

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA CAO VỊ QUẢN KHANG ĐỐI VỚI CHỨC NĂNG GAN, THẬN TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM VÀ TÁC DỤNG KHÁNG KHUẨN HELICOBACTER PYLORI TRÊN IN VITRO

**VŨ MINH HOÀN, NGUYỄN NHƯỘC KIM,
ĐẶNG KIM OANH, BÙI VĂN KHÔI**

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu ảnh hưởng của cao VQK đối với chức năng gan thận trên thỏ thực nghiệm và tác dụng kháng khuẩn *Helicobacter pylori* trên in vitro.

Phương pháp: cho thỏ uống thuốc thử với liều 5,4 g/kg/ngày và 27g/kg/ngày trong thời gian 30 ngày liên tục, nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc đến chức năng gan và thận thỏ. Đánh giá tác dụng kháng khuẩn *Helicobacter pylori* trên in vitro theo phương pháp pha loãng trong môi trường lỏng(MIC).

Kết quả: Vị quản kang với liều 5,4 g/kg/ngày và 27g/kg/ngày không ảnh hưởng đến chức năng gan và thận thỏ trên thực nghiệm.VQK có khả năng ức chế vi

khuẩn H.pylori hoàn toàn và nồng độ ức chế tối thiểu của thuốc(MIC) là 1/32.

Kết luận: VQK không ảnh hưởng đến chức năng gan và thận thỏ thực nghiệm. VQK có tác dụng kháng khuẩn với Vi khuẩn *H.pylori* và nồng độ ức chế tối thiểu(MIC) là 1/32.

Từ khóa: Vị quản kang, Kháng khuẩn *H pylori*

SUMMARY

Objective: To evaluate on the sub- longterm toxicity of VQK on experimental rabbits and research on effect against *Helicobacter Pylori* of *Vì Quan Khang* in vitro.

Methods: “ *Vì quản kang*” extract was

administered by oral route to rabbits at doses of 1,8 ml and 5,4 ml/kg body weight/day for 30 consecutive days. Study on the sub-longterm toxicity through it influence to the common, weight, the functions of the liver and renal in rabbits. The in vitro susceptibilities of *H. pylori* were determined by an agar dilution technique(MIC).

Results: VQK at doses 1.8 ml and 5,4 ml /kg body weight/day had not influenced the common, weight, liver an renal function on experimental rabbits. The in vitro susceptibilities of *H. pylori* were determined by an agar dilution technique. The MIC values of Vi Quan Khang against *H. pylori* is 1/32.

Conclusion: VQK had not sub-longterm toxicity on experimental rabbits. The MIC values of Vi Quan Khang against *H. pylori* is 1/32.

Keywords: Vi khuẩn kháng, *Helicobacter Pylori*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm dạ dày mạn tính là một bệnh lý thường gặp của đường tiêu hoá. Nguyên nhân do vi khuẩn *Helicobacter pylori* chiếm đến 70%, vì vậy trong điều trị vấn đề tiết trừ vi khuẩn *H. pylori* là liệu pháp quan trọng trong điều trị bệnh viêm loét dạ dày(1). Y học hiện đại có rất nhiều phác đồ kết hợp điều trị kháng sinh với thuốc kháng acid để điều trị viêm dạ dày. Tuy thuốc điều trị viêm loét dạ dày khá nhiều, đa dạng và có nhiều tiến bộ, nhưng việc nghiên cứu tìm ra các thuốc mới, đặc biệt là các hợp chất thiên nhiên, các vị thuốc hay bài thuốc y học cổ truyền khắc phục các tác dụng phụ do thuốc là hoá chất tổng hợp vẫn được đặt ra. Tại bệnh viện Đa khoa Y học cổ truyền Hà Nội chúng tôi xây dựng bài thuốc Vi khuẩn kháng trên lâm sàng đã điều trị cho bệnh nhân viêm dạ dày mạn tính có hiệu quả rất tốt, nhưng chưa có sự đánh giá một cách khách quan vì vậy mục tiêu nghiên cứu của chúng tôi là:

- Nghiên cứu ảnh hưởng của cao Vi Quân Khang đối với chức năng gan và thận thỏ trên thực nghiệm
- Đánh giá khả năng kháng khuẩn *Helicobacter pylori* của thuốc VQK trên in vitro.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Thuốc Vi khuẩn kháng(VQK) gồm các vị: Ngô thù, Hoàng liên, Bán hạ, Trần bì, Bạch linh, Cam thảo, Nga truyệt, Huyền hồ, Ô tặc cốt. Thuốc được chế biến dưới dạng cao lỏng tỷ lệ 1:1.

2. Phương tiện nghiên cứu.

-Thỏ *Orytolagus cuniculus*, khỏe mạnh, cả 2 giống, trọng lượng 1,8-2,5 kg do trung Đê - thỏ Sơn Tây (Viện chăn nuôi) cung cấp và được tiến hành nghiên cứu tại Bộ môn Dược lý Trường đại học Y Hà Nội.

-Vi khuẩn thử nghiệm

Vi khuẩn *H.PYLORI* chủng CCUG 17874 được phân lập và nuôi cấy tại khoa Vi sinh, Bệnh viện 103.

- Hoá chất: Kit định lượng các enzym và chất chuyển hoá trong máu: ALT (alanin aminotransferase), AST (aspartat aminotransferase), bilirubin toàn phần, albumin, cholesterol và creatinin của hãng Hospitex Diagnostics (Italy) và hãng DIALAB GmbH (áo), định lượng trên máy Screen master của hãng Hospitex Diagnostics (Italy).

3. Phương pháp nghiên cứu

3.1. Phương pháp nghiên cứu độc tính bán trường diễn.

Thí nghiệm trên thỏ. Chia thỏ thành 3 lô, mỗi con một riêng một chuồng.

Lô chứng (n=10): uống dung dịch nước cất.

Lô thử 1(n=10): uống cao lỏng Vi quân kháng liều 5,4g được liều/kg thể trọng.

Lô thử 2(n=10): uống cao lỏng Vi quân kháng liều 27g được liều/kg thể trọng.

Thỏ ở 3 lô được uống dung dịch nước cất hoặc cao lỏng Vi quân kháng hàng ngày vào 8 giờ sáng, liên tục trong 30 ngày với thể tích 1,8 ml/kg thỏ. Theo dõi tình trạng chung, trọng lượng cơ thể thỏ trước uống thuốc, sau 15 ngày và sau 30 ngày uống thuốc. Đánh giá chức phận tạo máu, chức năng gan, thận thỏ ở các thời điểm: trước uống thuốc, sau 15 ngày, sau 30 ngày uống thuốc và sau 15 ngày dừng thuốc.

3.2. Phương pháp nuôi cấy và thử nghiệm tác dụng kháng khuẩn

* Nuôi cấy: Vi khuẩn *H.PYLORI* chủng CCUG 17874 được cấy vào các hộp thạch chứa môi trường thạch máu. Các hộp thạch 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 khóm nhỏ, đường kính 1-2 mm, màu xám trong suốt. Thử các phản ứng để định danh vi khuẩn: urease, catalase, oxidase. Chọn khuẩn lạc mọc tốt, nhiều, đem hoạt hoá trong môi trường lỏng để làm thử nghiệm.

* Thử nghiệm tác dụng kháng khuẩn được tiến hành theo phương pháp pha loãng trong môi trường lỏng(MIC)

Bước 1: Thuốc nghiên cứu 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 *H.Pylori* chủng CCUG 17874 được pha loãng trong nước muối sinh lý thành hỗn dịch 108, 107, 106, 105, 104, 103, 102 vi khuẩn/ml.

Bước 3: Trộn hỗn dịch vi khuẩn 108 Vc/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. Tất cả các đĩa thạch được đặt trong bình jar (Merck, Germany) có túi tạo vi hiếu khí Anaerocult C (Meck, Germany), ủ 37°C, sau 48 giờ lấy ra đọc kết quả.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của cao Vi Quân Khang đối với chức năng gan và thận thỏ trên thực nghiệm

1.1 Đánh giá chức năng gan:

Bảng 1. ảnh hưởng của Vi quân kháng đến hoạt độ ALT trong máu thỏ

Thời gian	Hoạt độ ALT (U/l)			P(t-test Student)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	40.06 ± 9.84	37.89 ± 12.02	42.69 ± 4.31	> 0,05

Sau 2 tuần uống thuốc	45.56 ± 6.39	41.89 ± 8.58	42.12 ± 9.19	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	49.28 ± 14.90	44.68 ± 8.23	49.00 ± 9.18	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 2 tuần ngừng thuốc	46.83 ± 8.15	49.90 ± 8.93	56.87 ± 17.24	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Bảng 2. Ảnh hưởng của Vị quản kháng đến hoạt độ AST trong máu thỏ

Thời gian	Hoạt độ AST (UI/l)			P(t- test Student)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	38.25 ± 10.63	37.30 ± 6.32	34.97 ± 7.33	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	46.72 ± 9.86	40.70 ± 8.56	41.15 ± 9.47	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	42.21 ± 10.57	35.08 ± 6.88	40.42 ± 9.94	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 2 tuần ngừng thuốc	37.84 ± 11.84	42.70 ± 16.40	49.97 ± 11.31	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Bảng 3. Ảnh hưởng của Vị quản kháng đến nồng độ bilirubin toàn phần trong máu thỏ

Thời gian	Bilirubin toàn phần(mmol/l)			p(t- test Student)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	12.15 ± 0.22	12.04 ± 0.15	12.18 ± 0.24	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	12.25 ± 0.44	12.15 ± 0.33	12.22 ± 0.29	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	12.14 ± 0.30	12.25 ± 0.34	12.21 ± 0.21	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 2 tuần ngừng thuốc	12.21 ± 0.28	12.03 ± 0.28	12.20 ± 0.41	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Bảng 4. Ảnh hưởng của Vị quản kháng đến nồng độ albumin trong máu thỏ

Thời gian	Albumin (g/dl)			p (t- test Student)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	5.64 ± 0.20	5.82 ± 0.21	5.82 ± 0.23	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	5.78 ± 0.33	5.83 ± 0.21	5.81 ± 0.23	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	5.86 ± 0.31	6.08 ± 0.36	5.93 ± 0.34	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 2 tuần ngừng thuốc	5.90 ± 0.36	5.97 ± 0.14	5.98 ± 0.19	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Bảng 5. Ảnh hưởng của Vị quản kháng đến nồng độ cholesterol trong máu thỏ

Thời gian	Cholesterol (mmol/l)			p (t- test Student)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	2.20 ± 0.17	2.04 ± 0.19	2.17 ± 0.24	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	2.01 ± 0.21	1.95 ± 0.13	2.10 ± 0.44	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	2.05 ± 0.31	2.02 ± 0.23	2.06 ± 0.44	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 2 tuần ngừng thuốc	2.40 ± 0.62	2.27 ± 0.58	2.13 ± 0.45	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở các bảng 1, 2, 3, 4 và 5 cho thấy: sau 2 tuần và 4 tuần uống cao Vị quản kháng, cũng như sau ngừng thuốc 2 tuần, các xét nghiệm đánh giá chức năng gan (hoạt độ AST, ALT, nồng độ bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol trong máu thỏ ở cả lô trị 1 (uống cao Vị quản kháng tỷ lệ 4:1, liều 1,35 ml tương đương 5,4 g Dược liệu /kg/ngày) và lô trị 2 (uống cao Vị quản kháng tỷ lệ 4:1, liều 6,75ml tương đương 27 g Dược liệu /kg/ngày) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử (p > 0,05).

1.2. Đánh giá chức năng thận:

Bảng 6. Ảnh hưởng của Vị quản kháng đến nồng độ creatinin trong máu thỏ

Thời gian	Creatinin (mg/dl)			P (t- test Student)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	1.05 ± 0.05	1.04 ± 0.05	1.06 ± 0.05	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	1.05 ± 0.05	1.04 ± 0.05	1.11 ± 0.18	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	1.06 ± 0.07	1.07 ± 0.07	1.06 ± 0.05	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 2 tuần ngừng thuốc	1.04 ± 0.05	1.04 ± 0.05	1.05 ± 0.05	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở bảng 6 cho thấy: sau 2 tuần và 4 tuần uống cao Vị quản kháng, cũng như sau 2 tuần ngừng uống thuốc, ở cả lô trị 1 (uống cao Vị quản kháng tỷ lệ 4:1, liều 1,35 ml tương đương 5,4 g Dược liệu /kg/ngày) và lô trị 2 (uống cao Vị quản kháng tỷ lệ 4:1, liều 6,75ml tương đương 27 g Dược liệu /kg/ngày), nồng độ creatinin trong máu thỏ không có sự thay đổi khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử (p > 0,05).

2. Kết quả nghiên cứu khả năng kháng khuẩn với *H.pylori*

Các đĩa thạch có thuốc Vị quản kháng trộn với vi khuẩn *H.pylori* được so sánh với các đĩa thạch cấy vi khuẩn *H.Pylori* nồng độ chuẩn. Kết quả như sau:

Bảng 7: Mức độ giảm nồng độ vi khuẩn H.Pylori

Độ loãng	Mức độ giảm nồng độ vi khuẩn (so với nồng độ chuẩn)		
	Sau 2 giờ tiếp xúc	Sau 6 giờ tiếp xúc	Sau 24 giờ tiếp xúc
1/4	-	-	-
1/8	-	-	-
1/16	-	-	-
1/32	104	-	-
1/64	106	-	-
1/128	107	-	-

Ghi chú: Nồng độ vi khuẩn ban đầu cho tất cả các mẫu thuốc là 108/ VK/ml

(-) Vi khuẩn bị ức chế hoàn toàn.

BÀN LUẬN

Trong cơ thể, gan là cơ quan đảm nhận nhiều chức năng quan trọng. Nhiều thuốc vào cơ thể được chuyển hóa qua gan nên có thể gây độc với gan, làm ảnh hưởng đến chức năng gan, Vì vậy nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc đối với chức năng gan là cần thiết. Để đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan thường định lượng hoạt độ các enzyme có nguồn gốc gan trong huyết thanh như ALT và AST. Khi kết quả nghiên cứu ảnh hưởng đến chức năng gan (bảng 5 & 6), chức năng thận (bảng 7)

Kết quả nghiên cứu ở cả lô thử và lô chứng sau 15 ngày và 30 ngày dùng thuốc liên tục hoạt độ của các enzyme ALT và AST không tăng so với trước uống thuốc, cho thấy cao Vị Quân Khang liều 5,4g/kg và 27g/kg không gây tổn thương tế bào gan. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu mô bệnh học về cấu trúc vi thể gan.

Để đánh giá ảnh hưởng của thuốc đối với chức năng thận thường thông qua định lượng creatinin huyết

thanh vì creatinin là thành phần đạm trong máu ổn định nhất, 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. Kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ creatinin trong huyết thanh thử sau 15 ngày và 30 ngày dùng thuốc không có sự thay đổi so với trước dùng thuốc, chứng tỏ cao Vị Quân Khang liều 5,4g/kg và 27g/kg không gây tổn thương chức năng lọc của cầu thận. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu mô bệnh học về cấu trúc vi thể thận.

KẾT LUẬN

Vị quân khang không có độc tính bán trường diễn trên thử nghiệm. VQK có tác dụng kháng khuẩn với Vi khuẩn *H.pylori* và nồng độ ức chế tối thiểu(MIC) là 1/32.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Hoà Bình và cs (1995), Góp phần nghiên cứu vấn đề nhiễm Helicobacter Pylori trong bệnh lý VDDMT, *Nội khoa 2*, tr.40-43
2. Lục Thị Vân Bích và cs (1997), Y học TP.HCM, Số đặc biệt Hội nghị KH Trường éHYD TP.HCM.
3. Nguyễn Ngọc Chúc (2003), Nghiên cứu tỷ lệ viêm dạ dày, viêm hành tá tràng mạn tính, nhiễm HP ở bệnh nhân loét tá tràng và mối liên quan của chúng, *Luận án tiến sỹ y học*, Đại học Y Hà Nội.
4. Nguyễn Văn Toại (2003), Nghiên cứu tác dụng diệt HP bằng hoạt chất toàn phần của lá Trầu không trên thực nghiệm và trong VDDMT, *Luận án tiến sỹ Y học*, Đại học y Hà Nội.
- 5.. McNulty C. A. M., Dent J. C., Ford G. A., Wilkinson S. P (1988), *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 22, 729-738,
6. Tomoyoki Iwahi et al(1991).., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 35(3), 490-496.