NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA DỊCH CHIẾT XGTQ LÊN MỘT SỐ CHỈ SỐ SINH HÓA VÀ MÔ BỆNH HỌC TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

BS. NGUYỄN HỮU DƯƠNG, TS. TRẦN CÔNG TRƯỜNG
Viện Y học cổ truyền Quân đội
TS. NGUYỄN THANH HÀ TUẤN
PGS.TS. NGUYỄN HOÀNG NGÂN - *Học viện Quân y*
Phản biện khoa học: PGS.TS. CẤN VĂN MÃO
Chủ nhiệm Bộ môn Sinh lý bệnh, Học viện Quân y

TÓM TẮT: *Nghiên cứu ảnh hưởng của dịch chiết bài thuốc XGTQ (gồm 12 vị thuốc: Hoàng kỳ, Đảng sâm, Cam thảo, Bạch truật, Đương quy, Trần bì, Sài hồ, Ngũ vị tử, Bạch linh, Trạch tả, Mẫu lệ, Uất kim) lên các chỉ số sinh hóa và hình ảnh mô bệnh học gan, lách, thận động vật thực nghiệm. Chuột cống trắng uống dịch chiết bài thuốc XGTQ hằng ngày trong 90 ngày, với liều 19,6 g/kg/ngày và 58,8 g/kg/ngày.* ***Kết quả:*** *khác biệt không có ý nghĩa thống kê về các chỉ số sinh hóa máu (gồm AST, ALT, cholesterol toàn phần, creatinin và albumin huyết tương) giữa các lô uống thuốc với lô chứng. Hình ảnh mô bệnh học của gan, lách, thận các nhóm chuột nghiên cứu không có tổn thương.* ***Kết luận:*** *dịch chiết bài thuốc XGTQ không gây ảnh hưởng đến chức năng gan, thận và mô bệnh học gan, thận, lách động vật thực nghiệm khi dùng kéo dài.*

Từ khóa: XGTQ, sinh hóa máu, mô bệnh học.

ABSTRACT: *Study the effect of the extract of XGTQ remedies (include 12 herbs: Radix astragali, Radix codonopsis, Radix glycyrrhizae, Rhizoma atractylodis macrocephalae, Radix angelicae sinensis, Pericarpium citri reticulatae, Radix bupleuri, Fructus schisandrae, Poria cocos (Schw) wolf, Rhizoma alismatis, Concha ostreae, Radix curcumae) on the blood chemistry indexes, liver, spleen and kidney histopathological images. The extract of XGTQ remedies with doses of 19.6 g/kg/24h and 58.8 g/kg/24h, daily during 90 days to rats.* ***Results:*** *there was no statistically significant differences between treatment groups compared to control group in the blood chemistry indexes include AST, ALT, total cholesterol, creatinin and albumin. Histopathological images of the liver, spleen, kidneys were normal.* ***Conclusion:*** *the extract of XGTQ has no effects on liver and kidney the function and histopathological images of the liver, spleen, kidneys even when it was used for a long time.*

Keywords: XGTQ, blood chemistry, histopathological images.

Chịu trách nhiệm nội dung: BS. Nguyễn Hữu Dương, Email: bacsyduong24h@gmail.com

Ngày nhận bài: 03/5/2018; mời phản biện khoa học: 11/5/2018; chấp nhận đăng: 30/5/2018.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ.

Xơ gan là một bệnh lí thường gặp ở nhiều quốc gia trên thế giới. Tại Hoa Kỳ, xơ gan là nguyên nhân gây tử vong đứng hàng thứ 10 trong các nguyên nhân bệnh lí [1]. Xơ gan có thể do nhiều nguyên nhân, như do virus viêm gan B và C, do hóa chất, do miễn dịch, do rượu… Xơ gan gây nên các biến chứng như: giãn vỡ tĩnh mạch thực quản, xơ gan ung thư hóa, hôn mê gan, huyết khối tĩnh mạch... [2].

Y học cổ truyền (YHCT) có thế mạnh điều trị các chứng "tích tụ, hoàng đản, hiếp thống" trong bệnh lí xơ gan. Nhằm góp thêm các lựa chọn điều trị bệnh lí xơ gan, dựa vào biện chứng luận trị của YHCT, chúng tôi xây dựng bài thuốc "XGTQ" gồm 12 vị, theo pháp trị: bổ khí kiện tì, lợi niệu thẩm thấp, hành khí hoạt huyết, nhuyễn kiên tán kết [3].

Để có cơ sở khoa học về tính an toàn của bài thuốc, chúng tôi tiến hành nghiên cứu với mục tiêu đánh giá ảnh hưởng của dịch chiết bài thuốc XGTQ tới một số chỉ số sinh hóa máu và mô bệnh học gan, lách, thận trên chuột thực nghiệm.

2. CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.

2.1. Đối tượng, chất liệu, phương tiện nghiên cứu:

- Đối tượng nghiên cứu: 24 con chuột cống trắng chủng Wistar. Chuột khỏe mạnh, trọng lượng từ 160-180g, do Ban động vật thí nghiệm, Học viện Quân y cung cấp, nuôi dưỡng theo tiêu chuẩn động vật nghiên cứu.

- Chất liệu nghiên cứu: bài thuốc XGTQ gồm 12 vị: Hoàng kỳ 10g, Đảng sâm 10g, Cam thảo 10g, Bạch truật 15g, Đương quy 10g, Trần bì 5g,

Sài hồ 5g, Ngũ vị tử 10g, Bạch linh 15g, Trạch tả 15g, Mẫu lệ 20g, Uất kim 15g. Thuốc do Công ty Dược phẩm Trung ương Mediplantex cung cấp, đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt nam IV [4]. Thuốc được sắc, đóng gói bằng hệ thống máy tự động của Hàn Quốc, tại Khoa Y học cổ truyền, Bệnh viện Quân y 103.

- Liều dùng (tính theo g dược liệu khô): liều dùng trên người là 140 g/người (thể trọng trung bình 50 kg)/ngày, hay 2,8 g/kg thể trọng/ngày. Liều ngoại suy trên chuột cống (hệ số 7) là 19,6 g/kg thể trọng/ngày.

- Máy, hóa chất: máy phân tích huyết học Humancout 30TS, hãng Human, Đức, sử dụng phần mềm phân tích huyết học dành cho chuột thí nghiệm, hóa chất của hãng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

Đánh giá ảnh hưởng của dịch chiết XGTQ đối với một số chỉ số sinh hóa máu và mô bệnh học gan, lách, thận trên chuột thực nghiệm [5], [6], [7].

- Tiến hành thực nghiệm: chia ngẫu nhiên 24 con chuột làm 3 lô, mỗi lô 8 con. Cho chuột uống dịch chiết XGTQ hoặc nước cất, mỗi ngày 1 lần vào 8 giờ sáng, liên tục trong 90 ngày. Trong đó:

+ Lô chứng: chuột uống nước cất, liều 2 ml/kg trọng lượng cơ thể/ngày.

+ Lô trị 1: chuột uống dịch chiết XGTQ, liều 19,6 g/kg trọng lượng cơ thể/ngày (liều có tác dụng tương đương trên lâm sàng).

+ Lô trị 2: chuột uống dịch chiết XGTQ, liều 58,8 g/kg trọng lượng cơ thể/ngày (liều gấp 3 lần so với lô trị 1).

- Các chỉ tiêu theo dõi và đánh giá:

+ Các chỉ tiêu sinh hóa máu (AST, ALT, albumin, cholesterol, creatinin), xét nghiệm tại thời điểm trước uống thuốc (D_0), ngày thứ 45 (D_{45}) và ngày thứ 90 (D_{90}).

+ Mô bệnh học các cơ quan gan, thận, lách chuột (mổ chuột tại thời điểm sau uống thuốc 90 ngày): quan sát hình ảnh đại thể và quan sát cấu trúc vi thể gan thận ngẫu nhiên 30% số chuột ở mỗi lô, thực hiện tại Bộ môn-Khoa Giải phẫu bệnh-Pháp y, Bệnh viện Quân y 103.

- Xử lý số liệu: các số liệu được thống kê, xử lý theo phép kiểm định t test - Student; sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi p < 0,05.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.

3.1. Đánh giá chức năng gan:

Bảng 1. Ảnh hưởng của XGTQ đến hoạt độ AST, ALT trong máu chuột.

Chỉ số	Thời điểm	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	p
AST (U/l)	D_0 (a)	79,63 ± 21,77	83,00 ± 17,89	87,38 ± 17,26	$p_{1-2} > 0,05$
	D_{45} b)	71,63 ± 5,01	73,50 ± 10,89	68,50 ± 29,04	$p_{1-3} > 0,05$
	D_{90} (c)	74,63 ± 11,53	72,63 ± 15,72	71,62 ± 14,66	$p_{2-3} > 0,05$
	p_{a-b}	> 0,05	> 0,05	> 0,05	-
	p_{a-c}	> 0,05	< 0,05	< 0,05	
	p_{b-c}	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
ALT (U/l)	D_0 (a)	65,00 ± 23,20	66,50 ± 23,95	69,25 ± 23,14	$p_{1-2} > 0,05$
	D_{45} (b)	54,00 ± 14,04	51,50 ± 7,13	49,88 ± 16,06	$p_{1-3} > 0,05$
	D_{90} (c)	54,73 ± 20,36	54,37 ± 18,76	53,50 ± 21,95	$p_{2-3} > 0,05$
	p_{a-b}	> 0,05	> 0,05	< 0,05	-
	p_{a-c}	> 0,05	< 0,05	< 0,05	
	p_{b-c}	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

- So sánh giữa các lô trong cùng một thời điểm, sự biến đổi hoạt độ AST và ALT trong máu chuột khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

- So sánh giữa các thời điểm đánh giá trong từng lô nghiên cứu:

+ Ở các lô dùng XGTQ, hoạt độ AST và ALT trong máu chuột các thời điểm sau đều có giá trị thấp hơn so với trước thí nghiệm. Tại thời điểm ngày 90 dùng XGTQ, hoạt độ cả AST và ALT máu chuột đều thấp hơn có ý nghĩa thống kê (p < 0,05). Thời điểm ngày 45 dùng thuốc, hoạt độ AST và ALT máu chuột đều giảm nhưng khác biệt chỉ có ý nghĩa thống kê (p < 0,05) đối với hoạt độ ALT ở lô dùng XGTQ liều cao.

+ Ở lô chứng, hoạt độ AST và ALT trong máu chuột các thời điểm sau biến đổi không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05) so với trước thí nghiệm.

Bảng 2. Ảnh hưởng của dịch chiết XGTQ đến nồng độ albumin (g/l) trong máu chuột.

Thời điểm	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	p
D_0 (a)	35,75 ± 3,20	36,88 ± 2,10	35,37 ± 2,13	$p_{1-2} > 0,05$
D_{45} (b)	34,25 ± 4,46	30,63 ± 1,59	34,13 ± 5,11	$p_{1-3} > 0,05$
D_{90} (c)	34,75 ± 4,17	33,25 ± 0,89	34,38 ± 3,74	$p_{2-3} > 0,05$
p	$p_{a-b} > 0,05$; $p_{a-c} > 0,05$; $p_{b-c} > 0,05$			

Albumin máu chuột lô trị 1, lô trị 2 ở thời điểm D_0, D_{45}, D_{90} không khác biệt so với lô chứng; so sánh từng lô các thời điểm D_0, D_{45}, D_{90} cũng không có sự khác biệt (p > 0,05).

Bảng 3. Ảnh hưởng của dịch chiết XGTQ đến nồng độ cholesterol (mmol/l) trong máu chuột.

Thời điểm	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	p
D_0 (a)	1,24 ± 0,62	1,40 ± 0,35	1,34 ± 0,28	$p_{1-2} > 0,05$
D_{45} (b)	1,31 ± 0,56	1,35 ± 0,38	1,30 ± 0,32	$p_{1-3} > 0,05$
D_{90} (c)	1,30 ± 0,60	1,28 ± 0,44	1,23 ± 0,49	$p_{2-3} > 0,05$
p	$p_{a-b} > 0,05$; $p_{a-c} > 0,05$; $p_{b-c} > 0,05$			

Cholesterol trong máu chuột ở cả lô trị 1 và lô trị 2 tại thời điểm D_0, D_{45} và D_{90} khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so sánh từng lô giữa các thời điểm trước - sau khi uống thuốc cũng không có sự khác biệt (p > 0,05).

3.2. Đánh giá chức năng thận:

Bảng 4. Ảnh hưởng của dịch chiết XGTQ đến nồng độ creatinin (µmol/l) trong máu chuột.

Thời điểm	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	p
D_0 (a)	66,68 ± 32,72	70,89 ± 30,55	72,50 ± 8,29	$p_{1-2} > 0,05$
D_{45} (b)	61,88 ± 19,54	73,00 ± 8,89	70,00 ± 9,24	$p_{1-3} > 0,05$
D_{90} (c)	63,38 ± 11,61	60,25 ± 17,56	62,75 ± 19,60	$p_{2-3} > 0,05$
p	$p_{a-b} > 0,05$; $p_{a-c} > 0,05$; $p_{b-c} > 0,05$			

Ở thời điểm D_{45} và D_{90} sau uống XGTQ, nồng độ creatinin trong máu chuột lô trị 1 và lô trị 2 thay đổi không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so với thời điểm trước khi uống thuốc (p > 0,05).

3.3. Hình ảnh mô bệnh học:

3.3.1. Hình ảnh đại thể:

Quan sát bằng mắt thường và dưới kính lúp (độ phóng đại 25 lần), thấy màu sắc, hình thái của gan, lách và thận ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt so với lô chứng (các ảnh 1, 2, 3).

3.3.2. Hình ảnh vi thể:

Quan sát hình ảnh vi thể (HE x 400) gan và thận của chuột nghiên cứu ở thời điểm D_{90}

- Lô chứng: các bè gan và tiểu thùy gan không thay đổi về cấu trúc; tế bào gan không bị thoái hóa, không có xâm nhập viêm; tĩnh mạch trung tâm không giãn, không xung huyết (ảnh 4). Cuộn mạch của các tiểu cầu thận có cấu trúc bình thường; khoang Bowman rõ, các tế bào biểu mô ống thận bình thường (ảnh 7).

- Lô trị 1: các thùy gan và bè gan không thay đổi về cấu trúc; tế bào gan không có tổn thương; tĩnh mạch trung tâm không giãn, không xung huyết, không có khác biệt với lô chứng (ảnh 5). Cấu trúc vùng vỏ, vùng tủy cầu thận bình thường; so với lô chứng không có sự khác biệt (ảnh 8).

- Lô trị 2: các thùy gan và bè gan không thay đổi về cấu trúc; tế bào gan không thoái hóa; tĩnh mạch trung tâm không xung huyết, không khác biệt so với lô chứng (ảnh 6). Cấu trúc vùng vỏ, vùng tủy cầu thận bình thường, không thấy hình ảnh tổn thương; so sánh với lô chứng thấy không khác biệt (ảnh 9).

4. BÀN LUẬN.

Trong bài thuốc XGTQ, các vị Hoàng kỳ, Đẳng sâm, Bạch truật có tác dụng bổ khí kiện tì, nâng cao chính khí. Đương quy có tác dụng dưỡng huyết hòa trung. Sài hồ, Uất kim, Ngũ vị tử, Trần bì kết hợp với nhau vừa có tác dụng sơ can giải uất, lại có tác dụng thanh nhiệt thoái hoàng, hành khí hóa ứ. Trạch tả, Bạch linh có tác dụng lợi thủy thẩm thấp. Ngũ vị tử có tác làm yên ngũ tạng giúp nâng đỡ cơ thể, làm hết mệt nhọc, có tác dụng làm hạ men gan. Mẫu lệ có tác dụng bình can tiềm dương, điều trị chứng hư phong nội động do chân âm hư tổn gây ra các triệu chứng mặt đỏ, đau đầu, tăng huyết áp. Mẫu lệ có tác dụng nhuyễn kiên tán kết, dùng phối hợp với Sài hồ điều trị gan to, lách to [4].

- Tác động đến chức năng gan chuột:

+ Gan là cơ quan chuyển hóa và tổng hợp trong cơ thể. ALT có nhiều trong bào tương tế bào nhu mô gan, AST chủ yếu có trong ty thể, một phần ít trong bào tương tế bào. Khi tế bào gan tổn thương, hai enzym này sẽ giải phóng vào huyết thanh. Bảng 1 cho thấy, chuột uống XGTQ làm hoạt độ ALT, AST giảm thấp hơn so với trước thí nghiệm, có thể do tác dụng bảo vệ tế bào gan của bài thuốc.

+ Tế bào gan bài tiết mật để tham gia vào quá trình tiêu hóa thức ăn. Các acid amin được gan tổng hợp thành albumin. Cholesterol là một thành phần của mật, được gan tổng hợp ester hóa và thải ra ngoài. Bảng 2 và bảng 3 cho thấy, thời điểm D_{90} nồng độ albumin và cholesterol trong máu chuột ở cả lô trị 1 và lô trị 2 khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng. So sánh thời điểm trước và sau khi uống thuốc trong môi lô cũng không có sự khác biệt (p > 0,05). Điều này chứng tỏ với các mức liều nghiên cứu, XGTQ không gây ảnh hưởng lên các chức năng tổng hợp albumin, cholesterol của gan chuột.

- Tác động đến chức năng thận chuột:

+ Thận là cơ quan bài tiết của cơ thể. Creatinin là thành phần đạm trong máu, hầu như không phụ thuộc vào chế độ ăn hoặc những thay đổi sinh lý, mà chỉ phụ thuộc vào khả năng đào thải của thận.

Khi thận tổn thương, nồng độ creatinin sẽ tăng sớm và đáng tin cậy hơn ure. Bảng 4 cho thấy, thời điểm D_{90} ở cả lô trị 1 và lô trị 2, nồng độ creatinin trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng hoặc so sánh giữa 2 thời điểm trước và sau uống thuốc (p > 0,05). Như vậy, dịch chiết XGTQ không làm ảnh hưởng đến chức năng thận chuột [7], [8].

- Tác động lên cấu trúc đại thể và vi thể gan, thận, lách chuột (ở thời điểm D_{90}):

+ Hình ảnh đại thể: trên tất cả các lô chuột thực nghiệm, không quan sát thấy sự thay đổi nào về mặt đại thể của các cơ quan gan, lách, thận.

+ Hình ảnh vi thể: kiểm tra ngẫu nhiên cấu trúc vi thể gan, lách, thận của 30% số chuột ở mỗi lô ngày D_{90}, thấy hình ảnh vi thể tế bào gan chuột ở lô chứng, lô trị 1 và lô trị 2 tương tự nhau và không có tổn thương. Cấu trúc vi thể thận và lách chuột ở lô chứng, lô trị 1 và lô trị 2 cũng tương tự nhau và không có tổn thương. Như vậy, hình ảnh cấu trúc vi thể gan, thận và lách các lô không có tổn thương và không khác biệt [7], [8].

5. KẾT LUẬN.

Dịch chiết bài thuốc XGTQ không ảnh hưởng đến một số chỉ số đánh giá chức năng gan, thận và mô bệnh học gan, thận, lách ở chuột thực nghiệm khi uống dài ngày (90 ngày) với liều 19,6 g/kg và 58,8 g/kg.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Kim W.R, Brown R.S, Terrault N.A et al (2002), "Burden of liver disease in the United States: summary of a workhop", *Hepatology*, 36 (1), pp. 227-242.

2. Nguyễn Quốc Anh, Ngô Quý Châu (2012), *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh nội khoa,* Nhà xuất bản Y học.

3. Trần Quốc Bảo (2012), *Bệnh học Y học cổ truyền dùng cho sau đại học,* Nhà xuất bản Quân đội nhân dân.

4. Bộ Y tế (2010), *Dược điển Việt Nam IV*, Nhà xuất bản Y học.

5. Bộ Y tế (2007), "Quy định thử thuốc trên lâm sàng", *Quyết định số 01/2007/QĐ-BYT.*

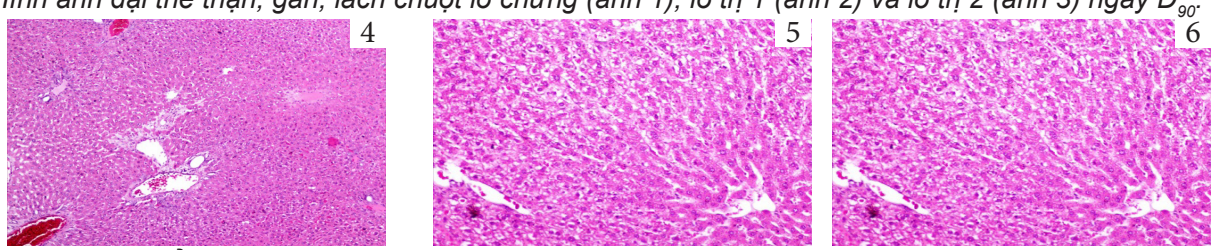
6. Đỗ Trung Đàm (1996), *Phương pháp xác định độc tính cấp*, Nhà xuất bản Y học.

7. Gerhard Vogel H (2002), *Drug discovery and evaluation Pharmacological assays*, Springer.

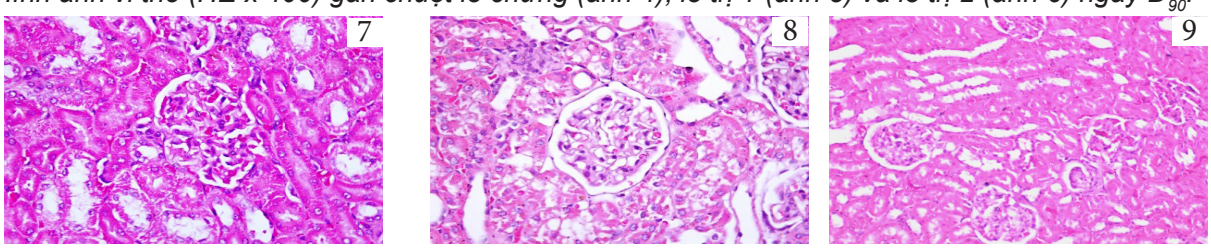
8. World Health Organization (2000), *Working group on the safety and efficacy of herbal medicine*, Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization. ❑



Hình ảnh đại thể thận, gan, lách chuột lô chứng (ảnh 1), lô trị 1 (ảnh 2) và lô trị 2 (ảnh 3) ngày D_{90}.



Hình ảnh vi thể (HE x 400) gan chuột lô chứng (ảnh 4), lô trị 1 (ảnh 5) và lô trị 2 (ảnh 6) ngày D_{90}.



Hình ảnh vi thể (HE x 400) thận chuột lô chứng (ảnh 7), lô trị 1 (ảnh 8) và lô trị 2 (ảnh 9) ngày D_{90}.