sinh lý. Tuy nhiên, tại các khoảng thời gian đo 0-5 phút và 20-25 phút, sự khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Tại các khoảng thời gian đo 5-10 phút và 15-20 phút, sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Tại khoảng thời gian đo 10-15 phút, sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

* Kết quả tổng hợp về số cơn đau quặn trong cả 25 phút sau tiêm acid acetic được trình bày ở bảng 3.13.

Bảng 3.13. Ảnh hưởng của DDHV tới số cơn đau quặn trong cả 25 phút sau khi tiêm acid acetic (n = 10).

Lô nghiên cứu	Số cơn đau quặn trong cả 25 phút sau khi tiêm acid acetic	Tỷ lệ (%) giảm số cơn đau quặn so với lô chứng sinh lý
Lô chứng (1)	46,80 ± 12,32	-
Diclofenac (2)	30,00 ± 9,52	35,90 %
DDHV liều 1 (3)	33,60 ± 9,28	28,21 %
DDHV liều 2 (4)	31,50 ± 11,25	32,69 %
<i>p</i>	$p_{2,4-1} < 0,01$; $p_{3-1} < 0,05$ $p_{3,4-2} > 0,05$; $p_{3-4} > 0,05$	-

Nhận xét:

Kết quả ở bảng 3.13 cho thấy:

- So với lô chứng, số cơn đau quặn trong cả 25 phút sau tiêm acid acetic ở lô dùng DDHV liều 2 và lô dùng thuốc tham chiếu diclofenac liều 20 mg/kg/ngày nhỏ hơn có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$, ở lô dùng DDHV liều 1 nhỏ hơn với $p < 0,05$. Tính toán ở trong khoảng thời gian 25 phút này, tỷ lệ phần trăm làm giảm số cơn đau quặn ở lô dùng diclofenac liều 20 mg/kg/ngày, và các lô dùng DDHV cả 2 mức liều 1,44g cao đặc/kg/ngày và 2,88g cao đặc/kg/ngày, lần lượt là 35,90 %; 28,21 %; và 32,69 %.

- So với lô tham chiếu dùng diclofenac liều 20 mg/kg/ngày, số cơn đau quặn trong cả 25 phút sau tiêm acid acetic ở các lô dùng DDHV cả 2 mức liều (1,44g cao đặc/kg/ngày và 2,88g cao đặc/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p_{3,4-2} > 0,05$).

- So với ở lô dùng DDHV liều thấp, ở lô dùng DDHV liều cao có số cơn đau quặn trong cả 25 phút sau tiêm acid acetic ít hơn, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p_{3-4} > 0,05$).

3.4. Tác dụng ức chế vi khuẩn *Helicobacter pylori* của DDHV in vitro

Các đĩa thạch có DDHV trộn với vi khuẩn H.P và được so sánh với các đĩa thạch cấy vi khuẩn H.P nồng độ chuẩn (10^8 vi khuẩn/ml). Kết quả mức độ ức chế vi khuẩn H.P được thể hiện ở bảng 3.14.

Bảng 3.14. Mức độ ức chế vi khuẩn H.P của DDHV

Độ loãng	Mức độ vi khuẩn		
	Sau 2 giờ tiếp xúc	Sau 6 giờ tiếp xúc	Sau 24 giờ tiếp xúc
1/4	-	-	-
1/8	-	-	-
1/16	-	-	-
1/32	10^5	-	-
1/64	10^6	-	-
1/128	10^7	-	-

*Chú thích: (-) Vi khuẩn bị ức chế hoàn toàn.

Nhận xét: kết quả bảng 3.14 cho thấy

- DDHV ở nồng độ từ 1/4 đến 1/16 vi khuẩn H.P bị ức chế hoàn toàn ở mọi thời điểm 2 giờ, 6 giờ và 24 giờ tiếp xúc.

- Ở nồng độ pha loãng 1/32 đến 1/128 mức độ ức chế vi khuẩn giảm dần sau 2 giờ tiếp xúc nhưng sau 6 giờ và 24 giờ vi khuẩn vẫn bị ức chế hoàn toàn vi khuẩn.

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. Mô hình loét dạ dày bằng Asprine kết hợp thất môn vị

Hiện nay trên thế giới có rất nhiều mô hình thực nghiệm gây loét dạ dày - tá tràng trên nhiều loại động vật khác nhau. Trong đó mô hình gây loét dạ dày bằng các thuốc chống viêm không steroid trên chuột cống trắng được sử dụng một cách rộng rãi để đánh giá tác dụng của các thuốc chống loét dạ dày. Thuốc hay được sử dụng là indomethacin hoặc aspirin. Các thuốc chống viêm không steroid ức chế enzyme cylooxygenase do đó làm giảm tổng hợp prostaglandin dẫn đến giảm bài tiết chất nhầy và bicarbonate, 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, giảm tái sinh niêm mạc gây loét dạ dày tá tràng. Các thuốc có tác dụng giảm tiết dịch vị, băng se niêm mạc, tăng khả năng tái sinh niêm mạc làm liền tổn thương loét dạ dày sẽ có tác dụng tốt trên mô hình này.

Để đánh giá tác dụng trên dịch vị dạ dày, mô hình thất môn vị được sử dụng. Dịch dạ dày tiết ra bị ứ trệ, kích thích quá trình viêm loét. Các thuốc làm giảm tiết dịch vị, trung hòa acid dịch vị sẽ có tác dụng tốt trên mô hình này.

Để đánh giá được cả tác dụng trên làm liền tổn thương loét và tác dụng trên dịch vị dạ dày, sự kết hợp của 2 mô hình thành mô hình sử dụng một thuốc NSAIDs kết hợp thất môn vị cho phép tổn thương loét tạo ra rõ hơn, lượng dịch vị trong dạ dày nhiều hơn, dễ đánh giá hơn. Đây là mô hình hoàn toàn phù hợp để đánh giá tác dụng của các bài thuốc y học cổ truyền với nhiều vị thuốc kết hợp nên có được nhiều tác dụng phối hợp, vừa có các tác dụng theo hướng làm liền tổn thương loét, vừa có các tác dụng làm giảm tiết, trung hòa acid dạ dày.

4.2. Thuốc đối chứng omeprazol

Acid HCl được bài tiết bởi tế bào viền theo cơ chế sau: Tế bào viền bài tiết acid HCl dưới dạng H^+ và Cl^- . H^+ được vận chuyển tích cực từ trong tế bào viền đi vào dịch vị để trao đổi với K^+ từ dịch vị đi vào dưới tác dụng của enzym

H^+K^+ -ATPase (enzym này còn được gọi là bơm proton). Vì vậy, một trong những nguyên tắc điều trị loét dạ dày là dùng các loại thuốc ức chế enzym H^+K^+ -ATPase để làm giảm sự bài tiết acid HCl của tế bào viền. Các thuốc này được gọi là thuốc ức chế bơm proton: Omeprazol, Lansoprazol, Pantoprazol, Rabeprazol và Esomeprazol. Chúng ức chế bài tiết axit dịch vị do ức chế hệ thống enzym H^+/K^+ -ATPase “bơm proton” của tế bào thành dạ dày. Các thuốc này là những “tiền thuốc”, không có hoạt tính ở pH trung tính ở tế bào thành dạ dày (pH acid), chúng được chuyển thành các chất có hoạt tính, gắn vào bơm proton, ức chế đặc hiệu và không hồi phục bơm này. Do đó, các thuốc ức chế bơm proton làm giảm bài tiết axit do bất kỳ nguyên nhân gì vì đây là giai đoạn cuối cùng của sự bài tiết acid.

4.3. Tác dụng của cao đặc DDHV

- Ảnh hưởng đến độ pH dịch vị

pH là chỉ số đo độ hoạt động của các ion hydro (H^+) trong dung dịch và vì vậy là độ axit hay bazơ của nó, một dung dịch trung hòa (hoạt độ của các ion hydro cân bằng với hoạt độ của các ion hiđrôxit) có pH bằng 7. Các dung dịch có pH nhỏ hơn 7 được coi là dung dịch có tính axit. Acid càng mạnh thì pH càng nhỏ, pH trong dịch dạ dày từ 2-2,5.

Từ kết quả nghiên cứu cho thấy, các lô gây loét điều trị bằng omeprazol và các lô được điều trị bằng DDHV, độ pH tương đương nhau và tương đương với lô chứng không gây loét, cao hơn so với lô gây loét không điều trị ($p < 0,05$). Điều đó chứng tỏ cao đặc DDHV liều 0,84g cao đặc/kg/ngày và 1,68g cao đặc/kg/ngày có tác dụng điều chỉnh độ pH dạ dày tương đương với liều omeprazol 20mg/kg/ngày ($p > 0,05$).

Khi so sánh độ pH của lô trị 1 và 2 được điều trị bằng DDHV với liều 0,84g cao đặc/kg/ngày và 1,68g cao đặc/kg/ngày chúng tôi nhận thấy kết quả tương đương nhau, sự thay đổi không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Như vậy có thể dùng liều thông thường nhưng vẫn đạt hiệu quả mà không cần tăng liều điều trị.

- Ảnh hưởng đến HCL

HCl dịch vị không phải là enzym tiêu hóa nhưng đóng vai trò rất quan trọng như làm tăng hoạt tính của pepsin, hoạt hóa pepsinogen thành pepsin, tạo môi trường pH thích hợp cho pepsin hoạt động; phá vỡ mô liên kết bọc quanh các khối cơ để pepsin phân giải phần protid của khối cơ. Sự phối hợp giữa acid HCl và pepsin có tác dụng tiêu hóa protid rất mạnh. Tác dụng sát khuẩn tiêu diệt các vi khuẩn từ ngoài đi vào dạ dày theo thức ăn để tránh nhiễm trùng qua đường tiêu hóa; thủy phân cellulose; góp phần vào cơ chế đóng mở tâm vị và môn vị.

Tuy nhiên, acid HCl là con dao 2 lưỡi, khi sự bài tiết của nó tăng lên hoặc trong trường hợp sức đề kháng của niêm mạc dạ dày giảm thì acid HCl sẽ phối hợp với pepsin phá hủy niêm mạc dạ dày gây ra loét dạ dày. Kết quả nghiên cứu cho thấy sau 15 ngày điều trị độ acid tự do ở các lô chứng tham chiếu và lô trị 1, lô trị 2 đã giảm về gần bình thường, không có sự khác biệt với lô chứng sinh lý ($p > 0,05$) và thấp hơn có ý nghĩa so với lô chứng gây loét ($p < 0,01$). Điều đó chứng tỏ cao đặc DDHV có tác dụng giảm acid tự do dạ dày tương đương với omeprazol ($p > 0,05$).

- Ảnh hưởng đến thể tích dịch vị dạ dày

Thể tích dịch vị tăng cao sẽ làm tăng khả năng tổn thương thành dạ dày bị loét, mặt khác thể tích dịch vị tăng không chỉ thường gây ợ chua làm cho người bệnh khó chịu mà còn có thể gây viêm loét thực quản.

Kết quả nghiên cứu cho thấy thể tích dịch vị lô chứng gây loét cao hơn lô chứng sinh lý, khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Điều đó chứng tỏ mô hình gây loét đã làm tăng thể tích dịch vị.

Thể tích dịch vị ở các lô dùng cao đặc DDHV giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng gây loét. So sánh thể tích dịch vị giữa các lô dùng cao đặc DDHV với lô chứng tham chiếu, sự khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$), nhưng giảm có ý nghĩa so với lô chứng gây loét ($p < 0,05$). Điều đó chứng tỏ cao đặc DDHV có tác dụng giảm thể tích dịch vị tương đương với thuốc đối chứng omeprazol.

Tóm lại, kết quả nghiên cứu cho thấy cao đặc DDHV có tác dụng làm giảm thể tích dịch vị, tăng độ pH, giảm acid tự do trong mô hình gây loét dạ dày thực nghiệm; nhưng tác dụng đó do thành phần nào của bài thuốc và cơ chế tác dụng

của nó ra sao thì rất khó xác định, vượt quá khả năng nghiên cứu của chúng tôi. Tuy nhiên chúng tôi cho rằng, sở dĩ bài thuốc có tác dụng làm giảm acid tự do, giảm thể tích dịch vị, tăng độ pH là do trong thành phần bài thuốc có các vị thuốc có tác dụng trung hòa acid dạ dày như cam thảo, mai mực...; có nhiều vị thuốc có tác dụng ức chế tăng tiết acid như: cam thảo, mạch nha... theo những cơ chế khác nhau. Các vị thuốc này cũng thường được sử dụng trên lâm sàng để điều trị bệnh lý dạ dày, tá tràng.

- Ảnh hưởng đến tổn thương loét

Kết quả nghiên cứu cho thấy 100% chuột ở lô chứng gây loét có ổ loét, như vậy mô hình gây loét đạt được yêu cầu nghiên cứu đề ra. Chuột ở lô tham chiếu có 6/9 chuột có loét, chỉ số loét giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng gây loét với $p < 0,01$, phần trăm ức chế loét là 33,64. Chuột được cho uống cao đặc DDHV liều 0,84g cao đặc/kg/ngày, loét xuất hiện ở 7/9 chuột; chỉ số loét giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,05$; phần trăm ức chế loét là 25,62 (%). Chuột được cho uống DDHV liều 1,68 g cao đặc/kg/ngày: loét xuất hiện ở 6/9 chuột; chỉ số loét giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,01$; phần trăm ức chế loét là 36,11 (%). Chỉ số loét ở 2 lô uống DDHV so với lô chứng tham chiếu khác biệt không có ý nghĩa. Điều đó chứng tỏ cao đặc DDHV có tác dụng làm nhỏ hoặc mất tổn thương loét trên chuột thực nghiệm.

Sở dĩ cao đặc DDHV có tác dụng chống loét theo chúng tôi là do bài thuốc ngoài tác dụng ức chế tiết dịch vị, giảm acid tự do còn có các vị thuốc ức chế bài tiết cũng như hoạt tính pepsin như hoài sơn, phục linh, mộc hương..., do đó làm giảm tác động của pepsin lên niêm mạc dạ dày cũng như lên ổ loét đã hình thành. Trong bài thuốc còn có nhiều vị thuốc có tác dụng băng phủ và bảo vệ niêm mạc dạ dày như: hoài sơn, cam thảo, ô tặc cốt... Ngoài ra còn có các vị thuốc có tác dụng kháng loét dạ dày như hoài sơn, ô tặc cốt, mạch nha... [34].

Tóm lại, xét trên phương diện tác dụng dược lý của các vị thuốc trong cao đặc DDHV thì chế phẩm có tác dụng trung hòa acid dạ dày, ức chế bài tiết dịch vị do đó làm giảm độ acid tự do, độ pH dịch vị dạ dày cũng như thể tích dịch vị; làm giảm hoạt độ pepsin; băng phủ niêm mạc dạ dày, chống loét, chống kích ứng dạ dày,

đồng thời cải thiện vi tuần hoàn làm nhanh chóng phục hồi tổn thương do đó có tác dụng điều trị viêm loét dạ dày.

Xây dựng bài thuốc trên cơ sở biện chứng luận trị theo y lý YHCT, sau đó nghiên cứu theo mô hình YHHĐ để đánh giá hiệu quả là hướng nghiên cứu đang được ứng dụng đối với thuốc YHCT hiện nay. Với nghiên cứu này chúng tôi hy vọng có đóng góp nhỏ trong quá trình hiện đại hóa thuốc YHCT và thêm một thuốc YHCT trong điều trị bệnh lý dạ dày.

4.4. Về tác dụng giảm đau của cao đặc DDHV

Tác dụng giảm đau của cao đặc DDHV được đánh giá trên mô hình gây đau quặn (Writhing Tests), và mô hình phiến nóng (Hot plate test). Mô hình gây đau quặn (Writhing Tests) là mô hình dược lý cơ bản, được sử dụng rộng rãi để đánh giá tác dụng giảm đau ngoại vi của thuốc, đặc biệt đau do viêm. Mô hình “Phiến nóng” (Hot plate test) cho phép đánh giá tác dụng giảm đau có nguồn gốc trung ương của chế phẩm, nhằm đánh giá xem có thể cao đặc DDHV ức chế trung tâm nhận cảm đau theo kiểu Morphin hoặc tăng ngưỡng nhận cảm đau tại các bộ phận nhận cảm. Cao đặc DDHV thể hiện rõ cả tác dụng giảm đau ngoại vi (trong thử nghiệm Writhing Tests), và cả tác dụng giảm đau trung ương (trong thử nghiệm Hot plate test). Theo chúng tôi nghĩ, tác dụng giảm đau ngoại vi của cao đặc DDHV có thể do cơ chế ức chế các prostglandin và các chất trung gian hóa học khác như histamin, bradykinin, đồng thời có vai trò của tác dụng chống viêm làm giảm phù nề, chèn ép. Cao đặc DDHV làm giảm phù nề, giảm lượng dịch rỉ viêm dẫn đến giảm chèn ép và giảm các kích thích với ngọn dây cảm giác. Tác dụng giảm đau trung ương của cao đặc DDHV có thể do ức chế các trung tâm nhận cảm đau.

4.5. Về tác dụng ức chế vi khuẩn *Helicobacter pylori* của DDHV

Trong điều trị viêm loét dạ dày hành tá tràng, tác dụng ức chế vi khuẩn HP rất được lưu ý do đây là một trong những nguyên nhân phổ biến gây viêm loét dạ dày tá tràng. Thường trong điều trị, khi các thuốc làm giảm tiết dịch vị, trung hòa làm giảm acid dịch vị cũng đồng thời gây tác dụng ức chế vi khuẩn HP do làm giảm acid trong môi trường sống của HP. Tác dụng này càng được tăng cường khi thuốc điều trị có tác dụng ức chế HP trên thử nghiệm invitro, theo cơ chế giống như kháng sinh. Cao đặc

DDHV thử nghiệm trên invitro đã thể hiện tác dụng ức chế HP. Mặt khác cao đặc DDHV trong nghiên cứu này cũng cho thấy có tác dụng làm giảm tiết dịch vị, trung hòa làm giảm acid dịch vị. Như vậy, cao đặc DDHV hứa hẹn có tác dụng tốt đối với điều trị viêm loét dạ dày hành tá tràng có nhiễm HP.

KẾT LUẬN

Từ các kết quả thử nghiệm tác dụng trên thực nghiệm của cao đặc DDHV, chúng tôi kết luận:

1. Tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày của DDHV trên mô hình thực nghiệm gây loét dạ dày ở chuột cống trắng.

- DDHV ở cả 2 mức liều dùng (0,84g cao đặc/kg/ngày và 1,68g cao đặc/kg/ngày) có tác dụng tốt trong điều trị viêm loét dạ dày trên mô hình thực nghiệm gây loét dạ dày bằng Asprine kết hợp thắt môn vị ở chuột cống trắng, thông qua các chỉ tiêu:

+ Làm giảm thể tích dịch vị, tăng pH dịch vị, giảm độ acid tự do và acid toàn phần của dịch vị, có ý nghĩa thống kê so với lô chứng gây loét.

+ Làm giảm số động vật bị loét, giảm chỉ số loét có ý nghĩa thống kê so với lô chứng gây loét.

+ Làm giảm rõ rệt tổn thương trên hình ảnh đại thể và vi thể dạ dày chuột.

Các tác dụng này tương đương so với khi dùng thuốc tham chiếu omeprazole liều 20mg/kg/ngày.

2. Tác dụng giảm đau của DDHV theo phương pháp “mâm nóng” (Hotplate).

DDHV ở cả 2 mức liều dùng (1,44g cao đặc/kg/ngày và 2,88g cao đặc/kg/ngày) có tác dụng giảm đau tốt trên khi thử theo phương pháp “mâm nóng” (Hotplate), làm thời gian đáp ứng đau của chuột dài hơn có ý nghĩa thống kê so với ở lô chứng sinh lý, cũng như so sánh tự chứng với trước khi dùng thuốc. Tuy nhiên tác dụng này còn thua kém so với morphin tiêm dưới da liều 10 mg/kg.

3. Tác dụng giảm đau của DDHV theo phương pháp gây đau quặn bằng acid acetic (phương pháp Koster)

DDHV ở cả 2 mức liều dùng (1,44g cao đặc/kg/ngày và 2,88g cao đặc/kg/ngày) có tác dụng giảm đau tốt trên khi thử theo phương pháp gây đau quặn bằng acid acetic (phương pháp Koster), làm số cơn đau quặn giảm hơn so với lô chứng sinh lý. Tác dụng này tương đương với khi dùng diclofenac liều 20mg/kg/ngày.

4. Tác dụng ức chế vi khuẩn *Helicobacter pylori* của DDHV in vitro

- Cao 1:1 DDHV khi pha loãng ở nồng độ từ 1/4 đến 1/16 vi khuẩn H.P bị ức chế hoàn toàn ở mọi thời điểm 2 giờ, 6 giờ và 24 giờ tiếp xúc.

- Khi pha loãng ở nồng độ pha loãng 1/32 đến 1/128 mức độ ức chế vi khuẩn giảm dần sau 2 giờ tiếp xúc nhưng sau 6 giờ và 24 giờ vi khuẩn vẫn bị ức chế hoàn toàn vi khuẩn.

* Tác dụng này đã được thẩm định bởi Trung tâm kiểm nghiệm Học viện Quân y - Viện Nghiên cứu Y dược học Quân sự, Học viện Quân y cho thấy là phù hợp.

Nghiên cứu được tiến hành tại Bộ môn Dược lý Học viện Quân y. Thời gian từ 01/2019 đến 07/2019

KIẾN NGHỊ VÀ ĐỀ XUẤT

Qua nghiên cứu trên thực nghiệm cho thấy cao đặc DDHV có tác dụng tốt bảo vệ niêm mạc dạ dày, giảm đau, ức chế vi khuẩn HP trên thực nghiệm, hứa hẹn tạo sản phẩm có hiệu quả trong điều trị viêm loét dạ dày tá tràng do vi khuẩn HP. Từ kết quả của nghiên cứu, chúng tôi có một số kiến nghị và đề xuất:

- Tiếp tục nghiên cứu về tính an toàn của cao đặc DDHV.
- Tiếp tục nghiên cứu tính an toàn và hiệu quả của cao đặc DDHV trên lâm sàng.
- Tiếp tục nghiên cứu các dạng bào chế viên nén, viên nang...từ cao đặc DDHV tạo sản phẩm phục vụ chăm sóc sức khỏe cộng đồng và có thể thương mại sản phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

1. **Bộ Y tế (2015)**. “*Hướng dẫn sử dụng kháng sinh*”, nhà xuất bản Y học, trang 145 - 148.
2. **Bộ Y tế (2018)**, “*Quy định về thử thuốc trên lâm sàng*”, Thông tư số 29/2018/TT-BYT ngày 29 tháng 10 năm 2018.
3. **Bùi Xuân Trường (2008)**, *Nhiễm H.P và tình hình ung thư dạ dày ở miền bắc, miền nam Việt Nam*, Tạp chí Khoa học Tiêu hóa Việt Nam, 3(13), tr 822.
4. **Cao Tiên Hỷ (2002)**, *Nghiên cứu bào chế và đánh giá tác dụng điều trị bệnh viêm loét dạ dày - tá tràng của thuốc cốm đơn số 12*. Luận văn thạc sỹ dược học - Học viện quân y.
5. **Đặng Ngọc Quý Huệ, Trần Văn Huy, Nguyễn Sĩ Tuấn, và cs (2014)**, *Đánh giá Helicobacter pylori đề kháng với Clarithromycin và Levofloxacin bằng Epsilometer test tại Đồng Nai, năm 2013*, Y học thực hành, 903(1), tr.89-93.
6. **Đỗ Tất Lợi (2015)**, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản thời đại. Trang 55-58, 217, 222-223, 227-229, 384-385, 391-392, 483-484, 633-634, 811-812, 863-867, 872-874, 887-889.
7. **Đỗ Thị Thanh Trung, Phạm Thị Vui, Nguyễn Huyền Trang và cs (2018)**. *Đánh giá khả năng ức chế vi khuẩn Helicobacter pylori của một số dịch chiết thảo dược Việt Nam*. Tạp chí Khoa học và công nghệ Việt Nam, số 60 (7), trang 23-27.
8. **Đình Cao Minh, Bùi Hữu Hoàng (2013)**, *Đánh giá đề kháng kháng sinh của Helicobacter pylori trên bệnh nhân viêm loét dạ dày- tá tràng đã điều trị tiết trờ thất bại*, Tạp chí Khoa học tiêu hoá Việt Nam, VIII(33), tr.2139-2140
9. **Hải Thượng Lãn ông Lê Hữu Trác (2016)**, “*Vị quân thống*”, *Hải thượng y tông tâm lĩnh*, Nhà xuất bản y học Hà Nội, tr. 92-482 63
10. **Hoàng Trọng Thắng (2007)**, “*Helicobacter pylori và bệnh lý liên quan đến dạ dày tá tràng*”, Tạp chí Khoa học Tiêu hóa Việt Nam, 2(6), tr 362-369.

11. **Hội khoa học tiêu hóa Việt Nam (2013)**, *Khuyến cáo chẩn đoán và điều trị Helicobacter pylori tại Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, tr 6- 22
12. **Ngô Quyết Chiến, Trần Quốc Bảo (2013)**, *Y học cổ truyền dùng cho đào tạo đại học*. NXB QĐND. Tr 459-462.
13. **Nguyễn Văn Bằng (2005)**, “*Một số đặc điểm dịch tễ học nhiễm Helicobacter pylori ở trẻ em Việt Nam*”, Tạp chí nghiên cứu y học, 35(2), tr. 14-19.
14. **Nguyễn Văn Toại (2003)**, *Nghiên cứu tác dụng diệt Helicobacter pylori bằng hoạt chất toàn phần của lá tràu không trên thực nghiệm và trong viêm dạ dày mạn tính*, Luận án tiến sỹ trường đại học y Hà Nội.
15. **Nguyễn Thúy Vinh và CS (2011)**, “*Nghiên cứu hiệu quả điều trị diệt Helicobacter pylori lần hai của phác đồ EAC và EBTM*”, Tạp chí Y học thực hành 4(760), tr 23-25.
16. **Nguyễn Thị Thanh Minh (2006)**, *Tổng quan về các mô hình nghiên cứu tác dụng chống loét dạ dày tá tràng của thuốc*, Khoá luận tốt nghiệp dược sĩ đại học năm 2006, trường Đại học dược Hà Nội.
17. **Nguyễn Quốc Anh, Ngô Quý Châu (2012)**, *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh nội khoa*. NXB Y học. Trang 494-497.
18. **Phạm Quang Cử (2008)**, *Helicobacter pylori, Vi khuẩn gây bệnh dạ dày-tá tràng*, Nhà xuất bản Y Học Hà Nội.
19. **Phạm Bá Tuyến (2014)**, *Nghiên cứu tác dụng của chế phẩm Hpmax trong điều trị loét hành tá tràng có Helicobacter pylori*, Hà Nội năm 2014, Luận án Tiến sỹ y học cổ truyền. Trường Đại học y Hà Nội.
20. **Quách Trọng Đức (2011)**, *Mối liên quan giữa teo niêm mạc dạ dày nội soi theo phân loại Kimura - Takemoto với các tổn thương tiền ung thư trong bệnh viêm dạ dày mạn*, Luận án Tiến sỹ Y học, Trường Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh.
21. **Vũ Bình Dương; Nguyễn Hoàng Ngân; Hồ Bá Ngọc Minh và cs (2015)**, *Nghiên cứu tác dụng điều trị viêm loét dạ dày của cốm dạ dày amiprogastr trên chuột cống trắng*. Tạp chí Y dược học Quân sự, số 9, trang 39 - 44.
22. **Vũ Nam (1995)**, *Góp phần nghiên cứu tác dụng của cây chè dây trong điều trị*

- loét hành tá tràng*, Luận án phó Tiến sỹ khoa học Y dược trường đại học y Hà Nội.
23. **Vũ Minh Hoàn (2014)**, *Nghiên cứu tác dụng của cao lỏng Vị quản kháng trên bệnh nhân viêm dạ dày mạn tính Helicobacter pylori dương tính*, luận án tiến sỹ y học cổ truyền, Trường Đại học Y Hà Nội.
 24. **Võ Văn Chi (2014)**, *Bài thuốc hay từ cây thuốc quý*. NXB Y học. Trang 88-89, 216-217, 243-245, 430-431, 441-442, 513-514.
 25. **Viện dược liệu (2015)**, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, nhà xuất bản khoa học kỹ thuật Hà Nội*, tập 1, Tr. 85-425.
 26. **Viện dược liệu (2015)**, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, nhà xuất bản khoa học kỹ thuật Hà Nội*, tập 2, tr. 94-1075
 27. **Viện Dược liệu (2006)**, *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc thảo dược*. Nhà xuất bản Khoa học Kỹ thuật. Trang 195-201.
 28. **Tạ Long et al (2010)**, *Helicobacter pylori infection, peptic ulcer and gastric cancer in Vietnam*, Tạp chí Khoa học Tiêu hóa Việt Nam 5(20), 1317-1334.
 29. **Trần Văn Hợp và cộng sự (2001)**, "*Viêm dạ dày mãn tính, Tài liệu đào tạo sau đại học*", Đại học Y Hà Nội, tr. 184-221.
 30. **Tạ Long (2003)**, *Bệnh lý dạ dày tá tràng và vi khuẩn H.P*, NXB Y học Hà Nội.
 31. **Trần Công Trường, Nguyễn Minh Hà, Nguyễn Tuấn Lượng (2017)**, *Đánh giá tác dụng của cốm tan An vị trên mô hình gây loét tá tràng bằng cysteamine ở chuột cống trắng*. Tạp chí Y học cổ truyền Quân sự. Số 3/2017. Trang 18-23.
 32. **Trần Quốc Bảo (2017)**, *Lý luận cơ bản Y học cổ truyền*, Nhà xuất bản y học Hà nội, tr.53-140;193-234; 412-432.

Tài liệu tiếng Anh

33. **Chey WD, Leontiadis GI, Howden CW, Moss SF (2017)**, "ACG Clinical Guideline: Treatment of Helicobacter pylori Infection". Am J Gastroenterol, 112(2):212-239.
34. **Esther Oluwatoyin Agbaje, Muyiwa Samuel Fageyinbo, Olaitan Oladele Alabi (2017)**. *Gastro-duodenal protective effect of aqueous leaf extract of*

Daucus carota sativus Linn. (Apiaceae) in rats and its possible mechanism of action. *The Journal of Phytopharmacology*; 6(3): 156-163.

35. **H. Gerhard Vogel (2008)**, *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays*. Springer.
36. **Koster R., Anderson M. And De Beer E.J. (1959)**: *Acetic acid analgesic screening*. Federation Proceedings 18, 412.
37. **International Agency for Research on Cancer - Helicobacter pylori Working Group (1994)**, *Schistosomes, liver flukes and Helicobacter pylori*. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, 7- 14 June 1994, IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum, 61, pp.1-241.
38. **International Agency for Research on Cancer - Helicobacter pylori Working Group (2014)**. *Helicobacter pylori Eradication as a Strategy for Preventing Gastric Cancer*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer (IARC Working Group Reports, No 8).
39. **Lam S.K., Talley N.J. (1998)**, “*Helicobacter pylori consensus: Report of the 1997 Asia Pasific consesus conference on management of Helicobacter pylori infection*”, *Gastroenterol Hepatol*, 13, pp.1-12.
40. **Luqing Zhao and et (2013)**, *Efficacy of Modified Ban Xia Xie Xin Decoction on Functional Dyspepsia of Cold and Heat in Complexity Syndrome: A Randomized Controlled Trial*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. ID 812143. Page 8-9.
41. **M.L. Wang and et. (2016)**, *Metabolomics studies of chronic atrophic gastritis cold and heat syndrome*. Bulgarian Chemical Communications, Special Edition F, (pp. 144 – 151) 2016.
42. **Peek, R. M. (2008)**, *Prevention of Gastric Cancer: When is Treatment of Helicobacter pylori Warranted?*, *Therap Adv Gastroenterol*, 1(1), pp.19-31.
43. **Mark F., Edward L.L. (2016)**, “*Gastritis*”, *Sleisenger and Fordtran's gastrointestinal and liver disease*. Chapter 52, pp. 868-883.

44. **Malaty H.M. (2010)**, "*epidemiology of Helicobacter pylori infetion*", *Helicobacter pylori in the 21st Century*. 1st Edition.
45. **Malfertheiner P., Megraud F., O Morain C., et al (2012)**, "*Management of Helicobacter pylori infection: the Maastricht IV Consensus Report*", *Gut*, 61(5), pp.646-664.
46. **Sandor Szabo (1978)**. *Duodenal ulcer disease. Animal model: cysteamine-induced acute and chronic duodenal ulcer in the rat*. *American Journal Of Pathology* 93(1):273-6.
47. **Vijayakumar AR1, Daniel EP1, Ilavarasan R2, Venkataraman S3, Vijayakumar S4. (2016)**. *Ulcer Protective Activity of Jatropha gossypifolia Linn. in Wistar Rats*. *Pharmacognosy Res*;8(Suppl 1):S61-6. doi: 10.4103/0974-8490.178640.
48. **Warren, J. R., Marshall, B. J. (1983)**, *Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis*, *Lancet*, 1(8336), pp.1273-1275
49. **Woolfe. G .and MacDonald. A.D. (1944)**. *The evaluation of the analgesic action of Pethidine Hydrochloride (Demerol)*. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 80 (3) 300-307.

Tài liệu tiếng Trung

50. **韩立民(2008)**,胃脘痛中医辨证分型与 H.P 感染的关系分析,中华中医药学刊, 1(26):90. **Han Li Min(2008)**, *Phân tích mối tương quan các thể bệnh Vị quản thống của y học cổ truyền với vi khuẩn Helicobacter pylori*, *Tạp chí Y dược học cổ truyền Trung Quốc*,1 (26), tr 90.
51. **王春花 (2011)**, 中药抗幽门螺旋杆菌研究进展, 陕西中医, 32 (6): 763-764. **Wang Chun Hua (2011)**, *Những tiến bộ nghiên cứu Trung dược đối kháng Helicobacter pylori*, *Tạp chí Trung y Thiểm Tây*, 32(6), tr. 763-764.
52. **吴友山, 陶志强, 潘丽娟,等 (2007)**, 幽门螺旋杆菌致病机制及其 相关疾病研究进展, 内科, 2(4): 619. **Wu You Shan, Tao Zhi Qiang, Pan Li Juan, cs (2007)**, *Những tiến bộ nghiên cứu cơ chế gây bệnh của Helicobacter pylori*, *Nội khoa* , 2(4), tr. 619.