

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y - DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



HOÀNG TRỌNG QUÂN

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH BÁN TRƯỜNG DIỄN
VÀ TÁC DỤNG ĐIỀU TRỊ TRÀO NGƯỢC DẠ DÀY THỰC
QUẢN CỦA BỘT CÓM “KIỆN TỶ CHỈ THỐNG - HV”
TRÊN THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2023

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y - DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



HOÀNG TRỌNG QUÂN

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH BÁN TRƯỜNG DIỄN
VÀ TÁC DỤNG ĐIỀU TRỊ TRÀO NGƯỢC DẠ DÀY THỰC
QUẢN CỦA BỘT CÓM “KIẾN TỖ CHỈ THỐNG - HV”
TRÊN THỰC NGHIỆM**

Chuyên ngành : Y học cổ truyền

Mã số : 8720115

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

Hướng dẫn khoa học 1: PGS.TS. Phạm Quốc Bình

Hướng dẫn khoa học 2: PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh

HÀ NỘI - 2023

LỜI CẢM ƠN

Trong suốt thời gian học tập và nghiên cứu tại Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam, tôi đã nhận được nhiều sự giúp đỡ tạo điều kiện của các tập thể, cá nhân, gia đình, và bạn bè. Tôi xin bày tỏ lời cảm ơn sâu sắc tới:

Đảng ủy, Ban Giám đốc, phòng Đào tạo Sau đại học Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam. Trung tâm Dược lý lâm sàng, Bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội đã quan tâm, tạo điều kiện tốt nhất cho tôi học tập và nghiên cứu để hoàn thành luận văn này.

Với tất cả lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc, tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành tới **PGS.TS Phạm Quốc Bình** - người thầy đã trực tiếp dạy dỗ, giúp đỡ, chỉ bảo tôi những kinh nghiệm quý báu, luôn tạo mọi điều kiện tốt nhất cho tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và thực hiện đề tài. Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới **PGS.TS Phạm Thị Vân Anh**, người thầy đã tận tình hướng dẫn, chỉ bảo tôi trong quá trình thực hiện đề tài nghiên cứu thực nghiệm. Lời cảm ơn đặc biệt, tôi xin gửi tới **TS.BS.CKII Phạm Thủy Phương**, người thầy đã luôn đồng hành cùng tôi từ những bước đi đầu trong quá trình nghiên cứu cho đến những kinh nghiệm thực tiễn xuyên suốt quá trình thực hiện luận văn này.

Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành tới **PGS.TS Đoàn Quang Huy** - Phó Giám đốc Học viện, chủ nhiệm Bộ môn Nội cùng tập thể thầy cô Bộ môn Nội - Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam, tập thể Khoa Lão - Bệnh viện Tuệ Tĩnh đã tạo điều kiện cho tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và thực hiện đề tài.

Tôi xin gửi lời cảm ơn tới **PGS.TS Nguyễn Duy Thuận** cùng các quý Thầy, Cô - những nhà khoa học trong Hội đồng chấm luận văn đã đóng góp cho tôi nhiều ý kiến quý báu và khoa học để tôi hoàn thiện được luận văn một cách hoàn chỉnh nhất.

Cuối cùng, tôi xin được gửi lời cảm ơn sâu sắc đến gia đình và những người bạn luôn là nguồn động viên, chia sẻ, cổ vũ tôi trong suốt thời gian học tập, nghiên cứu, và hoàn thiện Luận văn Thạc sĩ Y học này.

Trân trọng cảm ơn!

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Hoàng Trọng Quân, Học viên lớp Cao học khóa 13 chuyên ngành Y học cổ truyền tại Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam, xin cam đoan:

1. Đây là luận văn do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn khoa học của các thầy cô PGS.TS. Phạm Quốc Bình, PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh.
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 2023

Người viết cam đoan

Hoàng Trọng Quân

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

AST	: Aspartate aminotransferase
ALT	: Alanine aminotransferase
BSS	: IBS Severity Score (<i>Thang điểm mức độ nghiêm trọng các triệu chứng Hội chứng ruột kích thích</i>)
D ₀	: Trước ngày nghiên cứu
D ₁₅	: Sau 15 ngày nghiên cứu
D ₃₀	: Sau 30 ngày nghiên cứu
GERD	: Gastro Esophageal Reflux Disease (<i>Trào ngược dạ dày thực quản</i>)
GERD-Q	: Gastro Esophageal Reflux Disease Questions (<i>Bộ câu hỏi đánh giá tình trạng trào ngược dạ dày thực quản</i>)
Hb	: Hemoglobin (<i>Huyết sắc tố</i>)
Hct	: Hematocrit (<i>Thể tích khối hồng cầu</i>)
HP	: Vi khuẩn <i>Helicobacter pylori</i>
KTHV	: Kiện tỳ chỉ thống - HV
MCV	: Mean Corpuscular Volume (<i>Thể tích trung bình hồng cầu</i>)
NERD	: Non erosive reflux disease (<i>GERD không viêm trợt, không Barrett</i>)
NEUT	: Neutrophil (<i>Bạch cầu đa nhân trung tính</i>)
PPI	: Proton Pump Inhibitor (<i>Thuốc ức chế bơm proton H⁺</i>)
PLT	: Platelet (<i>Tiểu cầu</i>)
RBC	: Red Blood Cells (<i>Hồng cầu</i>)
WBC	: White Blood Cells (<i>Bạch cầu</i>)
YHCT	: Y học cổ truyền
YHHĐ	: Y học hiện đại

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. BỆNH TRÀO NGƯỢC DẠ DÀY THỰC QUẢN THEO Y HỌC HIỆN ĐẠI.....	3
1.1.1. Giải phẫu - Sinh lý thực quản.....	3
1.1.2. Định nghĩa bệnh trào ngược dạ dày thực quản.....	6
1.1.3. Chẩn đoán bệnh trào ngược dạ dày thực quản.....	6
1.1.4. Các phương pháp điều trị GERD hiện nay.....	13
1.1.5. Các mô hình gây trào ngược dạ dày thực quản trên thực nghiệm.....	18
1.2. BỆNH TRÀO NGƯỢC DẠ DÀY THỰC QUẢN THEO Y HỌC CỔ TRUYỀN.....	20
1.2.1. Nguyên nhân gây bệnh và cơ chế bệnh sinh.....	21
1.2.2. Các thể lâm sàng.....	23
1.3. CÁC NGHIÊN CỨU VỀ GERD TRÊN THẾ GIỚI VÀ TẠI VIỆT NAM.....	26
1.3.1. Trên thế giới.....	26
1.3.2. Tại Việt Nam.....	27
1.3.3. Các nghiên cứu điều trị GERD bằng Y học cổ truyền hiện nay.....	27
1.4. TỔNG QUAN BÀI THUỐC NGHIÊN CỨU.....	28
1.4.1. Nguồn gốc bài thuốc.....	29
1.4.2. Các vị thuốc.....	29
1.4.3. Nghiên cứu về bài thuốc.....	33
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	35
2.1. CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU.....	35
2.1.1. Chất liệu nghiên cứu.....	35
2.1.2. Đối tượng nghiên cứu.....	36

2.2. DỤNG CỤ, PHƯƠNG TIỆN, TRANG THIẾT BỊ NGHIÊN CỨU..	36
2.2.1. Thuốc, hóa chất.....	37
2.2.2. Dụng cụ, trang thiết bị.....	37
2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	37
2.3.1. Thiết kế nghiên cứu.....	37
2.3.2. Cỡ mẫu.....	37
2.3.3. Quy trình nghiên cứu.....	37
2.3.4. Các chỉ số theo dõi, đánh giá trong nghiên cứu.....	39
2.4. ĐỊA ĐIỂM, THỜI GIAN NGHIÊN CỨU.....	41
2.5. XỬ LÝ VÀ PHÂN TÍCH SỐ LIỆU.....	41
2.6. SAI SỐ VÀ CÁCH KHỐNG CHẾ SAI SỐ.....	42
2.7. ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU.....	42
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....	43
3.1. NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA BỘT CÓM “KIỆN TỶ CHỈ THỐNG - HV” THEO ĐƯỜNG UỐNG TRÊN CHUỘT CÔNG TRẮNG.....	43
3.1.1. Tình trạng chung.....	43
3.1.2. Sự thay đổi thể trọng chuột.....	43
3.1.3. Đánh giá chức năng tạo máu.....	44
3.1.4. Đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan.....	48
3.1.5. Đánh giá chức năng gan.....	49
3.1.6. Đánh giá chức năng thận.....	51
3.1.7. Hình ảnh đại thể và vi thể cơ quan sau 4 tuần nghiên cứu.....	51
3.2. NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CHỐNG TRÀO NGƯỢC CỦA “KIỆN TỶ CHỈ THỐNG - HV” TRÊN MÔ HÌNH GÂY TRÀO NGƯỢC DẠ DÀY	

THỰC QUẢN TRÊN THỰC NGHIỆM.....	58
3.2.1. Tác dụng của KTHV trên chức năng bài tiết dịch vị của dạ dày.....	58
3.2.2. Đánh giá tác dụng của KTHV đến tổn thương loét ở thực quản.....	60
3.2.3. Hình ảnh đại thể và vi thể dạ dày - thực quản.....	61
CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN.....	70
4.1. ĐỘC TÍNH BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA CÓM “KIỆN TỖ CHỈ THỐNG - HV” THEO ĐƯỜNG UỐNG TRÊN CHUỘT CÔNG TRẮNG.....	70
4.1.1. Ảnh hưởng của bột côm “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng của chuột.....	71
4.1.2. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” trên cơ quan tạo máu.....	72
4.1.3. Ảnh hưởng của bột côm “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến mức độ tổn thương tế bào gan, chức năng gan và mô bệnh học của gan.....	73
4.1.4. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến chức năng thận và mô bệnh học thận.....	75
4.2. TÁC DỤNG CHỐNG TRÀO NGƯỢC CỦA “KIỆN TỖ CHỈ THỐNG - HV” TRÊN MÔ HÌNH GÂY TRÀO NGƯỢC DẠ DÀY THỰC QUẢN.....	76
KẾT LUẬN.....	84
KIẾN NGHỊ.....	86
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CÁC BẢNG, BIỂU

Bảng 1.1. Hệ thống phân loại kết hợp đối với GERD.....	11
Bảng 1.2. Bảng đánh giá khả năng mắc bệnh trào ngược dạ dày.....	11
Bảng 1.3. Bảng kết quả áp dụng trên Thế giới.....	12
Bảng 1.4. Bảng kết quả áp dụng trên người Việt Nam.....	12
Bảng 2.1. Công thức bài thuốc “Kiện tỳ chỉ thống - HV”.....	35
Bảng 3.1. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến thể trọng chuột.....	43
Bảng 3.2. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến số lượng hồng cầu trong máu chuột cống trắng.....	44
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột.....	45
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến hematocrit trong máu chuột.....	45
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột.....	46
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến số lượng bạch cầu trong máu chuột.....	46
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến công thức bạch cầu trong máu chuột.....	47
Bảng 3.8. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến số lượng tiểu cầu trong máu chuột.....	48
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến hoạt độ AST (GOT) trong máu chuột.....	48
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến hoạt độ ALT (GPT) trong máu chuột.....	49

Bảng 3.11. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến nồng độ bilirubin toàn phần trong máu chuột.....	49
Bảng 3.12. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến nồng độ albumin trong máu chuột.....	50
Bảng 3.13. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến nồng độ cholesterol toàn phần trong máu chuột.....	50
Bảng 3.14. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến nồng độ creatinin trong máu chuột.....	51
Bảng 3.15. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến thể tích dịch vị.....	58
Bảng 3.16. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến pH, độ acid tự do, độ acid toàn phần.....	59
Bảng 3.17. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến tổn thương loét thực quản.....	60

DANH MỤC CÁC SƠ ĐỒ, HÌNH VẼ

Hình 1.1. Giải phẫu thực quản.....	4
Hình 1.2. Chỉ thắt nối giữa dạ dày và thân vị.....	19
Hình 1.3. Phẫu thuật cắt bỏ cơ thắt thực quản và chỗ nối thực quản dạ dày...	19
Hình 1.4. Phẫu thuật nối tá tràng với thực quản.....	20
Hình 2.1. Chuột cống trắng chủng Wistar.....	36
Hình 2.2. Mô hình nghiên cứu GERD trên chuột cống trắng.....	39
Hình 3.1: Hình thái vi thể gan chuột lô chứng (chuột #03).....	52
Hình 3.2: Hình thái vi thể gan chuột lô chứng (chuột #05).....	52
Hình 3.3: Hình thái vi thể gan chuột lô chứng (chuột #06).....	52
Hình 3.4: Hình thái vi thể gan chuột lô trị 1 (chuột #11).....	53
Hình 3.5: Hình thái vi thể gan chuột lô trị 1 (chuột #16).....	53
Hình 3.6: Hình thái vi thể gan chuột lô trị 1 (chuột #20).....	53
Hình 3.7: Hình thái vi thể gan chuột lô trị 2 (chuột #25).....	54
Hình 3.8: Hình thái vi thể gan chuột lô trị 2 (chuột #26).....	54
Hình 3.9: Hình thái vi thể gan chuột lô trị 2 (chuột #28).....	54
Hình 3.10: Hình thái vi thể thận chuột lô chứng (chuột #03).....	55
Hình 3.11: Hình thái vi thể thận chuột lô chứng (chuột #05).....	55
Hình 3.12: Hình thái vi thể thận chuột lô chứng (chuột #06).....	55
Hình 3.13: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 1 (chuột #11).....	56
Hình 3.14: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 1 (chuột #16).....	56
Hình 3.15: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 1 (chuột # 20).....	56
Hình 3.16: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 2 (chuột #25).....	57
Hình 3.17: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 2 (chuột #26).....	57

Hình 3.18: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 2 (chuột #28).....	57
Hình 3.19: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô chứng (chuột #02)...	61
Hình 3.20: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô chứng (chuột #09)...	62
Hình 3.21. Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô chứng (chuột # 10)..	62
Hình 3.22: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô mô hình (chuột #14).....	63
Hình 3.23: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô mô hình (chuột #19).....	64
Hình 3.24: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô mô hình (chuột #20).....	64
Hình 3.25: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô chứng dương (chuột #23).....	64
Hình 3.26: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô chứng dương (chuột #25).....	65
Hình 3.27: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô chứng dương (chuột #30).....	66
Hình 3.28: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô KTHV 3,6 g/kg/ngày (chuột #36).....	66
Hình 3.29: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô KTHV 3,6 g/kg/ngày (chuột #37).....	67
Hình 3.30: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô KTHV 3,6 g/kg/ngày (chuột #40).....	67
Hình 3.31: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô KTHV 1,8 g/kg/ngày (chuột #41).....	68
Hình 3.32: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô KTHV 1,8 g/kg/ngày (chuột #45).....	68
Hình 3.33: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô KTHV 1,8 g/kg/ngày (chuột #46).....	69

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh trào ngược dạ dày thực quản (GERD - Gastro Esophageal Reflux Disease) xảy ra khi lượng dịch dạ dày tràn vào thực quản vượt quá giới hạn bình thường, gây ra các triệu chứng lâm sàng và gây tổn thương niêm mạc thực quản [1],[2],[3],[4].

Trong những năm gần đây, GERD là một trong những bệnh phổ biến trên thế giới. Ở Hoa Kỳ có khoảng 44% người trưởng thành bị trào ngược dạ dày thực quản [5]. Ở Việt Nam, theo nghiên cứu của tác giả Lê Văn Dũng thực hiện tại khoa thăm dò chức năng bệnh viện Bạch Mai năm 2001 cho thấy tỷ lệ viêm thực quản do trào ngược là 7,8% [6].

Các triệu chứng của trào ngược dạ dày thực quản có thể gặp là: Nóng rát phía sau xương ức, ợ chua, khó nuốt, nuốt đau, đau ngực, ợ nóng, miệng đắng, tăng tiết nhiều nước bọt, hay viêm họng [3],[7]. Nếu không được điều trị kịp thời và đúng cách, bệnh có thể gây biến chứng như loét, hẹp thực quản thậm chí ung thư thực quản. Để điều trị GERD có các nhóm thuốc trung hòa trực tiếp acid dạ dày, thuốc tác động lên sự bài tiết acid dạ dày nhưng nhược điểm của các loại thuốc này còn gây ra những bất tiện nhất định cho bệnh nhân như khô miệng, giảm tiết dịch trong cơ thể như nước mắt, dịch âm đạo, da khô, giảm ham muốn tình dục, nám dạ dày và tỷ lệ tái phát bệnh còn cao [8]. Nghiên cứu tìm ra thuốc mới điều trị an toàn, hiệu quả, kinh tế là vấn đề cấp thiết.

Mặc dù Y học hiện đại (YHHĐ) đã có những tiến bộ trong chẩn đoán và điều trị, tuy nhiên GERD vẫn là một vấn đề sức khỏe lớn bởi số lượng bệnh nhân nhiều, tính chất bệnh dễ tái phát, chi phí điều trị cao và có thể gây ra một số biến chứng nguy hiểm như: xuất huyết tiêu hóa, thủng, hẹp môn vị, ung thư... [9],[10]. Cần tìm ra phương pháp hoặc thuốc điều trị hỗ trợ mới để nâng cao hiệu quả điều trị, cũng như giảm các tác dụng không mong muốn.

Y học cổ truyền mô tả GERD trong chứng Vị quản thông với tình trạng rối loạn công năng của các tạng phủ Can, Tỳ, Vị. Nguyên nhân gây chứng Vị quản thông theo YHCT gồm 3 nhóm nguyên nhân chính bao gồm nội nhân, ngoại nhân và bất nội ngoại nhân [11],[12]. Đã có nhiều nghiên cứu chỉ ra tác dụng của thuốc YHCT (đơn vị, bài thuốc cổ phương, hoặc nghiệm phương) trong điều trị GERD trên thực nghiệm cũng như trên lâm sàng. Điều này chứng tỏ được giá trị của thuốc YHCT trong điều trị GERD. Bài thuốc “Kiện tỳ chỉ thống - HV” (KTHV) có nguồn gốc là bài thuốc nghiệm phương “Kiện tỳ hành khí chỉ tả thang” trích trong “Nam y nghiệm phương” của tác giả Nguyễn Đức Đoàn, được sử dụng trong điều trị GERD cho tác dụng cải thiện tốt các triệu chứng trên lâm sàng. Tuy nhiên chưa có nghiên cứu khoa học nào, đánh giá nào để khẳng định tác dụng của bài thuốc. Cũng như việc đánh giá độc tính, tác dụng điều trị của bài thuốc khi chuyển từ thuốc sắc nước sang dạng bột cốm nhằm hiện đại hóa YHCT. Để bước đầu khẳng định được tác dụng điều trị GERD của bài thuốc, chúng tôi tiến hành đề tài **“Nghiên cứu độc tính bán trường diễn và tác dụng điều trị trào ngược dạ dày thực quản của bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống - HV” trên thực nghiệm”** với 2 mục tiêu:

- 1. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống - HV” trên thực nghiệm.*
- 2. Nghiên cứu tác dụng của bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống - HV” trên mô hình trào ngược dạ dày thực quản trên thực nghiệm.*

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. BỆNH TRÀO NGƯỢC DẠ DÀY THỰC QUẢN THEO Y HỌC HIỆN ĐẠI

Bệnh trào ngược dạ dày thực quản (GERD) khá phổ biến ở các nước phương Tây với tần suất từ 15-30% dân số, ở các nước châu Á tần suất dao động từ 5-15%, bệnh có xu hướng ngày càng tăng, người ta cho rằng nguyên nhân đó là do biến đổi đời sống kinh tế - xã hội, thay đổi lối sống, chế độ ăn, tăng cân... Tỷ lệ mắc GERD ở các nước phát triển là từ 10 - 48%. Theo điều tra của tổ chức Gallup thấy rằng tại Mỹ có 44% người lớn mắc triệu chứng nóng rát sau xương ức một lần hàng tháng [13]. Trong 6 nghiên cứu ở Châu Âu với hai nghiên cứu ở Anh thấy rằng tại thành phố Bristol (nước Anh) trong số những người được phỏng vấn trong độ tuổi từ 17-91 thì có 10,3% bị nóng rát sau xương ức hàng tuần [14].

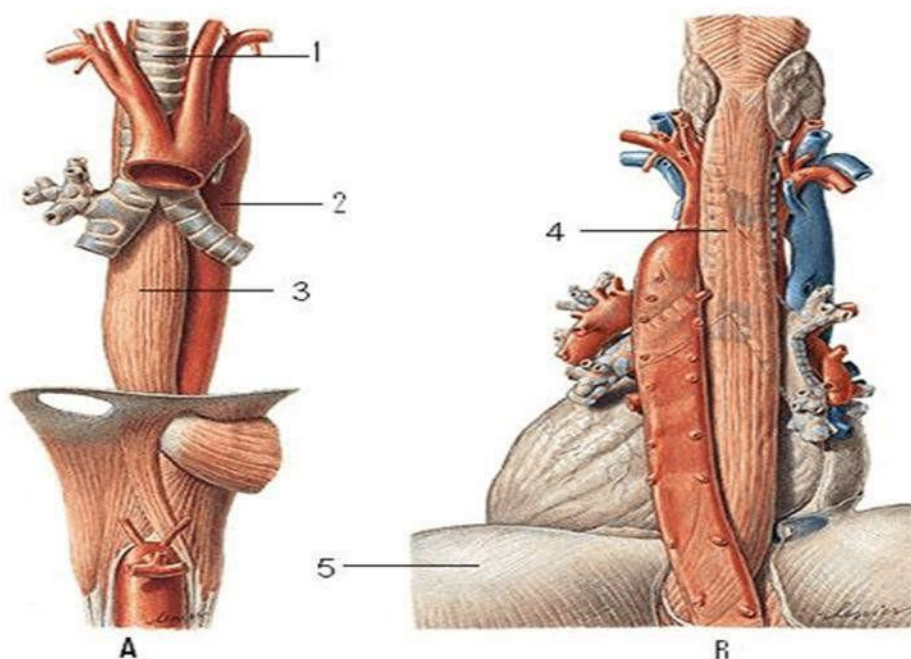
Ở Việt Nam hiện nay chưa có một nghiên cứu nào tại cộng đồng để điều tra, thống kê về tỷ lệ bệnh này trong dân số nhưng nó là bệnh thường gặp ở bệnh nhân có các triệu chứng dyspepsia với tần suất là 15,4% cao hơn tần suất của loét dạ dày (8,2%) và loét tá tràng (6,7%) [15]. Nhưng theo tác giả Lê Văn Dũng tiến hành tại khoa thăm dò chức năng Bệnh viện Bạch Mai năm 2001 thấy tỷ lệ viêm thực quản do trào ngược khoảng 7,8% [6]. Tuổi và giới: Bệnh hay gặp ở nam nhiều hơn nữ, lứa tuổi gặp nhiều nhất là 40- 49 tuổi [16]. Chế độ sinh hoạt: Hút thuốc lá, uống rượu, cà phê, dùng các thuốc chống viêm không steroid, các thuốc chẹn kênh canxi, ... có thể tạo nên cơ hội dễ nảy sinh GERD. Đặc biệt những người nghiện thuốc, ngoài hiện tượng giảm cơ thắt thực quản còn thấy tình trạng tăng áp lực trong khoang bụng tương ứng với lúc hít mạnh hoặc ho [17].

1.1.1. Giải phẫu - Sinh lý thực quản

Thực quản là ống dẫn thức ăn từ hầu đến dạ dày, hình trụ dẹp trước sau, dài khoảng 25cm, phía trên nối với hầu ngang mức đốt sống cổ 6, phía dưới

thông dạ dày ở tâm vị, ngang mức đốt sống ngực 10.

Về phương diện giải phẫu học, thực quản được chia làm 3 đoạn: đoạn cổ dài khoảng 3cm; đoạn ngực dài khoảng 20 cm và đoạn bụng dài khoảng 2 cm. Thực quản tương đối di động, dính với các tạng xung quanh bằng các cấu trúc lỏng lẻo. Ở cổ, thực quản nằm sau khí quản, đi xuống trung thất sau, nằm phía sau tim, trước động mạch chủ ngực; xuyên qua cơ hoành vào ổ bụng, nối với dạ dày.



Hình 1.1. Giải phẫu thực quản

1. Thanh quản 2. Động mạch chủ 3 4. Thực quản 5. Cơ hoành

Lòng thực quản có ba chỗ hẹp:

- Chỗ nối tiếp với hầu, ngang mức sụn nhẫn.
- Ngang mức cung động mạch chủ và phế quản góc trái.
- Lỗ tâm vị.

Hai chức năng chính của thực quản là vận chuyển thức ăn từ miệng đến dạ dày và ngăn dòng trào ngược của các chất chứa trong dạ dày ruột và thực quản. Chức năng vận chuyển được hoàn thành bởi các co bóp nhu động. Dòng trào ngược được ngăn lại bởi cơ thắt của thực quản, vẫn đóng giữa các lần nuốt.

Sự đóng mở tâm vị phụ thuộc vào cơ thắt thực quản trên, cơ thắt thực quản dưới, van Guabaroff và góc Hiss. Các yếu tố này chống lại sự trào ngược dịch dạ dày lên thực quản [18].

- Cơ thắt thực quản trên: Lúc nghỉ cơ thắt thực quản trên có một trương lực cơ cơ ổn định. Bằng cách đo áp lực người ta thấy vùng này có áp lực cao nhất. Bình thường áp lực ở đây cao hơn áp lực trong thực quản hay trong lồng ngực 40 - 100 mmHg. Chiều dài của vùng này từ 2- 4 cm, tương ứng từ cơ bám sụn họng tới cơ khí họng dưới. Khi bắt đầu nuốt, cơ thắt trên giãn ra hoàn toàn trong vòng 0,2 giây, thời gian áp lực giảm xuống bằng áp lực lồng ngực hoặc trong lòng thực quản khoảng 1 giây. Sự giảm áp lực khi nuốt cùng với sự co bóp của họng làm cho thức ăn dễ dàng đi qua. Cơ thắt thực quản trên còn có tác dụng đề phòng trào ngược thực quản họng bằng phản xạ co lại khi dạ dày căng hoặc khi truyền acid vào 1/3 trên thực quản [18].

- Nhu động thực quản: nuốt tạo ra nhu động thực quản thông qua trung tâm nuốt của hành não. Sau đó là một loạt các co bóp từ họng qua thân thực quản rồi xuống cơ thắt thực quản dưới. Có sự phối hợp chặt chẽ giữa vùng hạ họng, sụn nhẫn, cơ thắt trên và cơ vân của thực quản thông qua cung phản xạ của trung tâm nuốt. Động tác nuốt và kích thích dây X tạo nên một loạt các nhu động ở trong cơ tron 2/3 dưới thực quản, các sóng nhu động này lan đi với vận tốc 3-5 cm/giây. Nhu động tiên phát do trung tâm nuốt, còn nhu động thứ phát do căng tại chỗ của thực quản bởi thức ăn, nước uống.

- Cơ thắt thực quản dưới: Có vai trò ngăn trào ngược thức ăn và dịch từ dạ dày vào thực quản. Cơ thắt thực quản dưới có tác dụng duy trì một vùng áp lực cao hơn áp lực trong dạ dày từ 15-30 mmHg, áp lực tăng lên sau bữa ăn hoặc khi có tăng áp lực trong ổ bụng. Khi nuốt, cơ thắt dưới giãn ra khoảng 2 giây, kéo dài 3-5 giây, sự giãn ra toàn bộ cơ thắt dưới thực quản cho phép thức ăn đi qua vị trí này một cách dễ dàng. Trương lực cơ cơ phụ thuộc vào cơ chế hoạt động của cơ dọc [19].

- Góc Hiss: Khi phình vị đầy, góc Hiss đóng lại và thực quản tiếp tuyến với thành trong dạ dày, các cột của cơ hoành cũng có vai trò nhưng chỉ ở thì hít vào, thực quản lúc đó bị ép vào trong khe thực quản nên trạng thái này chống lại được cả trào ngược dịch vị và thức ăn.

- Ở người bình thường, trào ngược dạ dày thực quản cũng có thể xảy ra sau các bữa ăn. Đây là trào ngược sinh lý có thể nhiều và trong thời gian ngắn nhưng không gây ra các triệu chứng [20].

1.1.2. Định nghĩa bệnh trào ngược dạ dày thực quản

GERD là hiện tượng một phần dịch dạ dày đi ngược lên thực quản qua cơ thắt thực quản dưới, quá trình này có hay không có triệu chứng nhưng phần lớn gây ra các triệu chứng ợ chua, nóng rát sau xương ức, đau ngực, nuốt khó... Viêm thực quản do trào ngược là hiện tượng tổn thương thực quản gây ra do chất trào ngược. GERD là tập hợp tất cả các triệu chứng và hậu quả ở thực quản do trào ngược gây ra [1],[2],[3],[4],[21]. Trên lâm sàng hai triệu chứng nóng rát sau xương ức và ợ chua là hay gặp và tương đối đặc hiệu của GERD. Việc nội soi sinh thiết, chụp Xquang (XQ) thực quản có cản quang và đo áp lực thực quản đồng loạt là những thăm dò không thể thực hiện rộng rãi nên khó thống kê chính xác tỉ lệ mắc bệnh trong cộng đồng [22],[23].

1.1.3. Chẩn đoán bệnh trào ngược dạ dày thực quản

1.1.3.1. Lâm sàng

- Bệnh GERD có triệu chứng rất đa dạng, từ những tổn thương rất nhẹ không triệu chứng, không biến chứng cho tới những trường hợp viêm thực quản có biến chứng về giải phẫu và chức năng.

- Các triệu chứng điển hình [1],[2],[3],[4],[7],[21].

+ Nóng rát sau xương ức: Bệnh nhân có cảm giác nóng rát sau xương ức, lan lên trên, xuất hiện sau bữa ăn, khi nằm ngửa hoặc khi đói. Triệu chứng đau tăng lên khi có kết hợp với các yếu tố như ăn no, uống bia rượu, cà phê. Triệu chứng cũng có thể giảm đi khi dùng các thuốc trung hòa acid, ngồi hay đứng

dậy. Nóng rát sau bữa ăn và đêm phải thức dậy nhiều lần thường xảy ra ở người có viêm thực quản nặng.

+ Ợ chua: Bệnh nhân có cảm giác chua miệng khi ợ, thường xuất hiện sau ăn, khi nằm hoặc vào ban đêm, khi thay đổi tư thế. Ợ chua thường vào ban đêm kèm với cơn ho, khó thở, dịch acid trào ngược lên họng gây nôn.

- Các triệu chứng không điển hình [1],[2],[3],[4],[7].

+ Nuốt khó: Khó khăn khi nuốt, cảm thấy vướng thường do co thắt, phù nề hoặc do hẹp thực quản.

+ Nuốt đau: Là hiện tượng đau khi nuốt thường gắn với viêm thực quản nặng và thường báo hiệu là biến chứng ở thực quản.

+ Đau ngực: Giống như cơn đau thắt ngực nhưng ở đây cơn đau không điển hình, biểu hiện là đau rát sau xương ức, lan lên vai, sau lưng, lên cung răng. Các triệu chứng xảy ra không theo qui luật.

- Các triệu chứng ngoài cơ quan tiêu hóa [1],[2],[3],[4],[7].

+ Ho kéo dài là triệu chứng hay gặp về đường hô hấp của GERD, nguyên nhân có thể do hít phải chất trào ngược.

+ Khó thở về ban đêm do acid dạ dày gây ra do co thắt đường thở. Thường xảy ra ở những trường hợp GERD nặng, biểu hiện có thể do chít hẹp phế quản do sự tấn công của acid. Cũng có một số công trình nghiên cứu chứng minh rằng có trường hợp hen phế quản nghi ngờ do trào ngược, khi dùng thuốc chống trào ngược thì cơn hen giảm đi một cách rõ rệt.

+ Các triệu chứng tại họng: Sự rối loạn âm thanh xuất hiện với tần suất tương đối cao với biểu hiện khàn giọng, khó phát âm kèm co thắt từng lúc. Viêm họng phát triển theo kiểu mạn tính, hay tái phát.

+ Các triệu chứng ở mũi: Đau như có dị vật mà không giải thích được làm bệnh nhân lo lắng, biểu hiện dị cảm mũi xảy ra khi nuốt nước bọt. Hai triệu chứng nóng rát sau xương ức và ợ chua hay gặp với tỉ lệ cao, có giá trị giúp

chẩn đoán lâm sàng tới khoảng 90% các trường hợp. Trong các trường hợp này nên tiến hành điều trị thử theo phác đồ chuẩn.

Theo tiêu chuẩn Rome III: Thời gian xuất hiện các triệu chứng điển hình kéo dài ít nhất 12 tuần trong 6 tháng (không cần liên tục), ít nhất 1 lần trong tuần [24].

1.1.3.2. Cận lâm sàng

a. Chụp thực quản dạ dày có uống Barit

Chụp thông thường để phát hiện các bất thường về mặt giải phẫu như thoát vị hoành, hẹp, loét, ung thư. Chụp thông thường có độ chính xác không cao so với nội soi.

b. Đo áp lực cơ thắt dưới thực quản

Đo áp lực cơ thắt dưới thực quản đơn lẻ không có giá trị chẩn đoán vì một số có tăng áp lực cơ thắt dưới thực quản nhưng lại có hoặc không có viêm thực quản. Phương pháp này có giá trị đối với bệnh nhân trước khi phẫu thuật để điều trị trào ngược. Khi thấy áp lực cơ thắt dưới thực quản thấp người ta dùng biện pháp tăng cường trương lực cơ thắt. Xét nghiệm này rất khó xác định hiện tượng trào ngược trừ khi áp lực cơ thắt thực quản thấp dưới 6 mmHg.

c. Test Bernstein đo độ nhạy với acid của thực quản

Test này được tiến hành lần đầu tiên vào những năm 1958 dùng để phân biệt với những cơn đau ngực không do tim. Vào những năm 1978 người ta làm nghiên cứu so sánh nội soi, chụp thực quản dạ dày có thuốc cản quang, đo áp lực thực quản và Bernstein test ở những bệnh nhân nghi ngờ có GERD, thấy Test này cho độ nhạy cao nhất (85%). Tuy nhiên có nhiều dương tính giả trên một nửa số bệnh nhân không có viêm thực quản.

Nhược điểm của phương pháp này là không đo được nồng độ acid trào vào thực quản, không phát hiện được tổn thương tại thực quản, nó chỉ cho biết hiện tượng tăng cảm giác đau của thực quản đối với acid, thậm chí kết quả âm tính cũng không loại trừ GERD.

d. Đo pH thực quản liên tục 24h

Nhiều chuyên gia cho rằng những bất thường về pH thực quản 24h có thể coi như là tiêu chuẩn vàng để chẩn đoán GERD. Phương pháp này theo dõi tổng số lần acid trào ngược lên thực quản. Tuy nhiên, rất khó phân biệt trào ngược sinh lý với trào ngược bệnh lý và ngưỡng giữa bình thường và không bình thường lại cho kết quả không rõ ràng.

Test theo dõi pH 24h có 90% độ nhạy và đặc hiệu đối với trào ngược acid lên thực quản. Một số nghiên cứu khác cũng thấy rằng độ nhạy là 85- 96% và độ đặc hiệu là 100% nhưng lại chỉ phân biệt được 41% của các bệnh nhân ở nhóm chứng. Trong nghiên cứu ở bệnh nhân nội trú thấy rằng 21% bệnh nhân GERD có nội soi bình thường nhưng có bất thường về pH thực quản và 71% bệnh nhân có viêm thực quản trên nội soi có bất thường về pH [25].

Trên lâm sàng, chỉ định đo pH thực quản 24h trong các trường hợp sau: Thất bại với phương pháp điều trị, trước khi phẫu thuật, những trường hợp không điển hình cần phối hợp để chẩn đoán xác định [26].

e. Chụp xạ hình thực quản [27]

Cho bệnh nhân uống 0,5mCi Tecnexi 99m- Phyton. Sau những khoảng thời gian nhất định, người ta xác định mật độ tập trung ở 1/3 dưới thực quản. Độ nhạy của phương pháp này thấp hơn so với đo pH thực quản 24h. Tuy nhiên nó có ưu điểm là một phương pháp đơn giản hơn, hầu như không gây tổn thương. Mặc dù vậy nó không cho biết mối liên quan với triệu chứng lâm sàng như đo pH thực quản, và vì thế không ưu tiên lựa chọn đầu tiên trong chẩn đoán. Trong trường hợp trẻ bú mẹ, trẻ nhỏ và trường hợp có triệu chứng dai dẳng mà pH thực quản 24h bình thường, người ta có thể sử dụng phương pháp này. Đặc biệt trong trường hợp nghi ngờ trào ngược kiềm hoặc có triệu chứng phổi [26].

g. Nội soi [16],[28],[29].

Vai trò của nội soi đánh giá những thay đổi của niêm mạc thực quản, qua đó có thể giúp tiến hành sinh thiết. Điều trị bệnh GERD bao gồm điều trị cả biến chứng, có thể phát hiện tổn thương đường tiêu hóa trên phối hợp. Các cách phân loại tổn thương thực quản do GERD trên nội soi:

- Phân loại của Savary- Miller

+ Độ 1: Có một vài đám xung huyết hay trợt loét nông nằm riêng rẽ về một phía theo chu vi thực quản.

+ Độ 2: Có các đám xung huyết hay trợt loét nông nằm gần nhau nhưng ranh giới còn rõ ràng nhưng không chiếm toàn bộ chu vi thực quản.

+ Độ 3: Các đám xung huyết hay trợt loét nông chiếm toàn bộ chu vi thực quản nhưng không làm teo hẹp thực quản.

+ Độ 4: Loét thực sự và gây hẹp

- Phân loại theo Los Angeles [26].

+ Độ A: Có một hoặc nhiều tổn thương không kéo dài quá 5mm, không kéo dài giữa hai đỉnh nếp niêm mạc.

+ Độ B: Có một hoặc nhiều tổn thương kéo dài quá 5mm, không kéo dài giữa hai đỉnh nếp niêm mạc.

+ Độ C: Có một hoặc nhiều tổn thương niêm mạc nối liền giữa hai hay nhiều nếp niêm mạc, nhưng không xâm phạm quá 75% chu vi ống thực quản.

+ Độ D: Có một hoặc nhiều tổn thương niêm mạc xâm phạm quá 75% chu vi ống thực quản.

- Phân loại Savary- Miller (1981) được sử dụng rộng rãi ở Châu Âu.

Cách phân loại này cho thấy có xung huyết hay trợt loét nông xếp theo 3 mức độ tuy chỉ khác nhau về diện tích và vị trí tổn thương, còn độ 4 lại bao gồm tất cả các biến chứng như hẹp, loét sâu mà không chỉ rõ bản chất các biến chứng này, trong khi yêu cầu theo dõi và xử trí của chúng ta lại khác nhau. Cách phân loại này cũng không chính xác và cũng không phù hợp với yêu cầu dịch tễ học của viêm thực quản do trào ngược.

Hệ thống phân loại Los Angeles xác định mức độ lan rộng của tổn thương đích thực ở thực quản và quan sát những tổn thương nhỏ cũng như các biến chứng (loét, dị sản, hẹp,...), đồng thời vẫn tính đến các đĩnh niêm mạc để mô tả độ lan rộng của các tổn thương. Tuy vậy cách phân loại này khó khăn và phức tạp cho các nhà nội soi. Vì vậy khó thống nhất giữa các nhà nội soi về hình ảnh tổn thương.

Bảng 1.1. Hệ thống phân loại kết hợp đối với GERD [30].

Thông số	Biểu hiện	Mức độ
Hình ảnh nội soi	Bình thường	0
	Xung huyết	1
	Trợt và loét	2
	Thực quản chít hẹp hay niêm mạc thực quản được lát bởi các tế bào biểu mô trụ	3

1.1.3.3. Tiêu chuẩn chẩn đoán đánh giá trên lâm sàng

Tham khảo Bộ câu hỏi dùng để chẩn đoán, xác định khả năng mắc trào ngược dạ dày thực quản GERD-Q (Gastro Esophageal Reflux Disease Questionnaire), cụ thể như sau [31]:

Hãy nhớ lại các triệu chứng trong 7 ngày vừa qua và chọn câu trả lời đúng nhất.

Bảng 1.2. Bảng đánh giá khả năng mắc bệnh trào ngược dạ dày

1, Bạn có triệu chứng nóng rát giữa ngực, sau xương ức mấy ngày trong tuần?			
A, 0 ngày (0 điểm)	B, 1 ngày (1 điểm)	C, 2 hoặc 3 ngày (2 điểm)	D, 4 đến 7 ngày (3 điểm)
2, Bạn có triệu chứng ợ nước chua hoặc thức ăn từ dạ dày lên cổ họng hoặc miệng mấy ngày trong tuần?			
A, 0 ngày (0 điểm)	B, 1 ngày (1 điểm)	C, 2 hoặc 3 ngày (2 điểm)	D, 4 đến 7 ngày (3 điểm)

3, Bạn có triệu chứng đau ở vùng bụng trên mấy ngày trong tuần?			
A, 0 ngày (3 điểm)	B, 1 ngày (2 điểm)	C, 2 hoặc 3 ngày (1 điểm)	D, 4 đến 7 ngày (0 điểm)
4, Bạn có triệu chứng buồn nôn mấy ngày trong tuần?			
A, 0 ngày (3 điểm)	B, 1 ngày (2 điểm)	C, 2 hoặc 3 ngày (1 điểm)	D, 4 đến 7 ngày (0 điểm)
5, Bạn thấy khó ngủ vào ban đêm do cảm giác nóng rát sau xương ức và hoặc ợ mấy ngày trong tuần?			
A, 0 ngày (0 điểm)	B, 1 ngày (1 điểm)	C, 2 hoặc 3 ngày (2 điểm)	D, 4 đến 7 ngày (3 điểm)
6, Ngoài các thuốc trong đơn bác sĩ kê, bạn phải uống thêm một số loại thuốc khác như Phosphalugel, Maalox... mấy ngày trong tuần?			
A, 0 ngày (0 điểm)	B, 1 ngày (1 điểm)	C, 2 hoặc 3 ngày (2 điểm)	D, 4 đến 7 ngày (3 điểm)

Bảng 1.3. Bảng kết quả áp dụng trên Thế giới

Tổng điểm	Điểm ô C (Điểm tác động)	Chẩn đoán	% Khả năng viêm thực quản
0-2		Khả năng GERD thấp	0,0
3-7		Khả năng GERD thấp	21,5
8-10	<3	GERD nhẹ	48,5
	> hoặc = 3	GERD nặng	
11-18	<3	GERD nhẹ	60,7
	> hoặc = 3	GERD nặng	

Bảng 1.4. Bảng kết quả áp dụng trên người Việt Nam

Tổng điểm	Điểm ô C	Chẩn đoán	% Khả năng viêm thực quản
-----------	----------	-----------	---------------------------

	(Điểm tác động)		
0-2		Khả năng GERD thấp	0,0
3-5		Khả năng GERD thấp	13,2
6-8		GERD nhẹ	12,3
≥ 9	< 3	GERD nhẹ	40
	$> \text{ hoặc } = 3$	GERD nặng	

1.1.3.4. Các biến chứng của GERD

- Thực quản Barrett: Viêm thực quản kéo dài dẫn đến thay đổi toàn bộ biểu mô vảy ở đoạn cuối của thực quản biến thành biểu mô tuyến gọi là biểu mô Barrett, nó bao gồm sự pha trộn không đồng đều các tế bào biểu mô tương tự niêm mạc dạ dày, ruột non, đại tràng sắp xếp thành các thành phần bề mặt gồm biểu mô bề mặt, các khe giống dạ dày và các thành phần tuyến dưới niêm mạc, thỉnh thoảng có thể thấy hình ảnh vi nhung mao.

- Chít hẹp thực quản: Do quá trình viêm tạo ra các sợi xơ lan xuống dưới niêm mạc của thực quản thường gặp trong các trường hợp trào ngược mãn tính như đặt sonde dạ dày, nằm lâu, bệnh xơ cứng bì, loét dạ dày - hành tá tràng tăng tiết dịch vị.

- Chảy máu thực quản do viêm thực quản nặng, các ổ loét do acid ăn sâu vào lớp cơ có thể dẫn tới chảy máu.

- Biểu hiện ở phổi do trào ngược: Rất khó xác định các bệnh lý ở phổi do trào ngược gây ra. Tuy nhiên người ta thấy một số trường hợp có sự liên quan giữa trào ngược và bệnh lý của phổi như viêm họng, ho kéo dài, hen phế quản, ho ra máu.

1.1.4. Các phương pháp điều trị GERD hiện nay.

1.1.4.1. Điều trị nội khoa [21]

- Thay đổi lối sống

Đây là biện pháp đầu tiên áp dụng cho bệnh nhân trào ngược. Thay đổi lối sống có thể làm cải thiện và làm giảm triệu chứng của một số bệnh này. Tuy nhiên, nếu chỉ thay đổi lối sống thì không đủ để điều trị GERD. Trị liệu này bao gồm thay đổi chế độ ăn uống và liệu pháp tư thế.

- Chế độ ăn uống:

+ Ăn vừa đủ no, chia làm nhiều bữa nhỏ trong ngày hạn chế các loại nước có gas [7].

+ Không ăn thức ăn có nhiều mỡ, dầu. Thức ăn nhiều dầu mỡ sẽ làm chậm quá trình làm rỗng dạ dày.

+ Không nằm ngay sau khi ăn.

+ Không ăn trước khi đi ngủ 2-3 giờ.

+ Kiêng trà, cà phê, không ăn nhiều thức ăn chứa canxi, không dùng quá nhiều vitamin C vì các chất này kích thích dạ dày tiết acid.

+ Hạn chế các thức ăn cay (ớt, tiêu), chua như chanh, cà chua, giấm.

+ Tránh các loại rau cải như súp lơ, bông cải xanh, tỏi, cải bắp, cải bruxen.

+ Không ăn chocolate, bạc hà (peppermint).

+ Không uống rượu, không hút thuốc lá.

+ Trước khi ngủ không dùng sữa và các chế phẩm từ sữa (nhiều canxi và chất béo).

+ Giảm cân nếu bị béo phì.

- Liệu pháp tư thế:

Kê đầu giường cao hơn chân giường 15cm, không ăn trước khi ngủ 2-3h, kết quả cho thấy hơn 95% bệnh nhân trào ngược giảm triệu chứng bệnh [32]. Ngoài ra, bệnh nhân trào ngược cũng cần phải giảm stress tránh làm tăng áp lực ổ bụng như không mặc quần áo chật, đai lưng quá chặt, nịt vú quá chặt [7].

- Thuốc điều trị

* Thuốc làm giảm acid dạ dày [2],[7],[8].

(+) Thuốc trung hòa trực tiếp acid dạ dày

Các thuốc này có tác dụng làm giảm tạm thời các triệu chứng khó chịu cho bệnh nhân. Nhóm thuốc này thường làm ảnh hưởng tới các thuốc khác trong quá trình trị liệu nên cần phải uống xa các thuốc khác từ 2-3h. Thuốc dạng gel, viên nén, hay viên sủi bọt. Dưới tác dụng của acid dạ dày, altacid kết tủa thành gel nhầy trung tính bao phủ bề mặt niêm mạc dạ dày và đồng thời làm tăng pH của dịch dạ dày. Do nhẹ nên gel này nằm ở phía trên mặt của các chất chứa trong dạ dày. Lớp gel này làm giảm số lần trào ngược do độ nhớt cao, đồng thời khi trào ngược lớp gel này cũng ít kích thích và bào mòn niêm mạc thực quản hơn.

(+) Thuốc tác động lên sự tiết acid dạ dày

Có 2 nhóm thuốc có tác dụng này.

Một là nhóm đối kháng với thụ thể Histamin H₂: Nhóm thuốc ức chế sự tiết acid bằng cách cạnh tranh một cách chọn lọc tại các thụ thể Histamin H₂ ở màng tế bào viền. Nhóm này là nhóm thuốc đầu tay cho các bệnh nhân trào ngược dạng nhẹ. Tuy nhiên, nhóm thuốc này không nên dùng dài vì tác dụng kháng tiết acid sẽ giảm do sự giảm đáp ứng của cơ thể.

Hai là nhóm thuốc ức chế bơm proton: Cơ chế của nhóm thuốc này là ức chế chọn lọc trên H⁺ /K⁺ ATPase. Bơm này nằm ở tế bào viền giúp cho sự vận chuyển ion H⁺ được tiết ra từ bên trong tế bào đi ra dạ dày để kết hợp với ion Cl⁻ tạo thành acid HCl. Nhóm này gồm các thuốc như Omeprazole, Lanzoprazole, Pantoprazole, Rabeprazole. Bệnh nhân trào ngược cần có liều và thời gian sử dụng các thuốc này cao hơn liều chuẩn trong điều trị loét dạ dày, tá tràng [17].

* Thuốc kích thích chức năng vận động thực quản dạ dày [15].

Nhóm thuốc này có tác động kích thích nhu động thực quản, tăng trương lực cơ thắt thực quản dưới, tăng vận động thực quản dạ dày tá tràng và thúc đẩy quá trình làm rỗng dạ dày.

Baclofen (Lioresal), một chất chủ vận trên thụ thể GABA-beta, có tác động tốt trên sự giãn ngắn hạn này. Tuy nhiên thuốc này có tác dụng phụ trên thần kinh trung ương.

Các thuốc kích thích sự vận động của dạ dày ruột như Metoclopramid (Primperan), Domperidon (Motilium) có tác dụng cải thiện các triệu chứng của trào ngược. Cơ chế kích thích sự vận động của dạ dày ruột cũng như chống nôn và buồn nôn của 2 thuốc này là do tác dụng kháng thụ thể dopamin D2. Tuy nhiên 2 thuốc này cũng đi kèm với một số tác dụng phụ cần phải lưu ý. Do không qua được hàng rào máu não nên Domperidon tương đối an toàn.

* Các thuốc đang được nghiên cứu

Bên cạnh những thành công trong điều trị bệnh trào ngược của các thuốc kháng tiết acid do đối kháng thụ thể histamin H2 và ức chế bơm proton, hiện nay vẫn còn những vấn đề điều trị y khoa chưa đạt được đối với bệnh này. Ví dụ như tỷ lệ đáp ứng của thuốc ức chế bơm proton ở liều điều trị trào ngược của bệnh nhân không có bào mòn thực quản là thấp hơn 30% ở bệnh nhân có bào mòn thực quản, và trên hết vẫn còn khoảng 16% vẫn còn các triệu chứng trong khi điều trị với thuốc ức chế bơm proton [15]. Các bệnh nhân thường có các triệu chứng trào ngược là do thuốc ức chế bơm proton không thể làm giảm tiết của các enzym tiêu hóa, muối mật mà các enzym tiêu hóa, muối mật này cũng có khả năng gây các triệu chứng trào ngược. Đồng thời, thuốc chế bơm proton cũng không làm tăng cơ chế bảo vệ trong trào ngược hay cải thiện tình trạng làm rỗng dạ dày.

Cho tới hiện nay chưa có thuốc nào an toàn, hiệu quả và có thể sử dụng lâu dài để điều trị các bất thường cơ năng của cơ vòng dưới thực quản gây ra bệnh trào ngược. Tình trạng yếu kém của cơ vòng dưới thực quản và sự bất

thường về chức năng vận động của thực quản, dạ dày là nguyên nhân tìm thấy ở 80% bệnh nhân trào ngược. Thế hệ kế tiếp theo của Cisapride, chất chủ vận trên thụ thể 5-hydroxytryptamine, đang được nghiên cứu và phát triển có tác dụng trên chức năng cơ năng này như Tegaserod. Thế hệ mới này hy vọng sẽ không có tác dụng phụ trên hệ tim mạch như cisapride. Một số chất có tác dụng cải thiện sự giãn nhất thời của cơ vòng dưới thực quản như các chất chủ vận trên thụ thể cannabinoid (thử nghiệm trên chó), ức chế men nito oxyd synthase (NOS) cũng mở ra hướng mới cho sàng lọc các thuốc mới điều trị trào ngược proton [33].

Dexloxiplumide, đồng phân dạng D của loxiplumide đang được nghiên cứu lâm sàng giai đoạn III trên tác dụng tăng trương lực cơ vòng dưới thực quản và tăng tốc độ khám phá mới về thụ thể dopamin D3 và D4 cũng như sự hiện diện của các thụ thể này tập trung trên đường tiêu hóa đã mở ra một hướng mới trên nghiên cứu các thuốc kích thích vận động dạ dày ruột. Nafadotride là một chất kháng thụ thể dopamin D3 có tác dụng tăng cường sự vận động dạ dày ruột, nhanh chóng làm rỗng dạ dày hiện tượng đang trong quá trình nghiên cứu lâm sàng.

Motilin là một hormon tiết bởi ruột non có tác động tăng cường sự vận động dạ dày ruột và kích thích sự sản sinh pepsin. Ngoài ra, thụ thể Motilin có chung 52% DNA với thụ thể kích thích sản sinh hormon tăng trưởng và chất chủ vận trên thụ thể này (là ghrelin) cũng có thể mang lại tác động tương tự như chất chủ vận trên thụ thể Motilin.

1.1.4.2. Điều trị ngoại khoa

Phẫu thuật không chỉ giúp phục hồi các khiếm khuyết về giải phẫu mà còn làm tăng cường trương lực cơ thắt dưới thực quản.

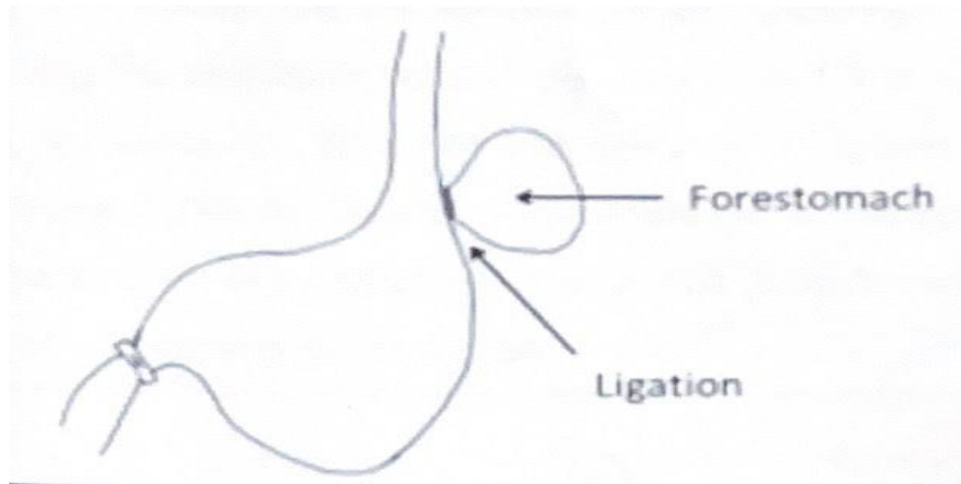
- Phương pháp mổ mở có 4 loại :
- + Tạo nếp gấp toàn bộ (phương pháp Nissen)
- + Tạo nếp gấp cục bộ (mặt trước)

- + Tạo nếp gấp mặt sau
- + Trường hợp có đoạn thực quản dài ở bên phải của đáy dạ dày có thể tạo nếp gấp toàn bộ bọc quanh đoạn thực quản kéo dài đó.
- Phẫu thuật nội soi ổ bụng: 70-80% thành công và có thể ổn định trong 25 năm sau.
- Chỉ định trong các trường hợp sau:
 - + Điều trị PPIs kém hiệu quả, đặc biệt bệnh nhân mong muốn dứt khoát điều trị triệt để.
 - + Thực quản Barrett
 - + Các trường hợp có biểu hiện ngoài hệ tiêu hóa nhưng phải cân nhắc khi điều trị.

1.1.5. Các mô hình gây trào ngược dạ dày thực quản trên thực nghiệm

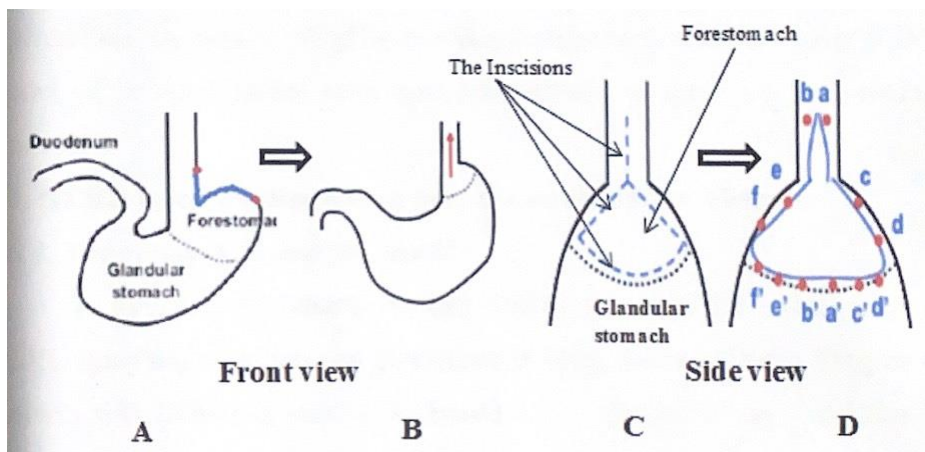
Các mô hình trên động vật thực nghiệm của GERD chủ yếu được gây ra bởi các quy trình phẫu thuật khác nhau.

- Mô hình GERD được gây ra bằng cách thắt môn vị sau khi thắt chỗ nối giữa dạ dày và thân vị. Trong mô hình này, chuột được mổ để bộc lộ dạ dày, sau đó môn vị và phần tiếp giáp giữa dạ dày và thân vị được thắt chặt để acid trào ngược vào thực quản gây tổn thương ngắn hạn. Phương pháp này được thực hiện với kỹ thuật đơn giản nhưng chỉ đánh giá được thời gian ngắn do con vật không tiêu hóa được thức ăn sau khi thắt. Ngoài ra, mô hình cũng có thể được biến đổi bằng cách chỉ thắt đoạn nối giữa dạ dày và thân vị để có thể nghiên cứu lâu hơn do không ảnh hưởng đến quá trình tiêu hóa thức ăn của chuột [34].



Hình 1.2. Chỉ thắt nối giữa dạ dày và thân vị

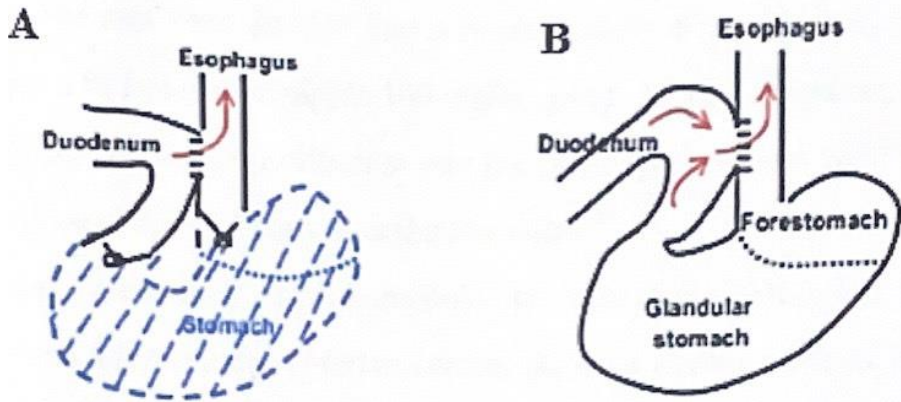
- Phẫu thuật cắt bỏ cơ vòng thực quản và chỗ nối dạ dày: Rạch một đường vào thực quản cạnh chỗ nối với dạ dày. Đồng thời, thân vị được cắt dọc một phần như hình C thành hình D, sau đó khâu các điểm a với a', b lần lượt khâu với b' cho đến điểm f ta được phần bụng như thể hiện trong hình B. Acid sẽ liên tục trào ngược lên thực quản và gây viêm thực quản. Phương pháp phẫu thuật này nếu đảm bảo vô trùng và phẫu thuật viên có trình độ tốt có thể giữ cho động vật thí nghiệm sống được một thời gian dài để nghiên cứu [35].



Hình 1.3. Phẫu thuật cắt bỏ cơ thắt thực quản và chỗ nối thực quản dạ dày

- Phẫu thuật nối tá tràng với thực quản: Phẫu thuật này bao gồm nối tá tràng với dạ dày để acid mật có thể tác động lên biểu mô thực quản. Việc cắt

dạ dày (Hình A) hay không cắt dạ dày (Hình B) tùy thuộc vào mục đích nghiên cứu. Phương pháp này cũng có thể giữ cho chuột sống nếu điều kiện phẫu thuật tốt vì không gây tắc nghẽn lưu thông trong ống tiêu hóa [35].



Hình 1.4. Phẫu thuật nối tá tràng với thực quản

- Mô hình GERD cũng có thể do một số loại thuốc gây ra, chẳng hạn như NSAID, thuốc giãn cơ làm giãn cơ thắt thực quản, thuốc huyết áp. Trong đó, NSAID là loại thuốc thường được sử dụng để gây trào ngược mô hình GERD hoặc kết hợp với các phương pháp phẫu thuật để đẩy nhanh quá trình nghiên cứu [36].

1.2. BỆNH TRÀO NGƯỢC DẠ DÀY THỰC QUẢN THEO Y HỌC CỔ TRUYỀN

YHCT không có bệnh danh bệnh trào ngược dạ dày thực quản, căn cứ vào các triệu chứng lâm sàng, bệnh trào ngược dạ dày thực quản được mô tả trong phạm vi của chứng “Vị quản thống”.

Trong các sách y văn cổ đã mô tả rất kỹ về chứng bệnh này. Mô tả sớm nhất về triệu chứng của Vị quản thống được tìm thấy trong Hoàng đế nội kinh, được gọi tên là Quyết tâm thống. Sách Nội kinh Linh khu, chương quyết bệnh có đoạn mô tả về chứng quyết tâm thống “chứng quyết tâm thống bụng đau, đầy tức, nếu đau nhiều gọi là vị tâm thống”. Trương Trọng Cảnh trong sách Kim quỹ yếu lược chia các bệnh ở vị làm các chứng bĩ chứng, mãn chứng, thống

chứng. Trong các y văn cổ, vị quản thống được gọi tên là tâm thống. Tuy nhiên ngày nay, trên lâm sàng đây là hai chứng bệnh khác nhau. Tâm thống bệnh nhân biểu hiện đau tức ngực, đau xuyên ra đằng sau lưng, chân tay lạnh, bệnh nặng. Do đó biện chứng cần phân biệt hai chứng bệnh này [37], [38], [39].

Vị quản thống chỉ chứng bệnh do vị lạc bị tổn thương, khí huyết không điều hòa gây ra đau vùng vị quản, thường liên quan đến sự rối loạn công năng của 3 tạng phủ vị, tỳ, can do các nguyên nhân khác nhau.

1.2.1. Nguyên nhân gây bệnh và cơ chế bệnh sinh

Có rất nhiều nguyên nhân gây ra chứng vị quản thống. Ngay từ rất sớm, Nội kinh đã cho rằng chứng bệnh này có liên quan đến hàn tà, can khí và nội nhiệt. Sách Tố vấn, chương Cử thống luận có viết: “Hàn khí xâm phạm tràng vị làm huyết không lưu hành, mạch lạc co rút mà gây đau”, “Mộc uất mà không được phát thì dễ bị vị quản thống”, “Người hay uống rượu thì dễ sinh nhiệt miệng, nặng hơn thì vị quản thống”. Ngày nay, người ta chia thành bốn nhóm nguyên nhân gây bệnh sau:

1.2.1.1. Ngoại tà phạm vị

Lục khí ở bên ngoài xâm nhập vào cơ thể trở thành tác nhân gây bệnh gọi là lục dâm, trong đó thường là hàn, thấp, nhiệt... Những yếu tố gây bệnh này có thể đơn độc hoặc kết hợp với nhau, bệnh càng dễ phát nếu bản thân người bệnh có sự suy giảm chức năng của tỳ, vị, kết hợp với phần ngoại vệ bất cố nên lục dâm dễ dàng xâm nhập vào cơ thể. Trong các loại ngoại tà, hàn tà phạm vị là hay gặp nhất, thường thấy ở người tỳ vị hư hàn. Ngoài ra, vào mùa hè thì cũng có thể gặp thử nhiệt hoặc thấp trọc phạm vị. Ngoại tà phạm vị làm vị khí tổn thương, vị khí ú trệ làm mất tính hoà giáng dẫn tới vị quản thống. Hàn có tính ngưng kết, thường gây đau quặn, thử nhiệt thường gây đau nóng rát, thấp trọc thường gây đầy tức [11], [37] [38].

1.2.1.2. Âm thực

Vị chủ thu nạp, khai khiếu ra miệng. Thức ăn, nước uống từ miệng, qua thực quản, vào vị. Nếu ăn uống không điều độ, lúc đói quá, lúc no quá hoặc thích uống rượu, ăn đồ béo mỡ, không đúng giờ giấc, hay dùng thuốc không đúng... làm tổn thương tới vị khí. Vị mất tính hoà giáng dẫn tới vị quản thống. Trên lâm sàng, bệnh nhân ăn đồ béo ngọt, hay uống rượu thường gặp nhiều hơn cả. Những thói quen trên kéo dài gây thấp nhiệt hoặc tảo nhiệt nội sinh, ứ trệ ở vị mà hao tổn tân dịch, lâu ngày ảnh hưởng đến tỳ [11], [40].

1.2.1.3. Tình chí

Tình chí u uất, cấu giận dễ gây nên việc sơ tiết của can khí bị rối loạn, can không sơ thông, hoành nghịch gây can vị bất hoà, nếu kéo dài gây can khí uất kết hóa hỏa, hỏa uất lâu ngày làm tổn thương phần âm, dẫn đến vị âm hư khiến đau càng ngày càng tăng hoặc đau kéo dài. Nếu can khí uất lâu ngày không khỏi, ảnh hưởng đến tỳ dương, gây trung khí không đầy đủ, nên vận hóa vô lực làm cho vị không thể hòa giáng được, gây tỳ vị hư hàn, đau bụng ở thượng vị liên tục âm ỉ, đau tăng lên khi gặp lạnh, đầy bụng khó tiêu, ăn kém, đại tiện phân nát [11], [38], [41].

1.2.1.4. Tỳ vị hư

Lao lực hoặc mất máu quá nhiều, hoặc bị bệnh trong thời gian dài sẽ gây tổn thương tỳ vị. Cũng có trường hợp gặp người bệnh vốn có thể chất tỳ vị hư. Tỳ vị hư thì mất kiện vận, thăng giáng không điều hòa làm khí cơ ứ trệ gây ra vị thống. Tỳ vị dương hư, âm hàn nội sinh, vị lạc không được nuôi dưỡng cũng gây ra chứng bệnh này. Nếu bệnh ở vị thời gian dài, âm hư không tư dưỡng được vị cũng dẫn tới vị quản thống [11], [37].

Như vậy, vị quản thống có liên quan nhiều nhất đến vị, can, tỳ. Giai đoạn đầu, bệnh ở vị, tiếp đến ảnh hưởng tới can, lâu ngày thì bệnh ở tỳ hoặc tỳ vị đồng bệnh hoặc can tỳ đồng bệnh. Vị là dương thổ, tính thích nhu nhuận mà ghét táo. Chức năng chủ thu nạp, làm nhừ thức ăn, lấy hòa giáng làm thuận. Bệnh ở vị thì đầu tiên vị khí ứ trệ, vị thực tích, tiếp đó là can vị khí trệ hay can khí uất kết

phạm vị. Khí là soái của huyết, khí hành thì huyết hành, khí trệ thì huyết ứ. Ngoài ra “khí hữu dư tất sinh hỏa”, khí trệ lâu ngày hóa hỏa. Về hỏa chứng có thể gặp hỏa nhiệt tại vị hoặc can vị uất nhiệt. Hỏa làm hao tổn tân dịch, hoặc sau khi xuất huyết, hoặc ứ huyết làm tân huyết không sinh đều có thể gây ra âm dịch hư tổn. Bệnh ở vị thời gian dài sẽ ảnh hưởng tới tỳ, tỳ mất vận hóa tiếp đó sẽ gây thăng giáng không điều hòa, trung khí hạ hãm. Hoặc nếu tỳ vị dương hư làm âm hàn nội sinh, vị lạc không được nuôi dưỡng. Như vậy nguyên nhân gây bệnh chỉ có 4 loại, nhưng cơ chế bệnh sinh còn phải phân ra hư thực, hàn nhiệt, khí huyết... Tuy nhiên cơ chế gây bệnh chính vẫn là “bất thông tắc thống” [38], [39], [40].

1.2.1.5. Tiên thiên bất túc

Người bệnh khi sinh ra, thận dương đã không đủ, không nuôi dưỡng được tỳ dương làm tỳ dương hư, gây vị khí ứ trệ và hư, gây bệnh tỳ vị hư hàn.

Bẩm sinh Tỳ Vị người bệnh đã hư nhược, trung khí không đầy đủ, kèm theo bệnh tật lâu ngày hoặc do làm việc khó nhọc vất vả, hoặc dùng thuốc hàn lương kéo dài hàn thấp nội sinh làm cho tỳ vị càng thêm thương tổn mà sinh bệnh [38], [41].

1.2.2. Các thể lâm sàng:

Trên lâm sàng thường chia chứng vị quản thống thành 2 thể lớn [11]:

- Can khí phạm vị (can vị bất hòa, can khắc tỳ, can mộc khắc tỳ thổ).
- Tỳ vị hư hàn.

Trong đó, thể can khí phạm vị được chia thành 3 thể là: khí trệ, hỏa uất và huyết ứ.

1.2.2.1. Thể khí trệ

- Triệu chứng: đau tức ở vị quản, ấn đau cự án, cảm giác căng chướng ở hai bên mạng sườn, mỗi lần do nguyên nhân tình chí làm bệnh nặng hơn, thích thở dài, chán ăn, tinh thần u uất, mất ngủ, ợ hơi, ợ chua, chất lưỡi hơi đỏ, rêu lưỡi trắng mỏng hoặc hơi vàng mỏng, mạch huyền [11], [37], [40].

- Biện chứng: can chủ sơ tiết, thích điều đạt. Nếu tình chí không thoải mái thì can khí uất kết, thăng giáng mất điều hòa, hoành nghịch phạm vị mà sinh đau. Sườn là vùng thuộc kinh can nên khí cơ không thông lợi, can vị khí nghịch gây đầy trướng mà ợ hơi. Nếu tình chí không hòa, can khí càng uất, nên khi giận dữ triệu chứng tăng lên. Bệnh ở phần khí, thấp trọc không nhiều nên rêu lưỡi trắng mỏng. Bệnh ở lý, ở tạng can và chủ về đau nên mạch trầm huyền [40].

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

- Phương dược: Sài hồ sơ can thang.

1.2.2.2. Thể hỏa uất

- Triệu chứng: đau rát vùng thượng vị, đau nhiều kèm ợ hơi ợ chua, miệng khô đắng, khát nước thích uống nước mát, dễ cáu giận, chất lưỡi đỏ, rêu lưỡi vàng, mạch huyền sắc [11], [40].

- Biện chứng: can khí uất kết lâu ngày hóa nhiệt, nhiệt tà phạm vị nên vị quản nóng rát, đau cự án. Can vị uất nhiệt, hoành nghịch lên gây phiền táo, ợ hơi, ợ chua, cồn cào. Can đờm lại có quan hệ biểu, lý; can nhiệt hợp đờm nên gây miệng khô đắng, thích uống nước mát. Lưỡi đỏ, rêu vàng là hiện tượng lý nhiệt, mạch huyền sắc là chứng can vị uất nhiệt [7].

- Pháp điều trị: sơ can tiết nhiệt.

- Phương dược: Hóa can tiễn hợp với Tả kim hoàn

1.2.2.3. Thể huyết ứ

- Triệu chứng: đau dữ dội ở một vị trí nhất định vùng thượng vị, cự án. Gồm 2 loại: thực chứng và hư chứng.

+ Thực chứng: vị quản đau nhói, nôn ra máu, đại tiện phân đen, môi đỏ lưỡi đỏ, rêu lưỡi vàng, mạch huyền sắc, hữu lực (bệnh thể cấp) phần nhiều là do huyết ứ ngưng đọng ở vị, khí cơ không lợi gây ra.

+ Hư chứng: sắc mặt xanh nhợt, người mệt mỏi, chân tay lạnh, môi nhợt, chất lưỡi bệu, có điểm ứ huyết, rêu lưỡi nhuận, mạch hư đại hoặc tế sáp (bệnh thể hoãn) [11], [40].

- Biện chứng: vị là phủ đa khí, đa huyết. Khí là soái của huyết, khí hành thì huyết hành, khí trệ thì huyết ứ. Hoặc cũng có thể gặp sau khi thổ huyết dẫn tới huyết ra khỏi đường kinh, ứ trệ ở vị khiến mạch lạc không thông mà gây ra huyết ứ. Vì vậy mà đau chói như kim châm hoặc dao cắt, điểm đau cố định, cự án. Huyết ứ không hết thì huyết mới không được sinh nên sắc mặt xạm kém tươi nhuận, môi tím xạm. Huyết ứ lưỡi ít được vinh nhuận nên màu tím đen, có điểm ứ huyết, mạch sáp.

- Pháp điều trị:

+ Thực chứng: thông lạc hoạt huyết hay lương huyết chỉ huyết.

+ Hư chứng: bổ huyết chỉ huyết.

- Phương dược:

+ Thực chứng: Thất tiêu tán hợp Đan sâm ẩm.

+ Hư chứng: Hoàng thổ thang gia giảm [11], [37], [40].

1.2.2.4. Thể tỳ vị hư hàn

- Triệu chứng: đau âm ỉ thượng vị, lúc gặp lạnh đau tăng hoặc lúc đói đau nhiều, gặp ẩm hoặc sau khi ăn đỡ đau, đau thiện án, sắc mặt nhợt, người mệt mỏi, tay chân lạnh, ăn ít, đại tiện phân nát có lúc táo, nôn ra nước trong, chất lưỡi bệu nhợt, có hần răng, rêu lưỡi trắng, mỏng, mạch trầm tế vô lực [11], [40].

- Biện chứng: tỳ vị hư hàn, chính khí hư gây đau âm ỉ, hàn được ẩm thì tán, khí được ẩm thì vận hành nên thích xoa, chườm ẩm. Tỳ ở trung tiêu chủ vận hóa thủy thấp, tỳ hư hàn thủy không được vận hóa mà nghịch lên gây nôn ra nước trong. Tỳ chủ về cơ nhục mà kiện vận ra tứ chi, trung dương không phân chấn nên không kiện vận được làm cho da thịt, gân mạch mất sự ôn dưỡng cho

nên tay chân không ấm. Tỳ hư sinh thấp dòn xuống đại trường gây đại tiện lỏng loãng. Lưỡi nhợt, mạch hư nhược hoặc trì hoãn đều là biểu hiện của tỳ vị hư hàn, trung khí không đủ [40].

- Pháp điều trị: ôn trung kiện tỳ (ôn bổ tỳ vị, ôn vị kiện trung).

- Phương dược: Hoàng kỳ kiến trung thang [11], [40].

1.3. CÁC NGHIÊN CỨU VỀ GERD TRÊN THẾ GIỚI VÀ TẠI VIỆT NAM

1.3.1. Trên thế giới

Bệnh trào ngược dạ dày thực quản đã được nghiên cứu trên thế giới từ những năm đầu thế kỷ 20. Năm 1906, Tileston đã công bố sự quan sát được bệnh loét thực quản [20], trong một bài viết được đăng trên tờ Asher Winkeltein(1935) đã giới thiệu và lưu ý một thuật ngữ gọi là “viêm thực quản pepsin”: Bài viết này đã mô tả khá rõ về các triệu chứng lâm sàng của nhiều bệnh nhân được nghĩ là viêm thực quản thứ phát do hiện tượng trào ngược của HCl và Pepsin [18].

Năm 1946 Allison đã mô tả GERD được coi là đồng nghĩa với “hiện tượng thoát vị khe (hiatal hernia)” gây ra một sự nóng rát gặp ở một số bệnh nhân được phẫu thuật sửa chữa các thương tổn ở cơ hoành [18],[20].

Năm 1950 Berenberg và Newhauser mô tả GERD, sinh lý và cơ chế, tuy vai trò của cơ vòng thực quản dưới (LES) còn hiểu biết rất hạn chế [18].

Năm 1958 Berstein và Backer dùng X-Quang để chẩn đoán GERD [18].

Năm 1962 Người ta bắt đầu áp dụng nội soi mềm trong chẩn đoán GERD [18].

Năm 1968 Cherry mô tả về các triệu chứng bên ngoài thực quản do trào ngược [20].

Năm 1969 Spencer dùng phương pháp đo độ pH thực quản với thời gian lâu dài để theo dõi bệnh GERD, qua hơn 40 năm hệ thống đo pH đã thay đổi, hoàn thiện hơn và đây vẫn là test tiêu chuẩn để chẩn đoán GERD [18].

Năm 1991 Koufman nhận xét các biểu hiện tai mũi họng trong bệnh lý trào ngược [20].

Năm 2005 Ford ra danh từ arygopharyngeal reflux (PR) được coi là biến chứng của GERD hay trào ngược ngoài thực quản [41].

1.3.2. Tại Việt Nam

Ở Việt Nam cũng từ những năm 2000 trở lại đây, GERD thường được nhắc đến:

Năm 1999 GS. Võ Tấn đã có phát biểu cảnh tỉnh với các thầy thuốc Tai Mũi Họng về “Hội lưu dạ dày - thực quản” tại Hội nghị khoa học ngành ở Đà Nẵng, BS. Huỳnh Khắc Cường, đã trình bày khá đầy đủ về triệu chứng và điều trị bệnh. Ngô Ngọc Liên trong tạp chí Tai Mũi Họng tháng 02-2000 đã bước đầu tổng kết về GERD ở trẻ em với đề xuất từ mới “Ho ngang” là triệu chứng điển hình bệnh trào ngược dạ dày thực quản ở trẻ em. Tạp chí Tai Mũi Họng tháng 03/2004 - Ngô Ngọc Liên và Ngô Thùy Nga nêu 42 trường hợp GERD ở người lớn với đặc điểm chỉ có 14.28% có loét dạ dày tá tràng, có đến 16.6% không có bị viêm loét dạ dày [18],[42].

Nguyễn Tuấn Đức (2008) đã nghiên cứu các biểu hiện lâm sàng và hình ảnh nội soi Tai Mũi Họng trong bệnh GERD ở người lớn [20].

Bồ Kim Phượng (2011) đã đưa ứng dụng bảng GERD Q vào chẩn đoán GERD [43].

Quách Trọng Đức, Hồ Xuân Linh (2012) nói lên được giá trị của bộ câu hỏi GERD-Q trong chẩn đoán GERD của lĩnh vực nội tiêu hóa [44].

1.3.3. Các nghiên cứu điều trị GERD bằng Y học cổ truyền hiện nay

Y học cổ truyền trải qua hàng nghìn năm kinh nghiệm đã để lại những vị thuốc, bài thuốc hay để điều trị các bệnh về tiêu hóa, kế thừa và phát huy nhiều năm qua đã có nhiều công trình nghiên cứu áp dụng những bài thuốc, vị thuốc để điều trị chứng vị quản thống như:

Công trình nghiên cứu tác dụng của Chè dây trong điều trị loét hành tá tràng Vũ Nam (1995) cho kết quả như sau: kết quả làm sạch H.P của Chè dây là 42,5%, tác dụng làm liền sẹo ổ loét hành tá tràng 79,55% [45]. Nghiên cứu về cao Dạ cẩm thấy thuốc có tác dụng giảm đau từ từ và sau 7 ngày đã cắt được cơn đau, thuốc có tác dụng tốt đối với thể nhiệt. Nghiên cứu về Lá khô trên lâm sàng đối với loét dạ dày tá tràng thấy tác dụng giảm đau nhanh, thuốc có tác dụng đối với thể nhiệt, Lá khô dùng đơn độc có thể gây phản ứng xấu với cơ thể.

Nghiên cứu viên thuốc VIFATA điều trị viêm loét dạ dày tá tràng của Phạm Văn Trinh (1995), thấy thuốc có tác dụng tốt trong cắt cơn đau do loét dạ dày tá tràng đạt tỷ lệ 82.5% [46].

Nghiên cứu thuốc BNC trong điều trị viêm dạ dày mãn tính Nguyễn Văn Toàn (2001) thấy tác dụng làm hết đau đạt 89,2%, tỷ lệ hết viêm trên nội soi 75,7%, tỷ lệ diệt HP đạt 59,5% [46].

Nghiên cứu bài thuốc cổ phương Tuyên phúc đại giả thang trong điều trị bệnh nhân GERD của Nguyễn Quang Dương (2018) cho kết quả tốt 15,90%, khá 52,40%, trung bình 27 %, kém 4,80%. Tổng hiệu quả điều trị chung là 95,3% [41].

Nghiên cứu về tác dụng của bài thuốc Cam thảo bạch thược thang gia giảm trong điều trị Bệnh trào ngược dạ dày thực quản của Nguyễn Đức Tuấn (2018) cho kết quả tốt đạt 61,3%; khá đạt 25,8%, không hiệu quả chiếm tỷ lệ 12,9% [46].

1.4. TỔNG QUAN BÀI THUỐC NGHIÊN CỨU

1.4.1. Nguồn gốc bài thuốc

Bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống - HV” có nguồn gốc là bài thuốc nghiệm phương “Kiện tỳ hành khí chỉ tả thang” được trích trong “Nam Y nghiệm phương” của tác giả Nguyễn Đức Đoàn.

Thành phần:

Đảng sâm	16g	Hoài sơn	16g	Bạch truật	16g
Trần bì	10g	Bán hạ	10g	Cam thảo	04g
Sa nhân	06g	Bạch linh	10g	Mộc hương	04g
Chỉ xác	10g	Hậu phác	10g		

Chủ trị các chứng: ỉa chảy mạn tính nguyên nhân do tỳ vị hư. Ăn kém, sắc mặt vàng nhợt, người mệt, chất lưỡi nhợt, mạch nhu hoãn, đại tiện phân sống hoặc nát [7].

1.4.2. Các vị thuốc

1.4.2.1. Đảng sâm

- Tên khoa học: *Radix Codonopsis javanicae* [47], [48], [49].
- Bộ phận dùng: rễ phơi khô của cây Đảng sâm Việt Nam [*Codonopsis javanica* (Blume.) Hook.f.]. Thuộc họ Hoa chuông (*Campanulaceae*).
- Thành phần hóa học: có chất đường, chất béo.
- Tính vị, quy kinh: vị ngọt tính bình. Quy vào hai kinh Tỳ, Vị
- Tác dụng: Bổ trung ích khí, nhuận phế, sinh tân dịch, giải khát
- Liều dùng: 15 – 30g/ ngày, dùng dưới dạng thuốc sắc [47], [48], [49].

1.4.2.2. Hoài sơn

- Tên khoa học: *Rhizoma Dioscoreae persimilis*
- Bộ phận dùng: thân rễ cây củ mài (*Dioscorea persimilis* Prain et Burk) cạo vỏ, sơ bộ chế biến rồi sấy khô, họ Củ nâu (*Dioscoreaceae*).
- Thành phần hóa học: tinh bột, chất mucin (là một loại protit nhớt,

allantonin, acid amin, acginin và cholin). Ngoài ra còn có mantaza là men tiêu hóa mantoza. Về mặt thực phẩm, trong củ mài có chừng 63,25 % chất bột; 0,45% chất béo; 6,75% chất protid.

- Tính vị, quy kinh: vị ngọt tính bình. Quy vào 4 kinh Tỳ, Vị, Phế, Thận.
- Tác dụng: bổ tỳ vị, chỉ tả, bổ phế thận, sinh tân chỉ khát, bình xuyên, sáp tinh.
- Liều dùng: 12 – 30g/ ngày [47], [48], [49].

1.4.2.3. Bạch truật

- Tên khoa học: *Rhizoma Atractylodis macrocephalae*
- Bộ phận dùng: thân rễ phơi hay sấy khô của cây bạch truật (*Atractylodes macrocephala Koidz*). Họ Cúc (*Asteraceae*).
- Thành phần hóa học: có tinh dầu 1,4% (chủ yếu là atractylola và atractylon), có vitamin A
- Tính vị quy kinh: vị ngọt, đắng, tính ôn. Quy kinh Tỳ, Vị.
- Tác dụng: Ích khí kiện tỳ, táo thấp lợi niệu, hòa trung an thai, cố biểu chỉ hãn.
- Liều dùng: 8 – 20g/ ngày [47], [48], [49].

1.4.2.4. Trần bì

- Tên khoa học: *Pericarpium Citri reticulatae*
- Bộ phận dùng: vỏ quả quýt chín đã phơi khô hoặc sấy khô và để lâu năm của cây quýt (*Citrus reticulata Blanco*). Họ Cam (*Rutaceae*).
- Thành phần hóa học: có tinh dầu (3,8%) khi còn tươi, hesperidin, vitamin A và B.
- Tính vị quy kinh: Vị đắng, cay tính ôn. Quy vào phần khí của hai kinh Tỳ và Phế.
- Tác dụng: lý khí kiện tỳ, táo thấp hóa đàm.
- Liều dùng: 04 – 12g/ ngày [47], [48], [49].

1.4.2.5. Bán hạ

- Tên khoa học: *Rhizoma Typhonii*.
- Bộ phận dùng: Bán hạ là thân rễ phơi hay sấy khô và chế biến của cây Chóc chuột *Typhonium trilobatum* (L.) Schott, họ Ráy (*Araceae*).
- Thành phần hóa học: alcaloid, β -sitosterol, sterol và alcaloid.
- Tính vị quy kinh: Vị cay, ôn, có độc. Quy vào kinh Tỳ, Vị.
- Tác dụng: Táo thấp hóa đờm, giáng nghịch chống nôn ọc.
- Liều dùng: 04 – 12 g/ngày [47], [48], [49].

1.4.2.6. Cam thảo nam

- Tên khoa học: *Herba et Radix Scopariae*.
- Bộ phận dùng: toàn cây tươi hoặc phơi hay sấy khô của cây cam thảo đất (*Scoparia dulcis* L.), họ Hoa mõm chó (*Scrophulariaceae*).
- Thành phần hóa học: 3 – 8% glucose; 2,4 – 6,5% sacaroza; 25 – 30% tinh bột; 0,3 – 0,35% tinh dầu; 2- 4% asparagin; 11 – 30mg% vitamin C, các chất anbuyminoit, gôm, nhựa...
- Tính vị quy kinh: vị ngọt, tính bình, quy 12 kinh.
- Tác dụng: bổ tỳ vị, nhuận phế, thanh nhiệt giải độc, điều hòa các vị thuốc.
- Liều lượng: 4 – 12 g/ ngày [47], [48], [49].

1.4.2.7. Sa nhân

- Tên khoa học: *Frutus Amomi*
- Bộ phận dùng: quả gần chín đã bóc vỏ phơi hay sấy khô của cây Sa nhân (*Amomum vilosum* Lour. Và *Amomum longiligulare* T. L. Wu). Thuộc họ gừng (*Zingiberaceae*).
- Thành phần hóa học: 2 – 3% tinh dầu.
- Tính vị quy kinh: vị cay, tính ôn; Quy kinh Tỳ, Vị, Thận.
- Tác dụng: Hành khí, điều trung, hòa vị, làm cho tiêu hóa được dễ dàng.
- Liều dùng: 3 – 6g/ ngày [47], [48], [49].

1.4.2.8. Bạch linh

- Tên khoa học: *Poria cocos Wolf*
- Bộ phận dùng: Thể quả nấm đã phơi sấy khô của nấm Phục linh [*Poria cocos (Schw.)Wolf*]. Thuộc họ Nấm lỗ (*Polyporaceae*), mọc ký sinh trên rễ một số loài thông.
- Thành phần hóa học: các acid có thành phần hợp chất tritecpen; đường đặc biệt của phục linh: Pachyman (75%), glucose, fructose và chất khoáng; ngoài ra còn có ergosterol, cholin, histidin, và ít enzym ptotease.
- Tính vị quy kinh: vị ngọt, tính bình. Quy kinh Tâm, Phế, Thận, Tỳ, Vị.
- Tác dụng: lợi thủy, thẩm thấp, bổ tỳ, định tâm.
- Liều dùng: 9 – 15g/ ngày [47], [48], [49].

1.4.2.9. Mộc hương

- Tên khoa học: *Radix Saussureae lappae*
- Bộ phận dùng: rễ phơi hay sấy khô của cây Mộc hương [*Saussurea lappa (DC) C. B. Clarke*], thuộc họ Cúc (*Asteraceae*).
- Thành phần hóa học: có chừng 1 – 2,8% tinh dầu; 6% chất nhựa sausurin (alcaloid) và chừng 18% chất inulin.
- Tính vị quy kinh: vị cay đắng, tính ôn. Quy kinh Phế, Can, Tỳ.
- Tác dụng: kiện tỳ hòa vị, điều khí chỉ thống, an thai.
- Liều dùng: 6 – 12 g/ ngày [47], [48], [49].

1.4.2.10. Chỉ xác

- Tên khoa học: *Fructus Aurantii*
- Bộ phận dùng: Quả chưa chín đã bỏ đôi, phơi hay sấy khô của cây chỉ xác hoặc cây Cam chua (*Citrus aurantium L.*), họ Cam Rutaceae hoặc cây Cam ngọt (*Citrus sinensis (L.) Osbeck*), họ Cam (*Rutaceae*).
- Thành phần hóa học: 9,89% glucozit.
- Tính vị quy kinh: vị đắng chua, tính hơi hàn. Quy kinh Tỳ, Vị.
- Tác dụng: phá khí, tiêu tích, hóa đờm, trừ bã, lợi cách, khoan hung.
- Liều lượng: 4 – 12g/ ngày [47], [48], [49].

1.4.2.11. Hậu phác

- Tên khoa học: *Cortex Magnoliae officinalis*
- Bộ phận dùng: vỏ thân hay vỏ rễ phơi hay sấy khô của cây hậu phác *Magnolia officinalis* Rehd. et Wils, họ Mộc lan (*Magnoliaceae*)
- Thành phần hóa học: 5% phenol, 1% tinh dầu
- Tính vị quy kinh: vị đắng cay, tính ôn. Quy vào kinh Tỳ, Vị, Phế, Đại trường.
- Tác dụng: giáng khí, tiêu đầy, táo thấp, kiện vị.
- Liều lượng : 3 – 9g/ ngày [47], [48], [49].

1.4.3. Nghiên cứu về bài thuốc

Năm 2015, tác giả Nguyễn Thị Lan cùng cộng sự đánh giá tác dụng giảm nhu động ruột của bài thuốc “Kiện tỳ hành khí chỉ tả” trên thực nghiệm kết quả: Có tác dụng giảm nhu động ruột trên động vật thí nghiệm, giảm mức độ tháo rỗng dạ dày, giảm co bóp đoạn ruột trên chuột *invivo*. Liều 0,2ml/10g/ngày và 0,2ml/10g x 2 lần/ngày làm hạn chế tổn thương đại thể như: cân nặng, tình trạng tiêu chảy, tình trạng viêm tại đại tràng chuột tổn thương do mù tạt, cải thiện tổn thương vi thể thông qua làm giảm các tế bào viêm tại đại tràng [50].

Năm 2019, Bài thuốc “Kiện tỳ hành khí chỉ tả thang” dạng cao lỏng đã được nghiên cứu độc tính cấp tại Bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội có kết quả cho thấy chưa xác định được LD₅₀ trên chuột nhắt trắng, không có biểu hiện độc tính cấp ở liều 2,21thang/kg tương đương 260,78g dược liệu/kg, ở liều gấp 9,2 lần liều trên người nhưng không có độc tính cấp trên chuột nhắt, theo đường uống. (Tính người lớn trưởng thành 50kg, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt 12, liều tối đa 1 thang/người/ngày) [51].

Năm 2019, Dương Thị Quyên tiến hành đánh giá tác dụng điều trị Hội chứng ruột kích thích của bài thuốc “Kiện tỳ hành khí chỉ tả thang” trên lâm sàng cho kết quả: Bài thuốc “Kiện tỳ hành khí chỉ tả thang” kết hợp với Smecta có hiệu quả tốt trong việc cải thiện triệu chứng lâm sàng trên bệnh nhân mắc

Hội chứng ruột kích thích thể lỏng theo YHHD và thể Tỳ hư khí trệ, Tỳ hư đàm thấp theo YHCT với mức tốt đạt 67,6%, khá đạt 29,7%, điểm trung bình BSS giảm từ $8,68 \pm 1,93$ xuống còn $1,22 \pm 1,57$. Hiệu quả của bài thuốc “Kiện tỳ hành khí chỉ tả thang” kết hợp với Smecta cải thiện lâm sàng tốt hơn so với nhóm dùng Smecta đơn thuần với kết quả điều trị chung: mức tốt đạt 67,6%, khá đạt 29,7% cao hơn rõ rệt so với nhóm đối chứng: mức tốt đạt 20,0%, khá đạt 51,4% [41].

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

2.1.1. Chất liệu nghiên cứu

Bài thuốc “Kiện tỳ chỉ thống - HV” với dạng bột cầm có nguồn gốc từ bài “Kiện tỳ hành khí chỉ tả thang” được trích trong “Nam Y nghiệm phương” của tác giả Nguyễn Đức Đoàn.

Bảng 2.1. Công thức bài thuốc “Kiện tỳ chỉ thống - HV”

TT	Tên vị thuốc (Cao khô được liệu)	Tên khoa học	Liều lượng (mg)
1	Đảng sâm	<i>Radix Codonopsis javanicae</i>	1500mg
2	Hoài sơn	<i>Rhizoma Dioscoreae persimilis</i>	1500mg
3	Bạch truật	<i>Rhizoma Atractylodis macrocephalae</i>	1500mg
4	Trần bì	<i>Pericarpium Citri reticulatae peren 54n</i>	900mg
5	Bán hạ	<i>Rhizoma Typhonii</i>	900mg
6	Cam thảo nam	<i>Herba et Radix Scopariae</i>	600mg
7	Sa nhân	<i>Frutus Amomi</i>	900mg
8	Bạch linh	<i>Poria Cocos Wolf</i>	1200mg
9	Mộc hương	<i>Radix Saussureae lappae</i>	900mg
10	Chỉ xác	<i>Fructus Aurantii</i>	900mg
11	Hậu phác	<i>Cortex Magnoliae officinalis</i>	1200mg
Tá dược vừa đủ			

- Dạng bào chế: Thuốc dạng bột (1 thang thuốc 124 g dược liệu ≈ 5 gói bột, 3g/gói).

- Liều trên người: 5 gói thuốc bột/ngày, 3g/gói. Liều tương đương dự kiến dùng trên chuột cống trắng, theo hệ số 6 là: 1,8 g/kg/ngày (0,6 gói/kg/ngày)

- Thuốc nghiên cứu được bào chế tại Viện nghiên cứu - Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam.

Nguồn thuốc được cung cấp tại Viện dược liệu Trung ương theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V và tiêu chuẩn cơ sở.

- Quy trình bào chế và tiêu chuẩn của mẫu nghiên cứu được trình bày trong mục đính kèm riêng.

2.1.2. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống - HV” trên thực nghiệm:

- Chuột cống trắng chủng *Wistar*, cả hai giống, khỏe mạnh, cân nặng 210 ± 30 g. Động vật được nuôi 5-7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu trong điều kiện phòng thí nghiệm với đầy đủ thức ăn và nước uống tại Bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội.

Nghiên cứu tác dụng của bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống - HV” trên mô hình Trào ngược dạ dày thực quản trên thực nghiệm.

- Chuột cống trắng chủng *Wistar*, cả hai giống, khỏe mạnh, cân nặng 220 ± 30 g. Động vật được nuôi 5-7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu trong điều kiện phòng thí nghiệm với đầy đủ thức ăn và nước uống tại Bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội.



Hình 2.1. Chuột cống trắng chủng *Wistar*

2.2. DỤNG CỤ, PHƯƠNG TIỆN, TRANG THIẾT BỊ NGHIÊN CỨU

2.2.1. Thuốc, hóa chất

Kít định lượng các enzym và chất chuyển hóa trong máu: ALT (alaninaminotransferase), AST (aspartat aminotransferase), bilirubin toàn phần, albumin, cholesterol toàn phần, creatinin của hãng Erba (Đức)

- Các hóa chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học.
- Esomeprazol 10 mg (Nexium 10 mg, cốm pha hỗn dịch uống Astra Zeneca)
- Indomethacin 25 mg (Công ty cổ phần dược phẩm Hà Tây)
- Thuốc thử Toper và Phenolphtalein
- Dung dịch chuẩn độ NaOH 0,1 N
- Các hóa chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học.

2.2.2. Dụng cụ, trang thiết bị

- Máy xét nghiệm sinh hóa bán tự động Erba Chem 5 V3 (Đức)
- Máy xét nghiệm huyết học ABX Micros ES 60 của Pháp.
- Máy li tâm.
- Máy đo pH Dynamica pH Master LAB
- Máy ảnh
- Phần mềm Image J

2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.3.1. Thiết kế nghiên cứu.

Nghiên cứu thử nghiệm trên động vật thực nghiệm

2.3.2. Cỡ mẫu

Chọn chuột có trọng lượng theo mục đích nghiên cứu:

- Nghiên cứu độc tính bán trường diễn: 30 con chuột cống trắng chủng *Wistar*, cả hai giống, khỏe mạnh, cân nặng 210 ± 30 g.
- Mô hình Trào ngược dạ dày thực quản trên thực nghiệm: 45 con chuột cống trắng chủng *Wistar*, cả 2 giống, khỏe mạnh, cân nặng 220 ± 30 g.

2.3.3. Quy trình nghiên cứu

2.3.3.1. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống - HV” theo đường uống trên chuột cống trắng [52], [53], [54].

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống - HV” theo đường uống trên chuột cống trắng được tiến hành theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới về thuốc có nguồn gốc dược liệu [55].

Chuột cống trắng được chia làm 3 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 (chứng sinh học) (n = 10): uống dung môi pha thuốc 10mL/kg/ngày.

- Lô trị 1 (n = 10): uống “KTHV” liều 1,8 g/kg/ngày (liều có tác dụng tương đương liều dự kiến trên người, tính theo hệ số 6).

- Lô trị 2 (n = 10): uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 5,4 g/kg/ngày (gấp 3 lần lô trị 1).

Chuột được uống nước hoặc thuốc thử trong 4 tuần liên tục, mỗi ngày một lần vào buổi sáng.

2.3.3.2. Nghiên cứu tác dụng chống trào ngược dạ dày thực quản của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” trên mô hình gây Trào ngược dạ dày thực quản thực nghiệm [56], [57], [58], [59].

Nghiên cứu tác dụng của bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống – HV” (KTHV) trên mô hình gây trào ngược dạ dày - thực quản trên chuột cống trắng được tiến hành theo phương pháp của Koji Takeuchi [62].

Chuột cống trắng được chia làm 5 lô, mỗi lô 9 con. Tất cả chuột được đánh số mã hóa, nghiên cứu viên phẫu thuật được làm mù để không biết được chuột nào ở lô nào nhằm mục đích hạn chế sai số.

- Lô 1 (chứng sinh học) (n = 9): uống dung môi pha thuốc 10mL/kg/ngày

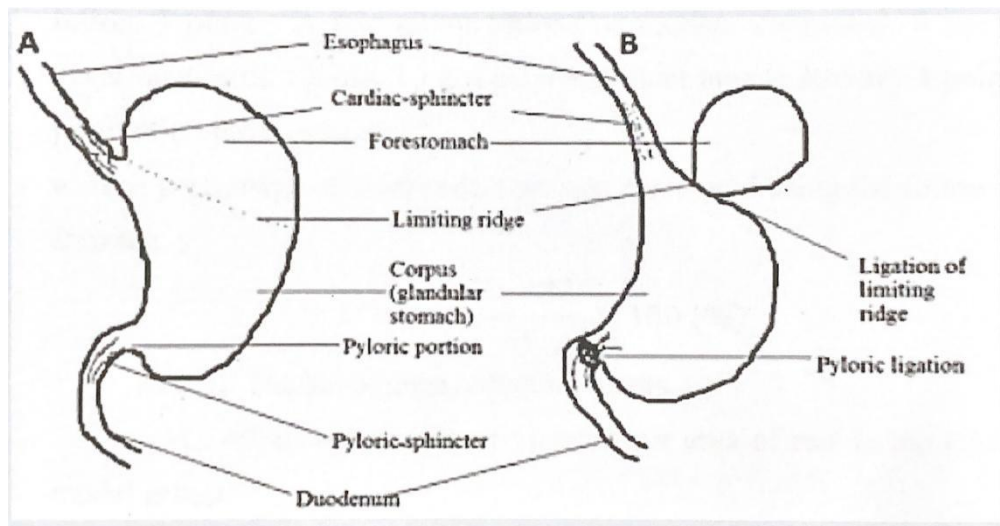
- Lô 2 (Mô hình) (n = 9): uống nước cất 10 mL/kg + uống indomethacin 40 mg/kg, uống 10 mL/kg.

- Lô 3 (chứng dương) (n = 9): uống esomeprazol 10 mg/kg + uống indomethacin 40 mg/kg, uống 10 mL/kg.

- Lô 4 (KTHV liều cao) (n = 9): uống KTHV liều 3,6 g/kg/ngày (gấp 2 lần liều thấp) + indomethacin 40 mg/kg, uống 10 mL/kg.

- Lô 5 (KTHV liều thấp) (n = 9): uống KTHV liều 1,8 g/kg/ngày (liều có tác dụng tương đương liều dự kiến trên người, tính theo hệ số 6) + indomethacin 40 mg/kg, uống 10 mL/kg.

Chuột ở các lô 1 đến 5 được uống dung môi pha thuốc/thuốc thử liên tục trong thời gian 7 ngày. Ngày thứ 7 của nghiên cứu, sau khi uống thuốc thử một giờ, tiến hành cho chuột uống indomethacin. Chuột ở các lô 2-5 được gây mô hình trào ngược dạ dày thực quản bằng cách mở ổ bụng, thắt dạ dày ở 2 vị trí: vị trí 1 là vị trí giao giữa đáy vị và thân vị, vị trí 2 là tại môn vị. Đóng ổ bụng, sau 6h chuột được kéo cột sống cổ, bộc lộ thực quản và dạ dày. Lấy lượng dịch chứa bên trong dạ dày vào ống ly tâm có chia độ để đo thể tích dịch vị, pH, acid tự do và acid toàn phần của dịch vị. Mở thực quản và dạ dày bằng kéo theo đường bờ cong lớn, rửa trong nước muối sinh lý lạnh, cố định thực quản và dạ dày. Quan sát bằng kính lúp độ phóng đại 10 lần, đánh giá mức độ loét theo thang điểm của Jonni Sharma và cộng sự (2014) [60].



Hình 2.2. Mô hình nghiên cứu GERD trên chuột cống trắng.

2.3.4. Các chỉ số theo dõi, đánh giá trong nghiên cứu

2.3.4.1. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống

- HV” theo đường uống trên chuột cống trắng

Các chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình nghiên cứu:

- Tình trạng chung, thể trọng của chuột cống trắng.
- Đánh giá chức phận tạo máu thông qua số lượng hồng cầu, thể tích trung bình hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu.
- Đánh giá chức năng gan thông qua định lượng một số chất chuyển hoá trong máu: bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol toàn phần.
- Đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan thông qua định lượng hoạt độ enzym trong máu: AST, ALT.
- Đánh giá chức năng thận thông qua định lượng nồng độ creatinin huyết thanh.
- Các thông số theo dõi được kiểm tra vào trước lúc uống thuốc, sau 2 tuần và sau 4 tuần uống thuốc.
- Mô bệnh học: Sau 4 tuần uống thuốc, chuột cống trắng được mổ để quan sát đại thể toàn bộ các cơ quan. Kiểm tra ngẫu nhiên cấu trúc vi thể gan, thận của 30% số chuột cống trắng ở mỗi lô. Các xét nghiệm vi thể được thực hiện tại khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện 103.

2.3.4.2. Nghiên cứu tác dụng chống trào ngược dạ dày thực quản của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” trên mô hình gây Trào ngược dạ dày thực quản trên thực nghiệm.

- **Thể tích dịch vị:** Thể tích dịch vị tính theo 100 g cân nặng: đo thể tích dịch vị từng chuột cống trắng, tính theo 100 g 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 tự do, độ acid toàn phần:** bằng phương pháp chuẩn độ acid - base, dùng dung dịch NaOH 0,01N. Xác định độ acid tự do 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

- **Chụp ảnh và tính diện tích tổn thương:** đánh giá theo thang điểm từ đó tính chỉ số thực quản (oesophageal index– OI) được tính bằng điểm mức độ loét trung bình của mỗi lô

- 0: không tổn thương
- 1: 1 vài tổn thương, trợt biểu mô niêm mạc
- 2: <30 mm² (diện tích tổn thương < 30mm²)
- 3: >30 mm²(diện tích tổn thương >30mm²)
- 4: thủng.

- **Tỷ lệ giảm loét:** tính theo công thức:

$$I (\%) = (AC - AT)/AC \times 100 (\%)$$

Trong đó:

- I (%) là phần trăm giảm loét;
- AC: trị số trung bình diện tích loét niêm mạc thực quản của các chuột ở lô mô hình;
- AT: trị số trung bình diện tích loét niêm mạc thực quản chuột ở lô dùng mẫu thử.

- **Mô bệnh học:** Kết thúc nghiên cứu, kiểm tra ngẫu nhiên cấu trúc vi thể thực quản của 30% số chuột cống trắng ở mỗi lô. Các xét nghiệm vi thể được thực hiện tại khoa Giải phẫu bệnh – Bệnh viện 103.

2.4. ĐỊA ĐIỂM, THỜI GIAN NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được tiến hành tại Bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội.

Thời gian từ tháng 06 năm 2022 đến tháng 12 năm 2022.

2.5. XỬ LÝ VÀ PHÂN TÍCH SỐ LIỆU

- Nghiên cứu độc tính bán trường diễn: Các số liệu nghiên cứu được thu thập và xử lý bằng phương pháp thống kê y sinh học theo t-test-Student và test trước sau (Avant-après). Biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa

thống kê khi $p < 0,05$.

- Nghiên cứu tác dụng trên mô hình gây trào ngược dạ dày thực quản trên thực nghiệm: Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và SPSS 22.0, sử dụng test thống kê thích hợp. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.6. SAI SỐ VÀ CÁCH KHÔNG CHẾ SAI SỐ

- Sai số các phương pháp thu thập số liệu.

- Các phương pháp được áp dụng để hạn chế tối đa các sai số có thể xảy ra trong quá trình thu thập, phân tích và xử lý số liệu:

+ Động vật nghiên cứu được lựa chọn tương đối đồng đều, khỏe mạnh, không có dị tật hay dấu hiệu bất thường. Thời gian thực hiện các bước thí nghiệm giữa các lô chuột là thống nhất cùng một thời điểm.

+ Số liệu được đo đạc cẩn thận và chính xác bằng các dụng cụ, máy móc tại phòng thí nghiệm. Lưu trữ số liệu, thông tin bằng sổ ghi chép, chụp ảnh. Xử lý số liệu bằng phần mềm chuyên dụng trên máy tính.

2.7. ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được thực hiện trên chuột cống trắng, số lượng động vật sử dụng trong các mô hình thí nghiệm được hạn chế ở mức tối thiểu, đủ để thu được kết quả đảm bảo độ tin cậy và đủ xử lý thống kê.

Những chuột chết trong quá trình làm thí nghiệm (nếu có) và số chuột sau khi thí nghiệm hoàn thành đều được xử lý theo đúng quy định.

Việc lựa chọn động vật thí nghiệm, điều kiện nuôi, chăm sóc và sử dụng động vật đều tuân thủ chặt chẽ theo “Hướng dẫn nội dung cơ bản thẩm định kết quả nghiên cứu tiền lâm sàng thuốc tân dược, thuốc cổ truyền, vắc xin và sinh phẩm y tế” của Bộ Y tế

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA BỘT CÓM “KIỆN TỶ CHỈ THỐNG - HV” THEO ĐƯỜNG UỐNG TRÊN CHUỘT CÔNG TRẮNG

3.1.1. Tình trạng chung

Trong thời gian thí nghiệm, chuột ở các lô hoạt động bình thường, ăn uống tốt, nhanh nhẹn, lông mượt, mắt sáng, phân khô.

3.1.2. Sự thay đổi thể trọng chuột

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến thể trọng chuột

Thời gian	Lô chứng		Lô trị 1		Lô trị 2	
	Trọng lượng (g)	% thay đổi trọng lượng	Trọng lượng (g)	% thay đổi trọng lượng	Trọng lượng (g)	% thay đổi trọng lượng
Trước uống thuốc	189,00 ± 14,49		190,00 ± 20,55		204,00 ± 18,38	
Sau 2 tuần uống thuốc	194,00 ± 17,13	↑2,6	201,00 ± 20,79	↑5,8	213,00 ± 24,06	↑4,9
<i>p</i> trước – sau	> 0,05		> 0,05		> 0,05	
p (t-test Student)			> 0,05		> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	198,00 ± 22,01	↑4,8	204,00 ± 20,66	↑7,4	223,00 ± 24,06	↑ 9,3
<i>p</i> trước – sau	> 0,05		> 0,05		< 0,05	
p (t-test Student)			> 0,05		< 0,05	

Kết quả ở bảng 3.1 cho thấy: sau 4 tuần uống thuốc thử, trọng lượng chuột ở cả 3 lô (lô chứng và 2 lô trị) đều tăng so với trước khi nghiên cứu.

Trọng lượng chuột ở lô uống “Kiện tỳ chỉ thông- HV” liều cao tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p < 0,05$).

3.1.3. Đánh giá chức năng tạo máu

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thông - HV” đến số lượng hồng cầu trong máu chuột công trắng

Thời gian	Số lượng hồng cầu (T/l)			p (t- test Student)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	8,28 ± 0,67	8,93 ± 0,62	8,30 ± 1,08	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	8,50 ± 1,12	9,14 ± 1,15	9,04 ± 1,28	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	9,03 ± 1,13	8,43 ± 1,19	9,20 ± 0,75	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở bảng 3.2 cho thấy: Sau 2 tuần và 4 tuần uống thuốc thử, xét nghiệm đánh giá chức năng tạo máu về số lượng hồng cầu ở cả lô trị 1 (uống “Kiện tỳ chỉ thông - HV” liều tương đương liều dự kiến dùng lâm sàng 1,8 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống “Kiện tỳ chỉ thông - HV” liều gấp 3 lần lâm sàng 5,4 g/kg/ngày) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột

Thời gian	Hàm lượng huyết sắc tố (g/dl)			p (t-test Student)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	11,12 ± 1,01	11,61 ± 2,34	10,85 ± 1,69	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	11,27 ± 1,03	11,59 ± 1,44	11,45 ± 1,76	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	11,20 ± 1,22	10,57 ± 1,11	11,41 ± 1,00	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở bảng 3.3 cho thấy: Tại thời điểm sau 2 tuần và 4 tuần uống mẫu thử, ở cả lô trị 1 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 1,8 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 5,4 g/kg/ngày) hàm lượng huyết sắc tố không có sự khác biệt so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến hematocrit trong máu chuột

Thời gian	Hematocrit (%)			(t-test Student)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	44,27 ± 4,64	47,42 ± 3,06	45,15 ± 3,13	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	44,89 ± 5,79	48,27 ± 3,70	47,11 ± 6,43	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	45,98 ± 5,93	46,71 ± 3,75	47,01 ± 4,66	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở bảng 3.4 cho thấy: sau 2 tuần và 4 tuần uống thuốc thử, các xét nghiệm đánh giá hematocrit ở cả lô trị 1 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV”

liều 1,8 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 5,4 g/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$)

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột

Thời gian	Thể tích trung bình hồng cầu (fl)			p (t- test Student)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	51,70 ± 2,45	52,50 ± 1,78	52,40 ± 1,51	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	52,80 ± 1,32	52,70 ± 2,26	51,90 ± 1,60	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	51,00 ± 2,31	51,50 ± 1,18	51,40 ± 2,12	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở bảng 3.5 cho thấy: sau 4 tuần uống mẫu thử, các xét nghiệm đánh giá thể tích trung bình hồng cầu ở cả lô trị 1 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 1,8 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 5,4 g/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$)

Bảng 3.6. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến số lượng bạch cầu trong máu chuột

Thời gian	Số lượng bạch cầu (G/l)			p (t- test Student)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	6,71 ± 1,67	6,85 ± 1,60	6,24 ± 0,83	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	7,50 ± 1,96	7,49 ± 2,23	6,64 ± 1,43	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	7,09 ± 1,89	6,79 ± 1,53	6,95 ± 1,96	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở bảng 3.6 cho thấy: Sau 4 tuần uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV”, xét nghiệm đánh giá số lượng bạch cầu ở lô trị 1 (uống thuốc thử liều tương đương lâm sàng 1,8 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 5,4 g/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến công thức bạch cầu trong máu chuột

Thời gian	Công thức bạch cầu						p (t- test Student)
	Lô chứng		Lô trị 1		Lô trị 2		
	Lympho (%)	Trung tính (%)	Lympho (%)	Trung tính (%)	Lympho (%)	Trung tính (%)	
Trước uống thuốc	74,56 ± 7,38	15,70 ± 5,15	75,68 ± 6,31	14,01 ± 4,25	74,31 ± 8,16	12,99 ± 4,39	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	70,16 ± 6,95	17,09 ± 4,37	71,02 ± 8,12	15,19 ± 4,82	70,53 ± 9,09	16,48 ± 4,99	> 0,05
p (trước- sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	69,77 ± 8,63	15,88 ± 4,34	69,01 ± 5,90	17,54 ± 3,19	70,32 ± 8,88	14,54 ± 4,27	> 0,05
p (trước- sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở bảng 3.7 cho thấy: sau 2 tuần và 4 tuần uống mẫu thử, công thức bạch cầu ở cả lô trị 1 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 1,8 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 5,4 g/kg/ngày) không có sự khác

biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến số lượng tiểu cầu trong máu chuột

Thời gian	Số lượng tiểu cầu (G/l)			p (t- test Student)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	559,50 ± 105,76	563,50 ± 120,34	517,40 ± 112,34	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	579,70 ± 111,57	589,40 ± 110,84	551,40 ± 95,86	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	612,50 ± 105,65	584,30 ± 90,07	551,60 ± 106,10	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở bảng 3.8 cho thấy: sau 4 tuần uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV”, số lượng tiểu cầu ở cả lô trị 1 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 1,8 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 5,4 g/kg/ngày) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

3.1.4. Đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến hoạt độ AST (GOT) trong máu chuột

Thời gian	Hoạt độ AST (UI/l)			p (t-test Student)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	73,50 ± 10,06	73,90 ± 8,41	66,90 ± 12,26	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	69,40 ± 9,37	78,60 ± 11,68	73,40 ± 14,45	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	73,20 ± 13,88	69,00 ± 10,85	79,10 ± 14,17	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở các bảng 3.9 cho thấy: sau 2 tuần và 4 tuần uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV”, xét nghiệm đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan thông qua hoạt

độ AST trong máu chuột ở cả lô trị 1 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 1,8 g/kg/ngày) lô trị 2 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 5,4 g/kg/ngày) 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 ($p > 0,05$).

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến hoạt độ ALT (GPT) trong máu chuột

Thời gian	Hoạt độ ALT (UI/l)			p (t-test Student)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	27,30 ± 5,25	30,70 ± 6,13	31,10 ± 6,17	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	32,70 ± 5,68	34,80 ± 8,78	34,30 ± 6,36	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	27,20 ± 2,66	29,40 ± 7,55	31,50 ± 7,41	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở các bảng 3.10 cho thấy: sau 2 tuần và 4 tuần uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV”, xét nghiệm đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan (hoạt độ ALT trong máu chuột) ở lô trị 1 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 1,8 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 5,4 g/kg/ngày) 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 ($p > 0,05$).

3.1.5. Đánh giá chức năng gan

Bảng 3.11. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến nồng độ bilirubin toàn phần trong máu chuột

Thời gian	Bilirubin toàn phần (mmol/l)			p (t- test Student)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	10,15 ± 0,78	9,96 ± 0,91	9,70 ± 0,72	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	9,68 ± 0,91	9,72 ± 1,19	9,46 ± 0,99	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	9,77 ± 0,78	9,40 ± 0,91	9,88 ± 1,02	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở bảng 3.11 cho thấy: sau 4 tuần uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV”, xét nghiệm đánh giá chức năng gan thông qua nồng độ bilirubin toàn phần trong

máu chuột ở cả lô trị 1 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 1,8 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 5,4 g/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 ($p > 0,05$).

Bảng 3.12. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến nồng độ albumin trong máu chuột

Thời gian	Albumin (g/dl)			p (t-test Student)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	2,60 ± 0,18	2,70 ± 0,22	2,70 ± 0,23	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	2,73 ± 0,23	2,82 ± 0,16	2,81 ± 0,23	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	2,67 ± 0,34	2,69 ± 0,25	2,58 ± 0,10	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở bảng 3.12 cho thấy: xét nghiệm đánh giá chức năng gan nồng độ albumin trong máu chuột ở lô trị 1 và lô trị 2 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 4 tuần ($p > 0,05$).

Bảng 3.13. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến nồng độ cholesterol toàn phần trong máu chuột

Thời gian	Cholesterol toàn phần (mmol/l)			p (t- test Student)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	1,26 ± 0,16	1,49 ± 0,33	1,23 ± 0,22	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	1,38 ± 0,17	1,44 ± 0,18	1,33 ± 0,14	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	1,37 ± 0,13	1,38 ± 0,20	1,27 ± 0,21	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở bảng 3.13 cho thấy cho thấy: Tại thời điểm sau 4 tuần uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV”, xét nghiệm đánh giá nồng độ cholesterol toàn phần

trong máu chuột ở cả lô trị 1 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 1,8 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 5,4 g/kg/ngày) 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 4 tuần ($p > 0,05$).

3.1.6. Đánh giá chức năng thận

Bảng 3.14. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến nồng độ creatinin trong máu chuột

Thời gian	Creatinin (mg/dl)			p (t- test Student)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	0,81 ± 0,14	0,79 ± 0,16	0,87 ± 0,15	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	0,81 ± 0,15	0,80 ± 0,18	0,82 ± 0,15	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	0,75 ± 0,13	0,82 ± 0,16	0,88 ± 0,18	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

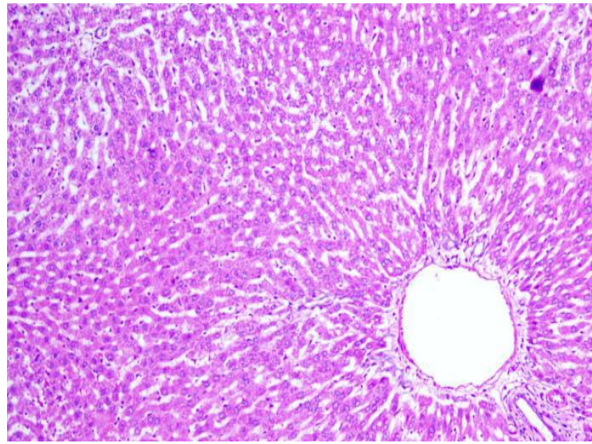
Kết quả ở bảng 3.14 cho thấy: sau 4 tuần uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV”, ở cả lô trị 1 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 1,8 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 5,4 g/kg/ngày), nồng độ creatinin trong máu chuột không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

3.1.7. Hình ảnh đại thể và vi thể cơ quan sau 4 tuần nghiên cứu

- **Hình ảnh đại thể:** Trên tất cả các chuột nghiên cứu (lô chứng và 2 lô trị), không quan sát thấy có thay đổi bệnh lý nào về mặt đại thể của các cơ quan: tim, phổi, gan, lách, tụy, thận và hệ thống tiêu hóa của chuột.

- Hình ảnh vi thể gan:

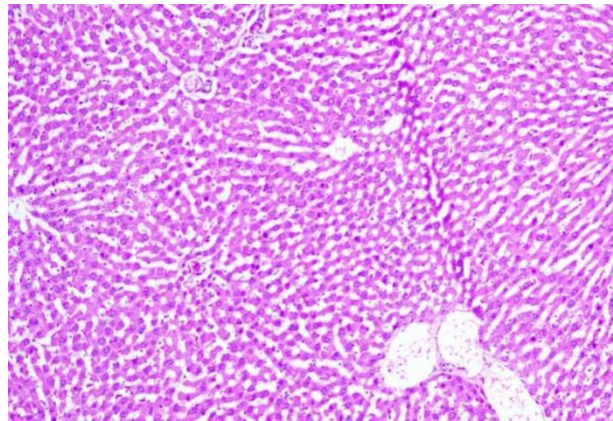
- + Lô chứng sinh học: 3/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh gan bình thường
- + Lô trị 1: 3/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh gan bình thường
- + Lô trị 2: 3/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh gan bình thường



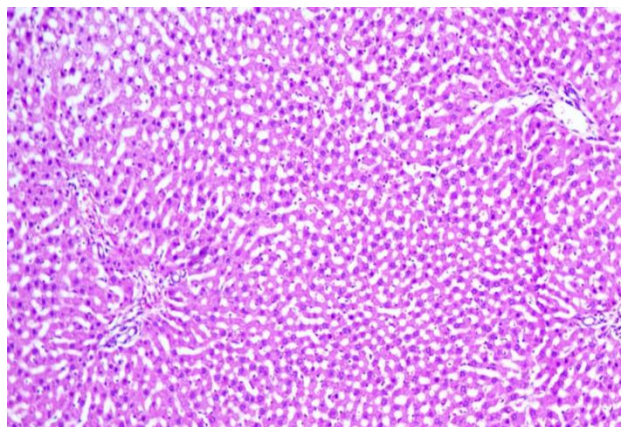
Hình 3.1: Hình thái vi thể gan chuột lô chứng (chuột #03) (HE x 100)

(HE 10 x 10: Nhuộm Hematoxylin - Eosin, độ phóng đại 100 lần)

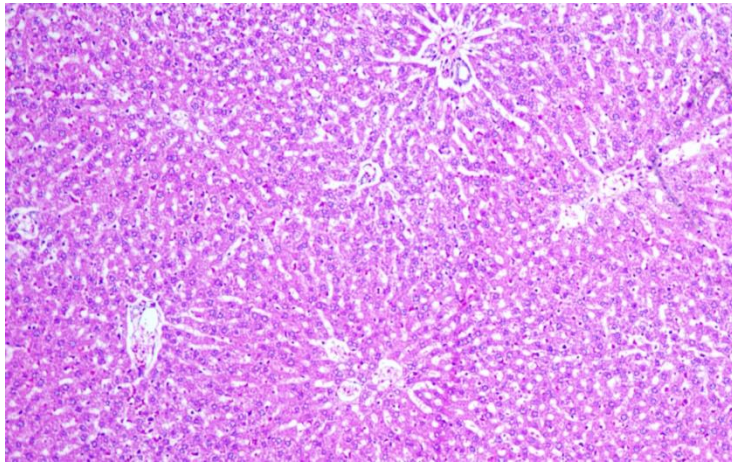
Tế bào gan bình thường



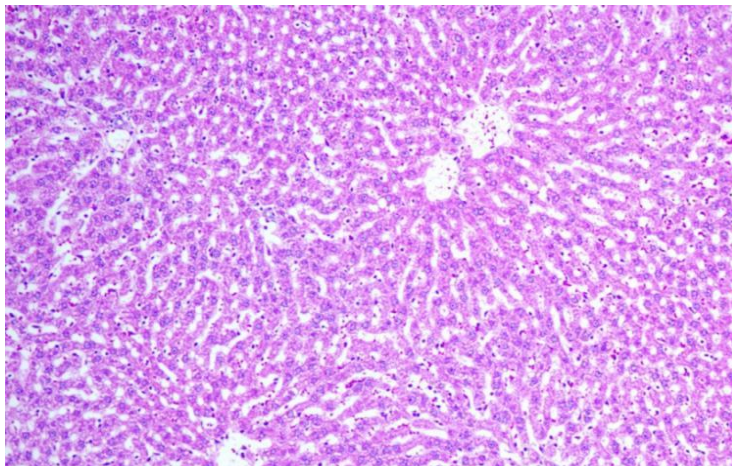
Hình 3.2: Hình thái vi thể gan chuột lô chứng (chuột #05) (HE x 100)



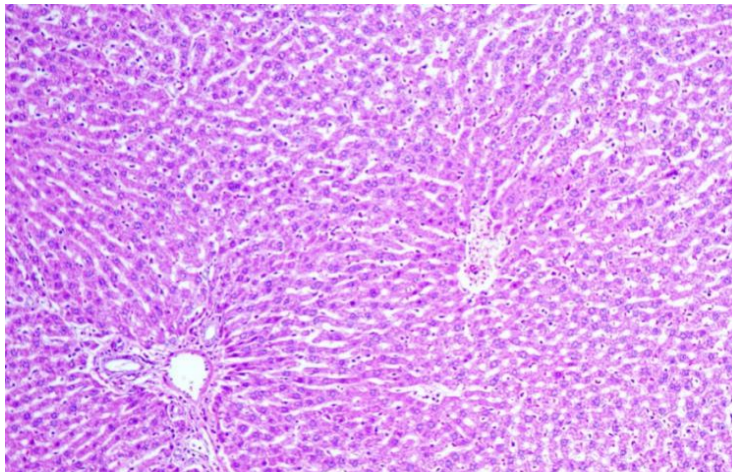
Hình 3.3: Hình thái vi thể gan chuột lô chứng (chuột #06) (HE x 100)



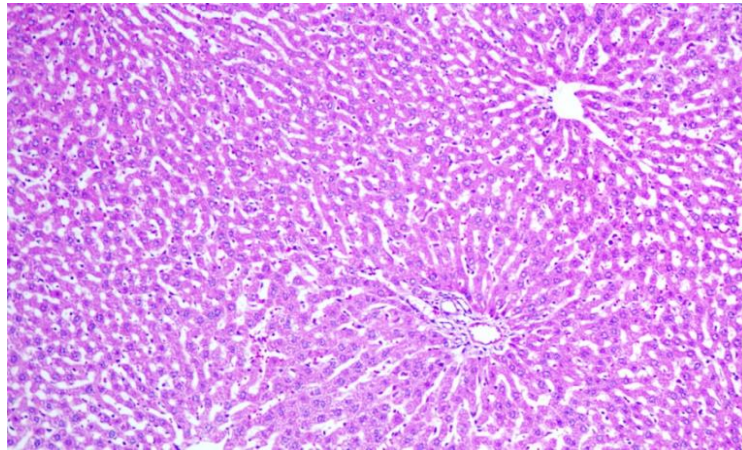
Hình 3.4: Hình thái vi thể gan chuột lô trị 1 (chuột #11) (HE x 100)



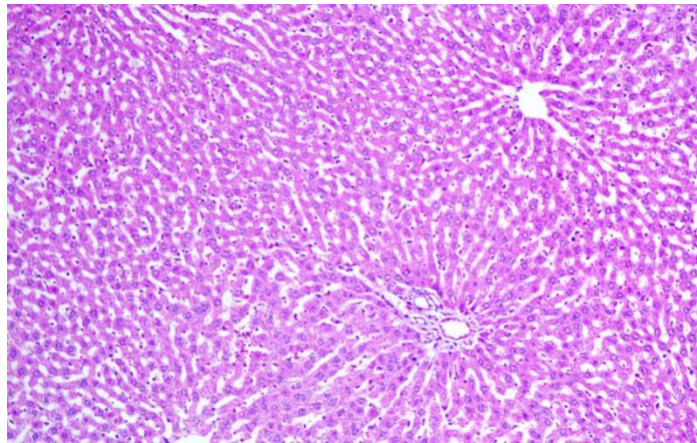
Hình 3.5: Hình thái vi thể gan chuột lô trị 1 (chuột #16) (HE x 100)



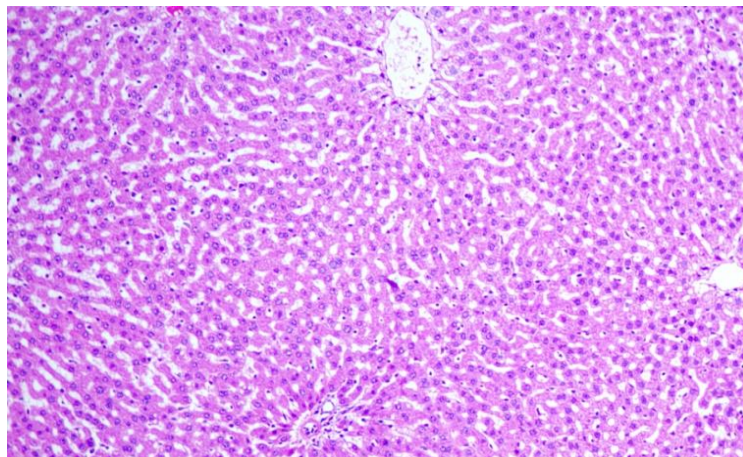
Hình 3.6: Hình thái vi thể gan chuột lô trị 1 (chuột # 20) (HE x 400)



Hình 3.7: Hình thái vi thể gan chuột lô trị 2 (chuột #25) (HE x 100)



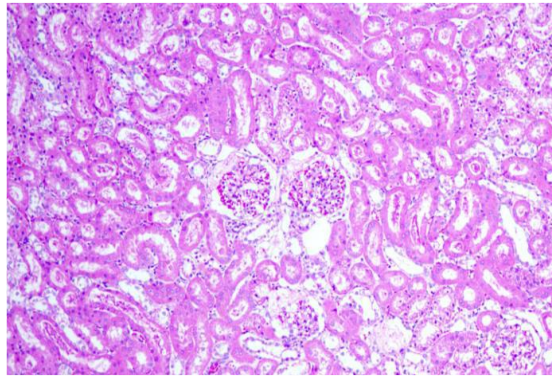
Hình 3.8: Hình thái vi thể gan chuột lô trị 2 (chuột #26) (HE x 100)



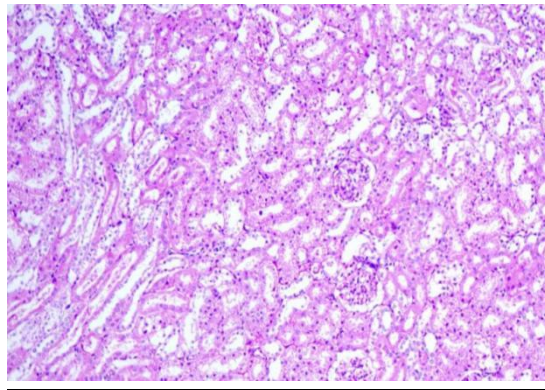
Hình 3.9: Hình thái vi thể gan chuột lô trị 2 (chuột #28) (HE x 100)

- Hình ảnh vi thể thận

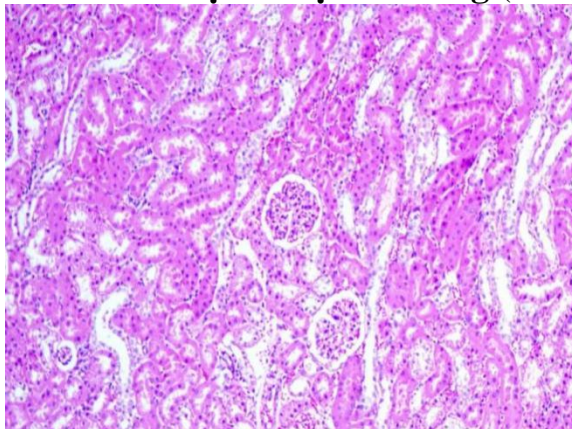
- + Lô chứng sinh học: 3/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh thận bình thường
- + Lô trị 1: 3/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh thận bình thường
- + Lô trị 2: 3/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh thận bình thường



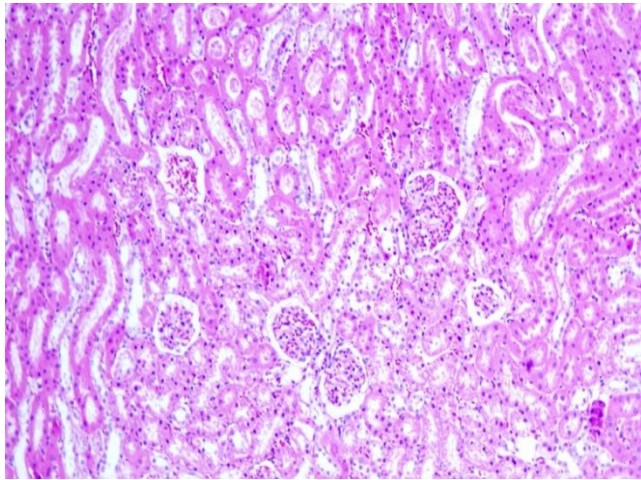
Hình 3.10: Hình thái vi thể thận chuột lô chứng (chuột #03) (HE x 100)



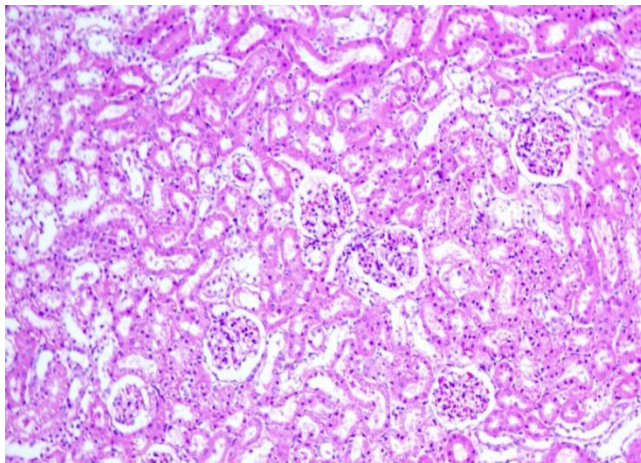
Hình 3.11: Hình thái vi thể thận chuột lô chứng (chuột #05) (HE x 100)



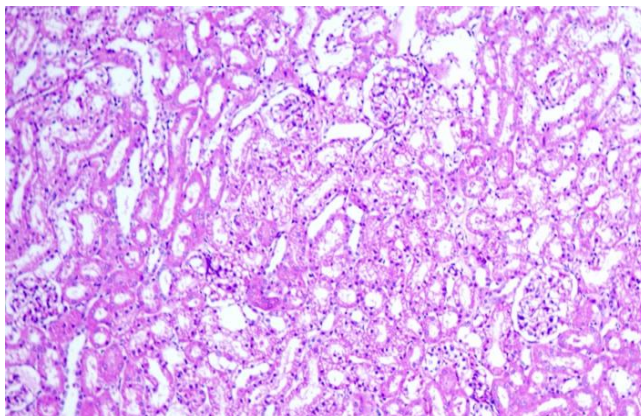
Hình 3.12: Hình thái vi thể thận chuột lô chứng (chuột #06) (HE x 100)



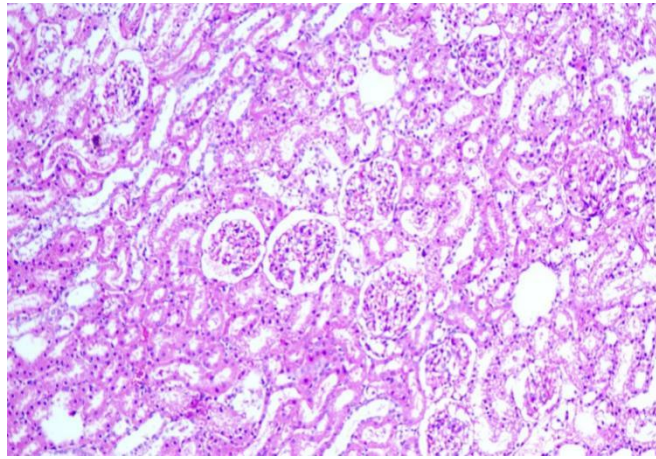
Hình 3.13: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 1 (chuột #11) (HE x 100)



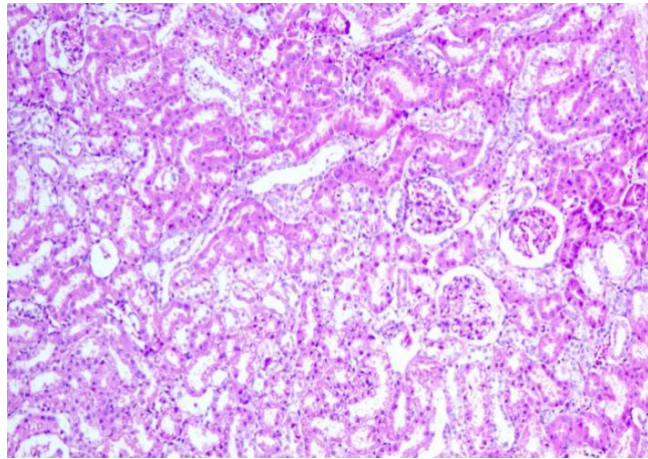
Hình 3.14: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 1 (chuột #16) (HE x 100)



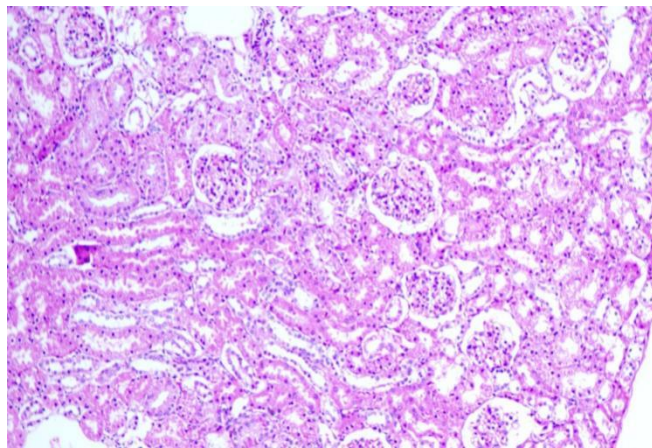
Hình 3.15: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 1 (chuột # 20) (HE x 100)



Hình 3.16: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 2 (chuột #25) (HE x 100)



Hình 3.17: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 2 (chuột #26) (HE x 100)



Hình 3.18: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 2 (chuột #28) (HE x 100)

3.2 Nghiên cứu tác dụng chống trào ngược của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” trên mô hình gây trào ngược dạ dày thực quản trên thực nghiệm

3.2.1. Tác dụng của KTHV trên chức năng bài tiết dịch vị của dạ dày

Bảng 3.15. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống – HV” đến thể tích dịch vị

<i>Lô nghiên cứu</i>	<i>n</i>	<i>Thể tích dịch vị (ml/100g) ($\bar{X} \pm SD$)</i>
Lô 1: Chứng sinh học	9	0,206 ± 0,06
Lô 2: Mô hình	9	1,810 ± 0,44***
Lô 3: Esomeprazol	9	1,379 ± 0,32 ^Δ
Lô 4: KTHV 3,6 g/kg/ngày	9	1,686 ± 0,45
Lô 5: KTHV 1,8 g/kg/ngày	9	1,724 ± 0,473

* so với chứng sinh học: $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$

Δ so với mô hình: $p < 0,05$; ΔΔ: $p < 0,01$; ΔΔΔ: $p < 0,001$

Kết quả ở bảng 3.15 cho thấy:

- Sau 7 ngày nghiên cứu, thể tích dịch vị dạ dày ở lô mô hình tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p < 0,001$).

- Lô chuột uống esomeprazol làm giảm thể tích dịch vị có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p < 0,05$).

- KTHV ở cả 2 mức liều đều có xu hướng làm giảm thể tích dịch vị so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.16. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống – HV” đến pH, độ acid tự do, độ acid toàn phần

<i>Lô nghiên cứu</i>	<i>n</i>	<i>pH dịch vị</i>	<i>Độ acid tự do (Meq/l/100g)</i>	<i>Độ acid toàn phần (Meq/l/100 g)</i>
Lô 1: Chứng sinh học	9	2,68 ± 0,65	16,87 ± 5,01	41,97 ± 13,08
Lô 2: Mô hình	9	2,00 ± 0,39*	23,81 ± 4,77**	54,90 ± 11,03*
Lô 3: Esomeprazol	9	3,76 ± 0,94 ^{ΔΔΔ}	13,07 ± 3,35 ^{ΔΔΔ}	32,02 ± 9,24 ^{ΔΔΔ}
Lô 4: KTHV 3,6 g/kg/ngày	9	3,22 ± 1,05 ^{ΔΔ}	18,40 ± 6,12	35,96 ± 10,21 ^{ΔΔ}
p4-3		>0,05	<0,05	>0,05
Lô 5: KTHV 1,8 g/kg/ngày	9	3,33 ± 1,07 ^{ΔΔ}	20,04 ± 6,05	36,05 ± 9,90 ^{ΔΔ}
p5-3		>0,05	<0,01	>0,05
P4-5		>0,05	>0,05	>0,05

* so với chứng sinh học: $p < 0,05$; * *: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$

Δ so với mô hình: $p < 0,05$; ΔΔ: $p < 0,01$; ΔΔΔ: $p < 0,001$

Kết quả ở bảng 3.16 cho thấy:

- Sau 7 ngày nghiên cứu, ở lô mô hình pH dịch vị dạ dày giảm, độ acid tự do và độ acid toàn phần tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p < 0,01$; $p < 0,05$; $p < 0,05$).

- Lô chuột uống esomeprazol và KTHV cả 2 mức liều đều làm tăng pH dịch vị dạ dày và làm giảm độ acid toàn phần có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p < 0,05$).

- KTHV cả 2 mức liều có xu hướng làm giảm độ acid tự do so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- Không có sự khác biệt về mức độ tác dụng trên pH, độ acid toàn phần của KTHV và esomeprazol.

3.2.2. Đánh giá tác dụng của KTHV đến tổn thương loét ở thực quản

Bảng 3.17. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống – HV” đến tổn thương loét thực quản

Lô nghiên cứu	<i>n</i>	Diện tích ổ loét trung bình (mm^2)	Chỉ số thực quản	Tỷ lệ giảm loét (%)
Lô 1: Chứng sinh học	9	0	0	
Lô 2: Mô hình	9	12,19 ± 14,76***	1,78 ± 0,97***	
Lô 3: Esomeprazol	9	1,14 ± 3,41 ^Δ	0,89 ± 0,60 ^Δ	90,64%
Lô 4: KTHV 3,6 g/kg/ngày	9	9,42 ± 15,02	1,11 ± 1,67	22,72 %
Lô 5: KTHV 1,8 g/kg/ngày	9	11,97 ± 15,79	1,33 ± 1,23	1,80 %

* so với chứng sinh học: $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$

Δ so với mô hình: $p < 0,05$; ΔΔ: $p < 0,01$; ΔΔΔ: $p < 0,001$

Kiểm định Mann-Whitney U test

Kết quả ở bảng 3.17 cho thấy:

- Sau 7 ngày nghiên cứu, diện tích tổn thương và chỉ số thực quản ở lô mô hình cao có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p < 0,001$).

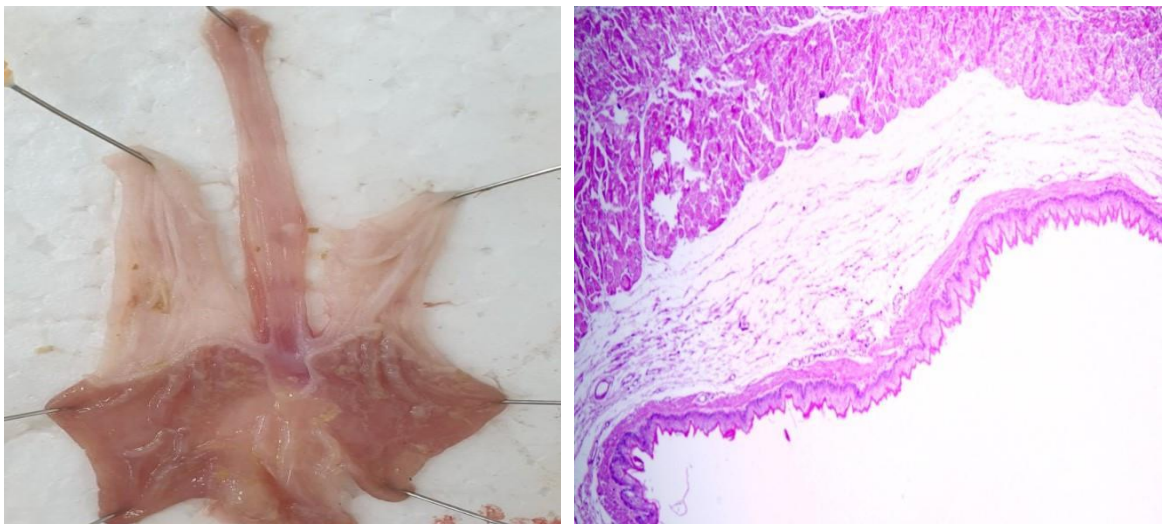
- Lô uống esomeprazol làm giảm có ý nghĩa thống kê diện tích ổ loét trung bình và chỉ số thực quản so với lô mô hình ($p = 0,024$, $p = 0,035$)

- KTHV liều 3,6 g/kg/ngày và KTHV liều 1,8 g/kg/ngày có xu hướng làm giảm diện tích ổ loét trung bình và giảm chỉ số thực quản so với lô mô hình ($p > 0,05$). Tỷ lệ giảm loét thực quản so với lô mô hình lần lượt là 22,72 %; 1,80%.

- Không có sự khác biệt về mức độ tác dụng của esomeprazol và 2 mức liều của KTHV trên các chỉ số diện tích ổ loét, chỉ số thực quản ($p > 0,05$).

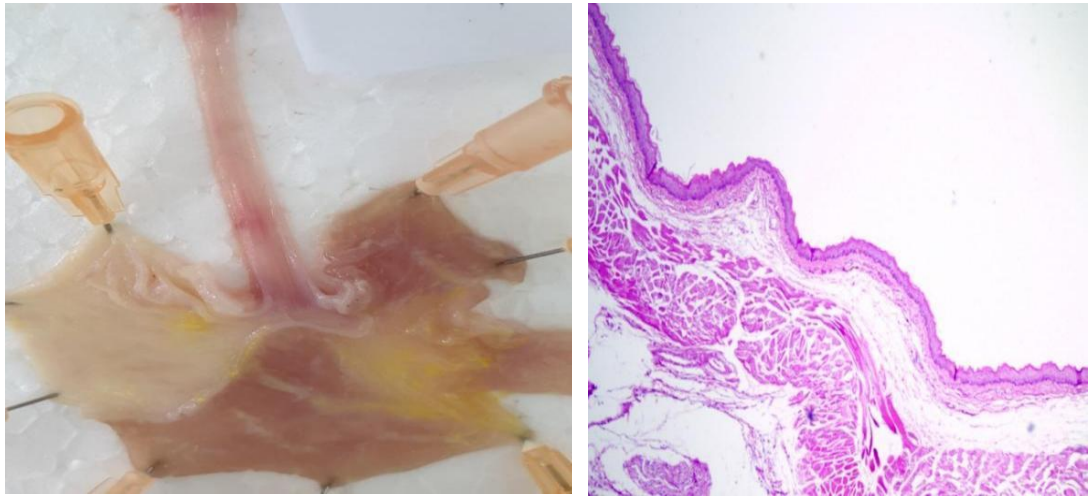
3.2.3. Hình ảnh đại thể và vi thể dạ dày - thực quản

Thực quản của chuột lô chứng sinh học không xuất hiện tổn thương. Ở lô mô hình, niêm mạc thực quản bị loét, tổn thương trên diện rộng. Niêm mạc thực quản tại nhóm uống esomeprazol và hai nhóm điều trị bằng KTHV đều ít xuất hiện các tổn thương trên niêm mạc thực quản hơn so với nhóm mô hình.

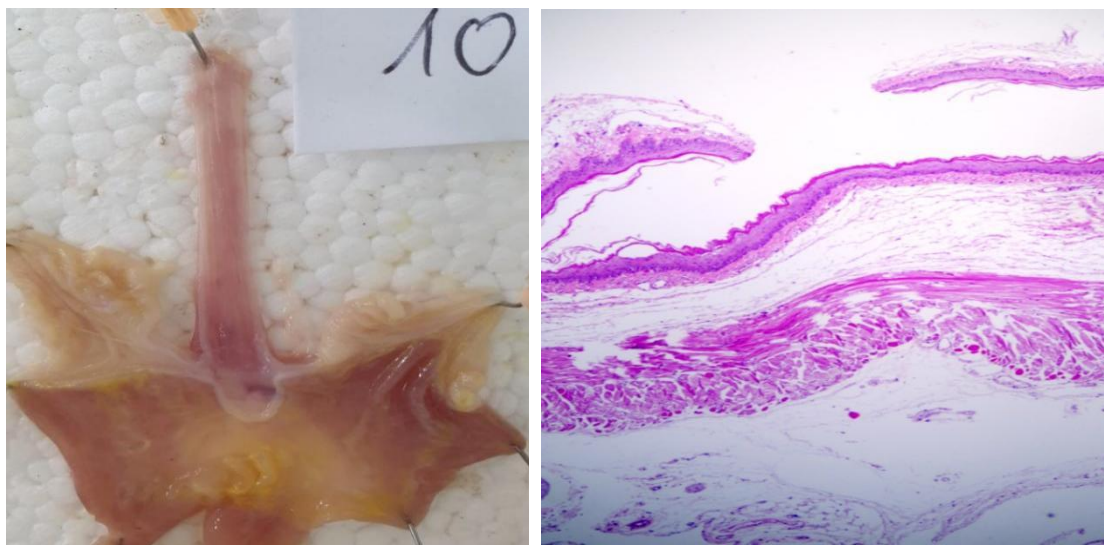


**Hình 3.19: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô chứng (chuột #02)
(HE x 400)**

Cấu trúc niêm mạc bình thường. Niêm mạc thực quản phủ biểu mô lát tầng có lớp sừng hoá nhẹ trên bề mặt, các lớp biểu mô rõ cấu trúc tạo thành các nhú nhỏ trên bề mặt, màng đáy rõ

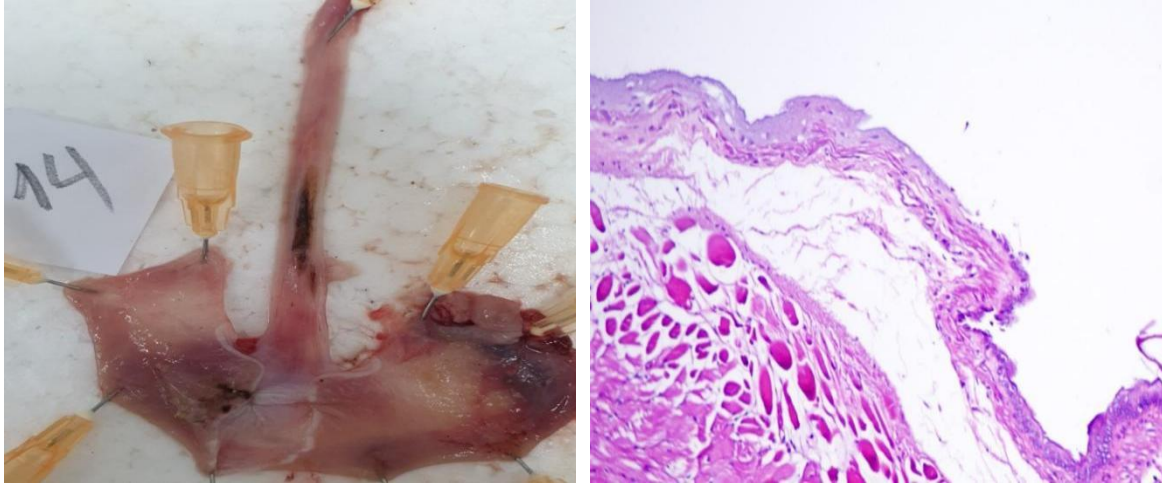


Hình 3.20: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô chúng (chuột #09) (HE x 400). Cấu trúc niêm mạc bình thường.



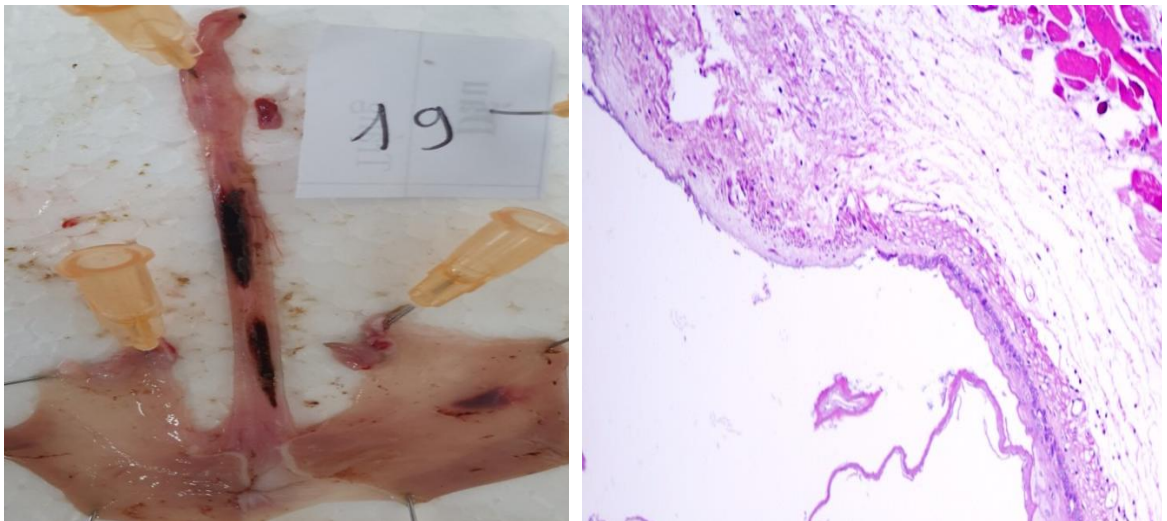
Hình 3.21. Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô chứng (chuột # 10) (HE x 400).

Cấu trúc niêm mạc bình thường



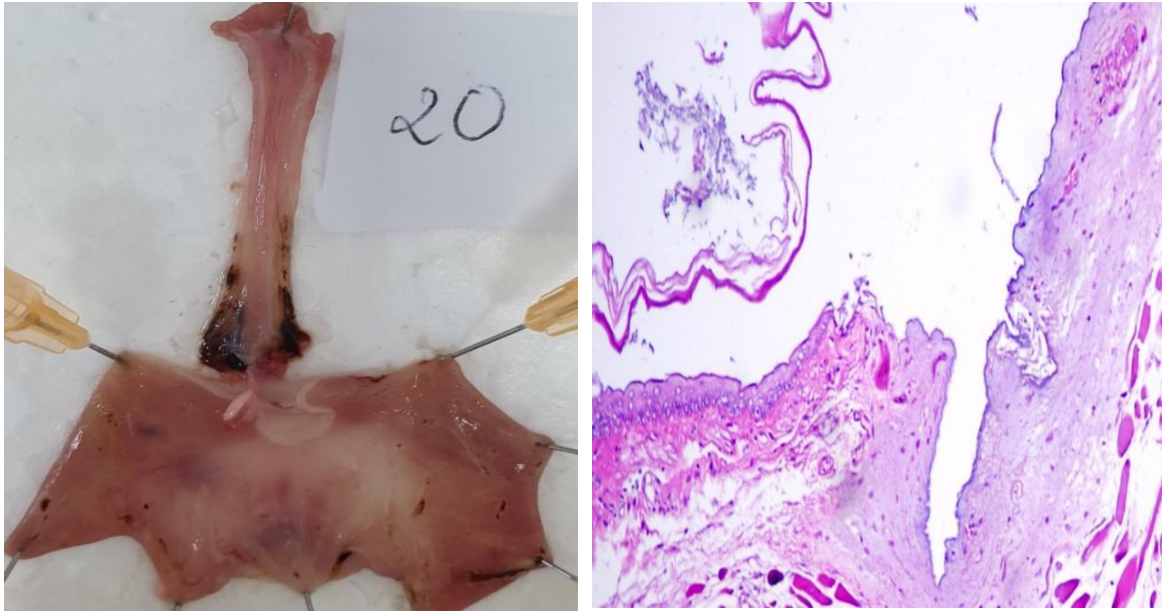
Hình 3.22: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô mô hình (chuột #14) (HE x 400).

Trợt, loét niêm mạc thực quản. Niêm mạc thực quản phủ biểu mô lát tầng có vùng bị trợt loét nông, mất lớp biểu mô phủ, đáy ổ trợt loét vượt qua lớp cơ niêm, mô đệm phù nề và thoái hoá, xâm nhiễm một vài đám tế bào bạch cầu. Số lượng mạch máu thưa thớt. Các tế bào biểu mô bờ ổ loét bị long tróc.

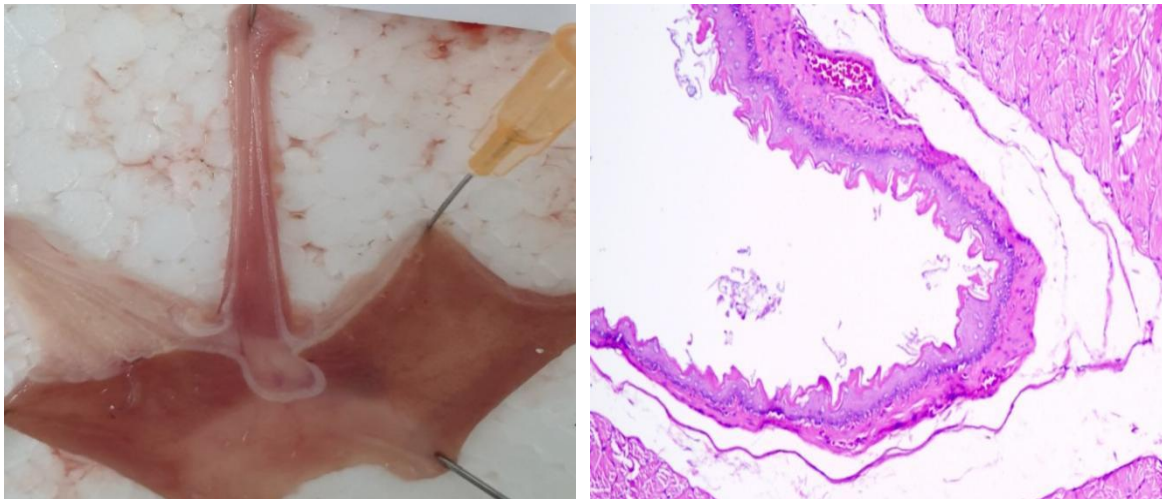


Hình 3.23: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô mô hình (chuột #19) (HE x 400)

Rải rác các ổ viêm loét niêm mạc tế bào đáy, mất biểu mô vảy. Viêm loét thực quản mức độ nặng.

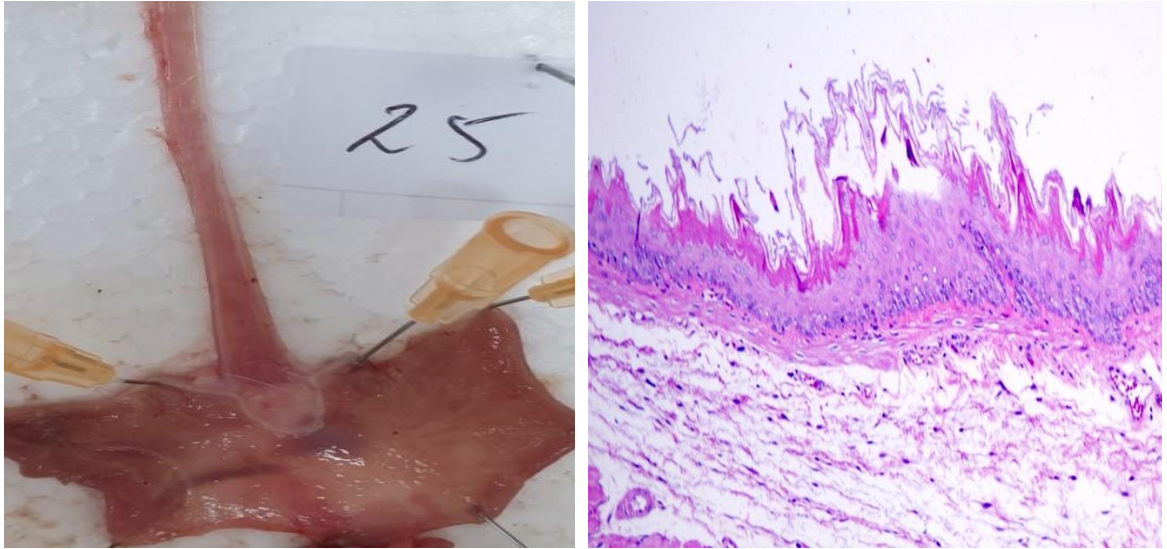


Hình 3.24: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô mô hình (chuột #20) (HE x 400)



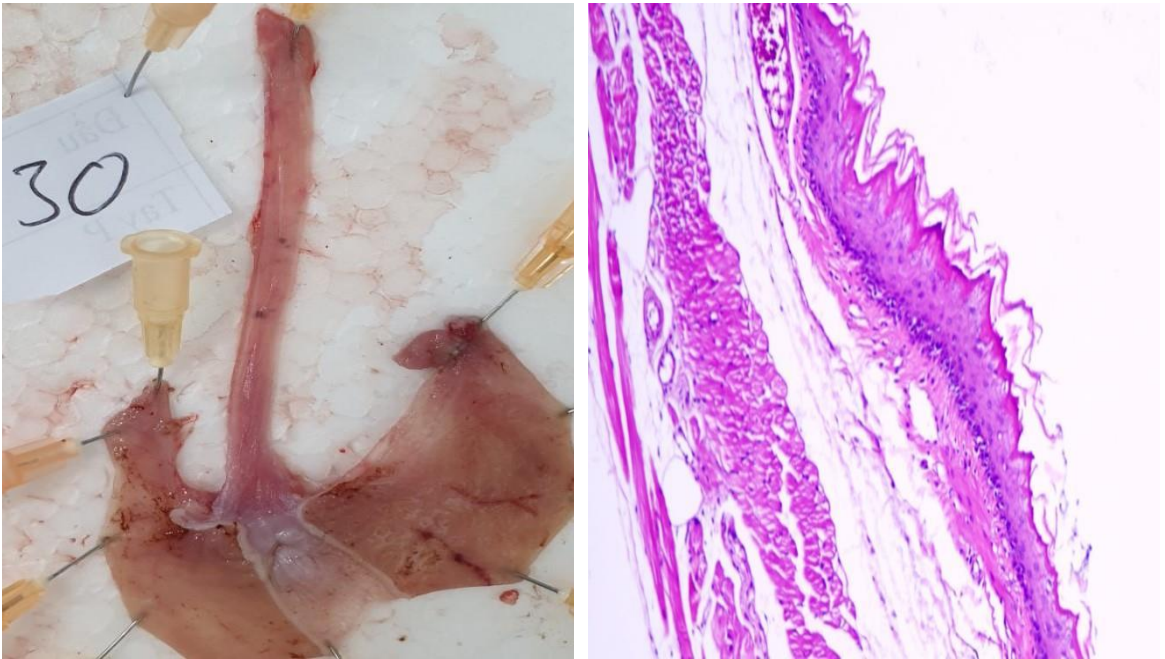
Hình 3.25: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô chứng dương (chuột #23). (HE x 400)

Niêm mạc thực quản phủ biểu mô lát tầng có lớp sừng khá dày, bị phù nề dày lên, các tế bào biểu mô bị phù nề, nhân sáng và lớn, số lượng tế bào lớp mầm có tăng, một vài nơi các nhú chân bì nhô cao, mào thượng bì kéo dài, màng đáy rõ.

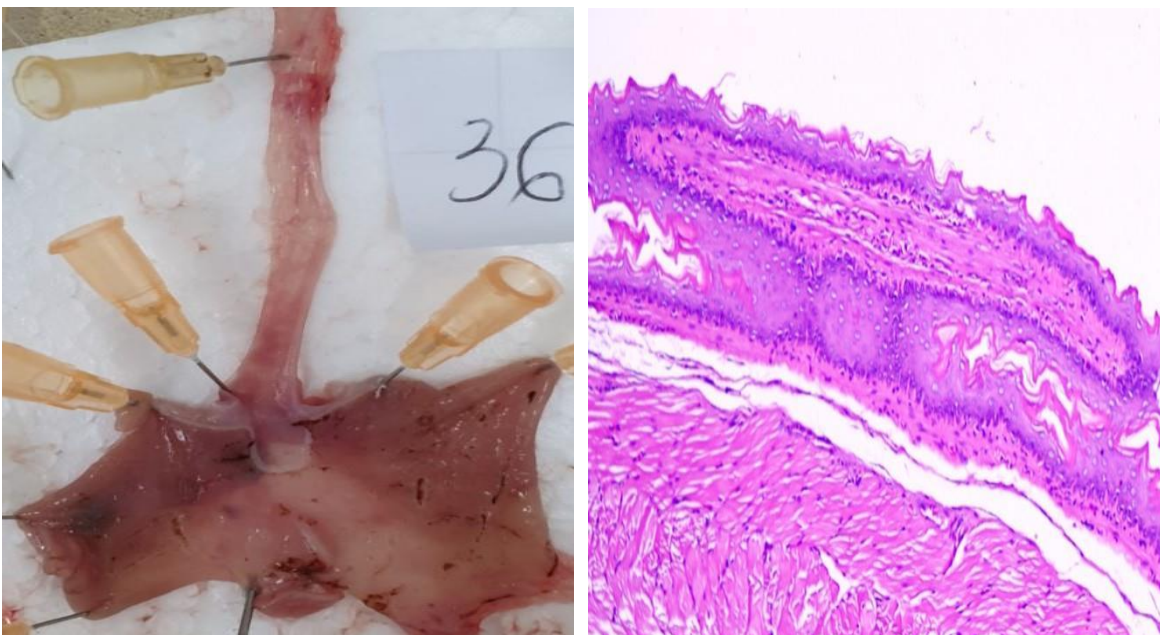


Hình 3.26: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô chứng dương (chuột #25) (HE x 400).

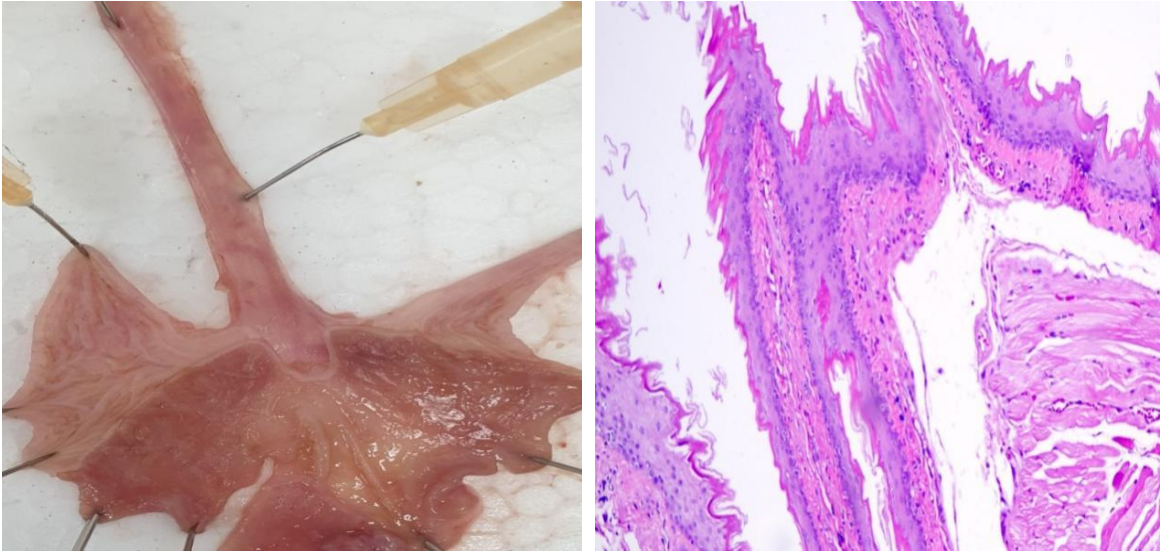
Cấu trúc thực quản có sự tái tạo tốt, không còn ổ loét.



Hình 3.27: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô chứng dương
(chuột #30). (HE x 400)

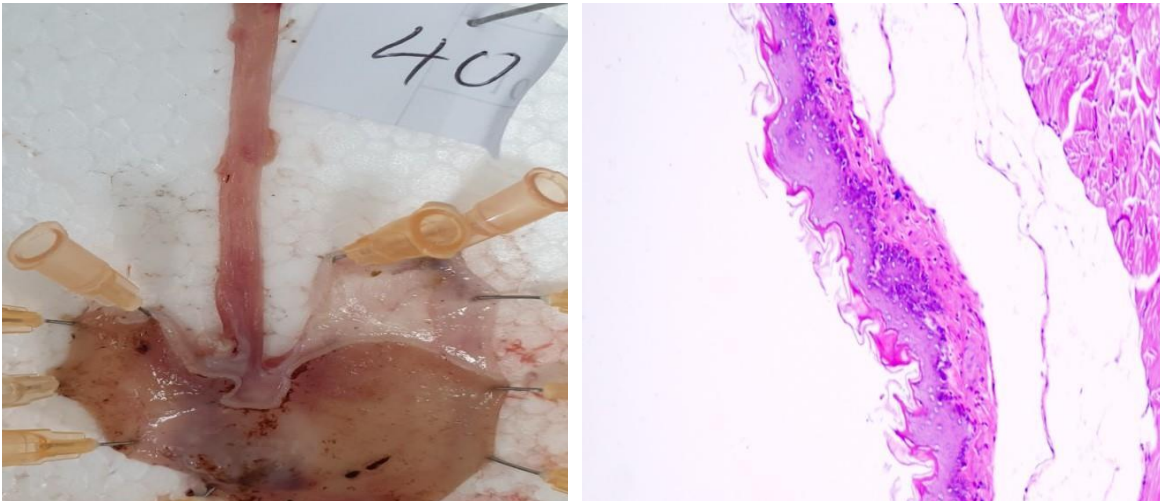


Hình 3.28: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô KTHV 3,6
g/kg/ngày (chuột #36) (HE x 400)



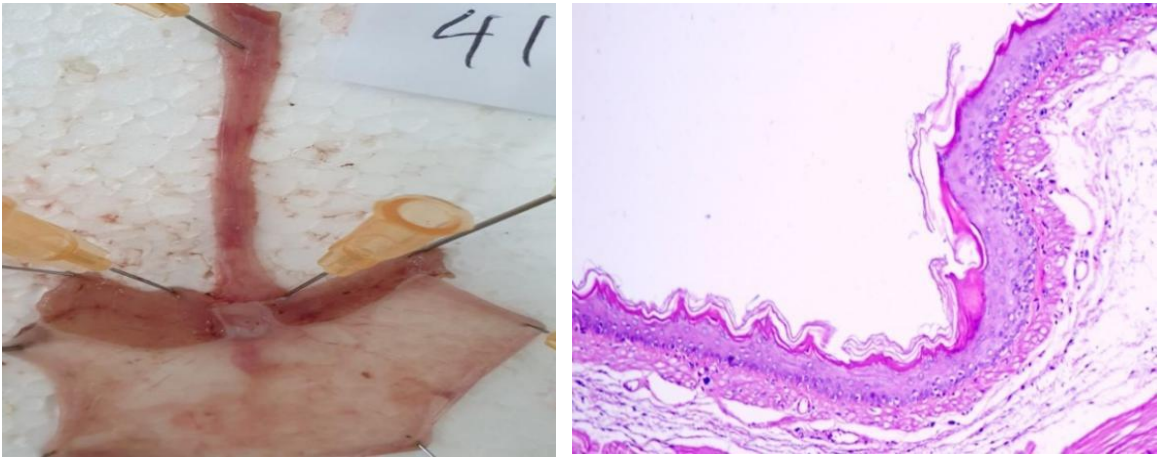
Hình 3.29: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô KTHV 3,6 g/kg/ngày (chuột #37) (HE x 400)

Biểu mô bị bong tróc nhiều. Niêm mạc thực quản có hiện tượng phù nề.



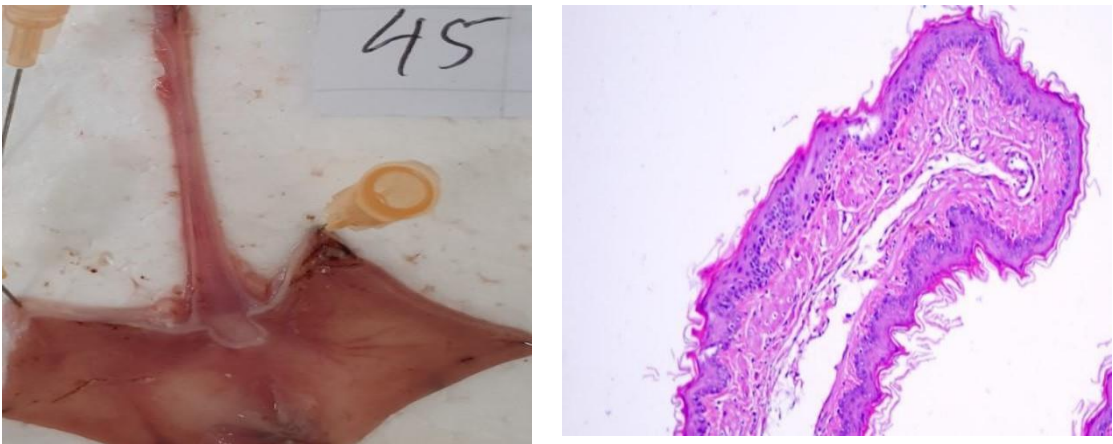
Hình 3.30: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô KTHV 3,6 g/kg/ngày (chuột #40) (HE x 400)

Niêm mạc thực quản phủ biểu mô lát tầng có lớp sừng hoá khá dày, bị phù nề dày, màng đáy rõ. Hạ niêm mạc sát lớp cơ có vài tế bào viêm.



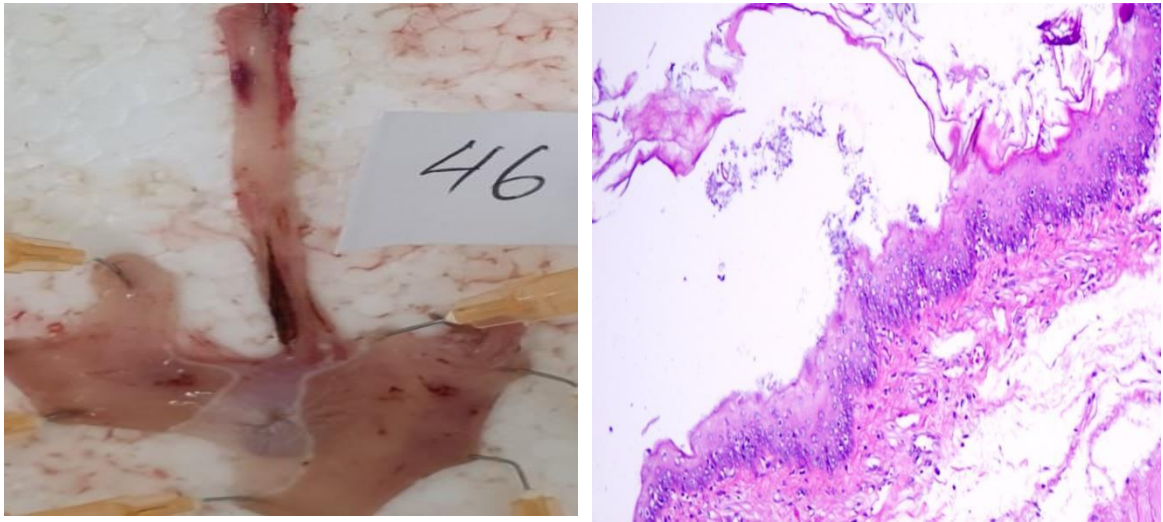
Hình 3.31: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô KTHV 1,8 g/kg/ngày (chuột #41) (HE x 400)

Niêm mạc thực quản phủ biểu mô lát tầng có lớp sừng khá dày, bị phù nề dày lên, long tóc khá nhiều, các tế bào biểu mô bị phù nề trương to, nhân sáng.



Hình 3.32: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô KTHV 1,8 g/kg/ngày (chuột #45) (HE x 400)

Thực quản không có hình ảnh ổ loét. Niêm mạc thực quản phủ biểu mô lát tầng có lớp sừng hoá nhẹ trên bề mặt, các lớp biểu mô rõ cấu trúc tạo thành các nhú nhỏ trên bề mặt, màng đáy rõ .



Hình 3.33: Hình thái đại thể - vi thể thực quản chuột lô KTHV

1,8 g/kg/ngày (chuột #46) (HE x 400)

Thực quản có hình ảnh ổ loét, Niêm mạc thực quản phù nề. Biểu mô lát tầng có lớp sừng khá dày, bị phù nề dày lên, long tróc khá nhiều và mạnh

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

4.1. Độc tính bán trường diễn của cốm “Kiện tỳ chỉ thống - HV” theo đường uống trên chuột cống trắng.

Tại Việt Nam việc điều trị bằng các loại thảo dược ngày càng được quan tâm, tuy nhiên, nếu như trước đây việc sử dụng các thuốc YHCT theo kinh nghiệm dân gian được xem là an toàn, không có phản ứng bất lợi nào xảy ra, thì hiện nay người ta bắt đầu chỉ ra được một số độc tính của dược liệu xuất hiện khi sử dụng đơn độc hay phối hợp trong điều trị. Các thông tin về độc tính của các loại thảo dược này hiện nay còn hạn chế, vì vậy, nghiên cứu độc tính là một bước rất quan trọng trong thử nghiệm thuốc trước khi sử dụng trên lâm sàng. Đánh giá độc tính của các dược liệu giúp cung cấp bằng chứng khoa học cho việc sử dụng trên lâm sàng. Độc tính của thuốc được biểu hiện bằng tác dụng không mong muốn, các phản ứng có hại cho cơ thể. Độc tính có thể nhẹ như mẩn ngứa, rối loạn tiêu hóa, thay đổi về vận động... song cũng có thể gặp các phản ứng rất nặng, thậm chí gây tử vong. Tất cả các thuốc trước khi sử dụng trên người đều cần được đảm bảo an toàn. Vì vậy, việc thử độc tính của thuốc là việc bắt buộc trong nghiên cứu phát triển thuốc [53]. Trước tiên cần phải nghiên cứu độc tính bán trường diễn trên động vật. Ngoài ra, tùy từng loại thuốc và mục đích điều trị sẽ cần yêu cầu bắt buộc phải thử các độc tính khác như độc tính trên sinh sản phát triển, độc tính tại chỗ, độc tính gây đột biến gen,... Trên thực hành lâm sàng, bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống - HV” (KTHV) được khuyến cáo sử dụng dài ngày, vì vậy, theo hướng dẫn về thử nghiệm lâm sàng và tiền lâm sàng thuốc Đông Y, thuốc dược liệu của Bộ Y tế, chế phẩm cần được đánh giá xác định khả năng dung nạp của động vật thực nghiệm khi dùng mẫu thử nhiều lần.

Động vật được dùng trong nghiên cứu độc tính bán trường diễn thường là thỏ, chuột cống trắng hoặc cả hai loài [52]. Thời gian đánh giá độc tính bán

trường diễn dựa theo thời gian dự kiến dùng trên người hoặc có thể thử với các khoảng thời gian xác định [53]. Trong nghiên cứu này, độc tính bán trường diễn của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” được tiến hành trên chuột cống trắng, một loài động vật dễ nuôi và các chỉ số nghiên cứu tương đối ổn định. Chuột được uống dung môi và thuốc thử (KTHV) hàng ngày ở 2 mức liều là liều tương đương liều dự kiến lâm sàng (1,8 g/kg/ngày) và liều cao gấp 3 lần lâm sàng (5,4 g/kg/ngày). Theo hướng dẫn của WHO, đánh giá độc tính bán trường diễn của một thuốc y học cổ truyền nên kiểm tra càng nhiều chỉ số càng tốt [55]. Tình trạng chung, thể trọng, các chỉ số huyết học, chỉ số sinh hóa máu đánh giá chức năng gan, thận của chuột trước uống thuốc, sau uống thuốc thử 2 tuần và 4 tuần. Mô bệnh học gan và thận được đánh giá ở các lô tại thời điểm kết thúc nghiên cứu.

4.1.1. Ảnh hưởng của bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng của chuột

Sự thay đổi trọng lượng cơ thể chuột là một chỉ số nhạy cảm cho thấy tình trạng sức khỏe của động vật trong thời gian uống thuốc thử. Do đó, tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng của động vật thực nghiệm là chỉ số cần phải theo dõi định kỳ khi tiến hành nghiên cứu độc tính bán trường diễn. Sự thay đổi thể trọng chuột có thể do sự thay đổi nồng độ hormon, rối loạn chức năng của các cơ quan quan trọng hay sự tăng giảm vấn đề tiêu thụ thức ăn. Một tình trạng bất thường cũng có thể biểu thị bằng tốc độ tăng giảm thể trọng so với nhóm chứng sinh học. Theo dõi trong suốt thời gian nghiên cứu nhận thấy, chuột cống trắng ở cả 3 lô (lô chứng sinh học và 2 lô trị) đều ăn uống, hoạt động bình thường, mắt sáng, lông mượt, phân khô. Chuột ở cả 3 lô tăng cân so với trước nghiên cứu và không có sự khác biệt so với nhóm chứng sinh học.

Như vậy, “Kiện tỳ chỉ thống - HV” ở 2 mức liều tương đương liều dự kiến lâm sàng (1,8 g/kg/ngày) và liều gấp 3 lần (5,4 g/kg/ngày) đều không làm ảnh

hưởng xấu tới tình trạng chung và mức độ thay đổi thể trọng của chuột khi uống thuốc liên tục trong 04 tuần.

4.1.2. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” trên cơ quan tạo máu.

Hệ thống tạo máu là một trong số cơ quan quan trọng của cơ thể, đồng thời cũng là chỉ số phản ánh tình trạng sinh lý và bệnh lý ở người và động vật. Máu đóng vai trò là phương tiện vận chuyển các chất, có liên quan với mọi cơ quan, bộ phận trong cơ thể nên các tế bào máu sẽ tiếp xúc với nồng độ đáng kể các chất độc hại. Máu chịu ảnh hưởng của tất cả các tổ chức, đồng thời cũng bị ảnh hưởng và phản ánh tình trạng của chính cơ quan tạo máu. Mức độ tăng sinh, biệt hóa của các tế bào máu, rối loạn chức năng tạo máu có thể là biểu hiện đầu tiên của độc tính dài ngày do mẫu thuốc thử gây ra. Vì vậy, để đánh giá ảnh hưởng của thuốc đến chức năng tạo máu, trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành xác định số lượng và chất lượng của 3 dòng tế bào máu ngoại vi: hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu.

Hồng cầu có chức năng vận chuyển O_2 đến các cơ quan trong cơ thể và thải CO_2 qua phổi. Số lượng hồng cầu, hàm lượng hemoglobin và thể tích trung bình hồng cầu là các thông số quan trọng để đánh giá tình trạng và tìm nguyên nhân gây bệnh lý về máu. Trong đó, huyết sắc tố là thành phần chủ yếu của hồng cầu, định lượng huyết sắc tố giúp đánh giá chức năng của hồng cầu. Hematocrit là tỷ lệ phần trăm thể tích huyết cầu trong máu toàn phần, có thể giảm do tan máu, mất máu hoặc tăng trong trường hợp mất nước. Bạch cầu là những tế bào tham gia vào quá trình viêm, là một yếu tố quan trọng của hàng rào miễn dịch của cơ thể, có chức năng chống lại các tác nhân lạ đi vào cơ thể. Số lượng bạch cầu là số bạch cầu có trong một đơn vị máu. Công thức bạch cầu là tỷ lệ phần trăm các loại bạch cầu trong máu. Sự thay đổi số lượng bạch cầu và công thức bạch cầu trong máu ngoại vi phản ánh được vai trò bảo vệ cơ thể và một phần chức năng tạo máu. Bình thường, hai thành phần chiếm tỷ lệ cao

nhất là bạch cầu đa nhân trung tính và bạch cầu lympho. Tiểu cầu tham gia vào quá trình đông cầm máu. Thuốc thử làm tăng hay giảm số lượng tiểu cầu sẽ làm ảnh hưởng đến quá trình đông – cầm máu của cơ thể, số lượng tiểu cầu cũng đánh giá một phần tác động của thuốc lên chức năng tạo máu [61], [62].

Theo kết quả nghiên cứu từ bảng 3.2 đến bảng 3.8 cho thấy, chuột uống KTHV liều 1,8 g/kg/ngày và liều 5,4 g/kg/ngày sau 2 tuần và 4 tuần có các chỉ số về số lượng hồng cầu, nồng độ huyết sắc tố, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu không có sự khác biệt có ý nghĩa so với trước nghiên cứu và so sánh với lô chứng sinh học ($p > 0,05$).

Như vậy, “Kiện tỳ chỉ thống - HV” ở 2 mức liều là 1,8 g/kg/ngày và 5,4 g/kg/ngày không gây ảnh hưởng xấu đến cơ quan tạo máu của chuột cống trắng.

4.1.3. Ảnh hưởng của bột cốt “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến mức độ tổn thương tế bào gan, chức năng gan và mô bệnh học của gan.

Trong cơ thể, gan là nơi xảy ra quá trình chuyển hóa, thải trừ thuốc và đảm nhiệm nhiều chức năng quan trọng trong cơ thể. Khi đưa thuốc vào cơ thể, thuốc có thể gây độc cho gan, làm tổn thương gan, ảnh hưởng đến chức năng gan. Vì vậy, trong nghiên cứu độc tính của thuốc cần phải đánh giá hoạt động chức năng ảnh hưởng của thuốc đến gan là rất cần thiết khi đánh giá độc tính của thuốc.

Định lượng hoạt độ các enzym có nguồn gốc từ gan trong huyết thanh để đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan. AST và ALT là các enzym có trong tế bào gan, sự thay đổi nồng độ các enzym này thường là biểu hiện độc tính của thuốc thử trên tế bào gan. AST không đặc hiệu hoàn toàn cho gan vì AST có mặt trong nhiều loại tế bào khác trong cơ thể. 2/3 AST khu trú trong ty thể và khoảng 1/3 lượng AST khu trú ở bào tương của tế bào. ALT là enzym khu trú trong bào tương của tế bào, đặc biệt là tế bào gan. Vì vậy, khi tổn thương ở mức

độ dưới tế bào thì AST mới tăng cao. Gan là cơ quan có nhiều chức năng quan trọng trong tổng hợp và chuyển hóa các chất trong cơ thể. Gan có chức năng tổng hợp và chuyển hóa lipid, cholesterol là một trong những thành phần lipid chính trong hệ thống tuần hoàn, được gan tổng hợp. Định lượng cholesterol trong máu có thể phản ánh ảnh hưởng của thuốc đến chức năng tổng hợp lipid của gan. Chuyển hóa và bài tiết mật là một chức năng quan trọng của gan, được đánh giá thông qua sự thay đổi nồng độ bilirubin (sắc tố mật). Khi hồng cầu bị vỡ, sản phẩm giáng hóa của hemoglobin là biliverdin được chuyển thành bilirubin gián tiếp. Tại gan, biliubin gián tiếp được liên hợp với acid glucuronic để trở thành bilirubin trực tiếp thải trừ khỏi gan qua đường mật. Như vậy, bilirubin có 2 loại: bilirubin trực tiếp và bilirubin gián tiếp sẽ tăng khi có sự phá vỡ hồng cầu, suy giảm chức năng gan hoặc tắc mật. Định lượng bilirubin toàn phần trong máu có thể đánh giá ảnh hưởng của thuốc đến chức năng chuyển hóa và bài xuất mật của gan. Bên cạnh đó, gan tổng hợp phần lớn protein trong huyết thanh (albumin, globulin, yếu tố đông máu...). Albumin là thành phần protein quan trọng của cơ thể và chỉ được tổng hợp ở gan. Một trong những nguyên nhân gây giảm albumin trong máu là suy giảm chức năng gan do đó định lượng nồng độ albumin huyết thanh giúp đánh giá chức năng tổng hợp protein của gan [63].

Ngoài ra, mức độ tổn thương tế bào gan còn được đánh giá qua xét nghiệm mô bệnh học, đôi khi được biểu hiện trước các chỉ số về enzym gan và chức năng gan. Các tổn thương có thể gặp bao gồm hình ảnh thoái hóa, hoại tử tế bào, thâm nhập tế bào viêm, xơ hóa... Trong nghiên cứu này, hoạt độ AST và ALT trong máu chuột ở 2 lô uống “Kiện tỳ chỉ thống - HV” không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và khi so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử 4 tuần ($p > 0,05$). Kết quả nghiên cứu đánh giá chức năng gan, nồng độ bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol toàn phần trong

máu chuột ở cả 2 lô trị đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với trước nghiên cứu và so với lô chứng tại cùng một thời điểm nghiên cứu ($p > 0,05$). Điều này cho thấy KTHV không làm ảnh hưởng đến chức năng gan ở cả 2 mức liều đã dùng.

Điều đó chứng tỏ, “Kiện tỳ chỉ thống - HV” ở 2 mức liều đã dùng không gây tổn thương tế bào gan của chuột. Trên quan sát đại thể và vi thể gan chuột ở tất cả các lô cho thấy, tại thời điểm kết thúc nghiên cứu, gan chuột cống ở các lô đều có kích thước màu sắc và mật độ bình thường, hình ảnh vi thể lô chứng và 2 lô trị đều không có sự khác biệt, không có sự đảo lộn cấu trúc gan, không có xơ hóa, không có xâm nhập viêm.

4.1.4. Ảnh hưởng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” đến chức năng thận và mô bệnh học thận

Thận là một trong số các cơ quan đảm nhận chức năng bài tiết của cơ thể. Khi đưa thuốc vào cơ thể, phần lớn thuốc được thải trừ qua thận. Đánh giá cấu trúc và chức năng thận là một yêu cầu bắt buộc khi nghiên cứu độc tính của các sản phẩm hoặc thuốc mới [55]. Creatinin là thành phần đậm trong máu ổn định nhất, hầu như không phụ thuộc vào chế độ ăn, thay đổi sinh lý mà chỉ phụ thuộc vào khả năng đào thải của thận. Khi cầu thận tổn thương, nồng độ creatinin tăng sớm hơn ure, do vậy để đánh giá và theo dõi chức năng thận, creatinin máu là chỉ tiêu quan trọng và tin cậy được lựa chọn. Kết quả bảng 3.14 cho thấy, nồng độ creatinin trong máu chuột cống sau uống KTHV không có sự thay đổi khác biệt giữa trước và sau khi uống thuốc và so với lô chứng tại cùng thời điểm.

Giải phẫu bệnh đại thể và vi thể là chỉ số cần thiết khi đánh giá độc tính bán trường diễn theo hướng dẫn của WHO [55]. Quan sát cấu trúc đại thể của chuột ở cả 3 lô cho thấy không thấy có thay đổi bệnh lý nào trên các cơ quan. Trên cấu trúc vi thể thận của 30% số chuột mỗi lô sau 4 tuần uống thuốc. Kết

quả cho thấy hình ảnh cấu trúc vi thể không có sự khác biệt giữa lô chứng và các lô nghiên cứu.

Trên thế giới các nghiên cứu về độc tính chung khi phối hợp các vị dược liệu có trong thành phần của KTHV hiện chưa được ghi nhận. Đây là các dược liệu phổ biến, chúng tôi chưa tìm thấy các báo cáo về độc tính của các vị dược liệu này, tham khảo các tài liệu cũng chưa thấy đề cập tới những độc tính nghiêm trọng [41], [42]. Bên cạnh đó, theo nghiên cứu của LiuZ, dịch chiết vỏ cây Hậu phác đường uống không ảnh hưởng đến trọng lượng cũng như chức năng tạo máu và chức năng gan thận trên chuột cống trắng. Cho đến nay, một số lượng lớn các nghiên cứu đã chỉ ra rằng vỏ cây Hậu phác có độc tính tế bào vỏ cây Hậu phác (10–100 μ M, 24 hoặc 48 giờ) đã được sử dụng để điều tra độc tính đối với tế bào gan U937 và tế bào LO-2 bình thường người. Kết quả cho thấy vỏ cây Hậu phác ở nồng độ thấp có thể thúc đẩy tỷ lệ sống sót của tế bào theo cách phụ thuộc vào liều lượng [64], [65]. Flavonoid trong Chi xác có tác dụng ức chế viêm gan, giảm tổn thương do stress oxy hóa, ức chế tích tụ lipid và bảo vệ gan khỏi xơ hóa và nhiễm độc mỡ cải thiện tình trạng nhiễm độc gan bằng cách ngăn chặn hoạt động gây độc tế bào của NO và các gốc tự do [66].

Như vậy, “Kiện tỳ chỉ thống – HV” với 2 mức liều đã dùng không làm ảnh hưởng đến chức năng gan, thận của chuột cống trắng sau 4 tuần uống thuốc thử.

4.2. Tác dụng chống trào ngược của “Kiện tỳ chỉ thống - HV” trên mô hình gây trào ngược dạ dày thực quản trên chuột cống trắng.

Trào ngược dạ dày thực quản (gastroesophageal reflux disease – GERD) là hiện tượng các thành phần trong dạ dày đi qua cơ thắt tâm vị vào

thực quản. Trên lâm sàng, GERD bao gồm các triệu chứng như ợ chua, nôn, buồn nôn, đau thượng vị, nóng rát sau ngực...[4]. Các triệu chứng này thường gây ảnh hưởng đáng kể đến chất lượng cuộc sống của bệnh nhân và có thể đáp ứng tốt với điều trị nội khoa, tuy nhiên bệnh dễ tái phát và có thể kéo dài dai dẳng. Nếu bệnh trào ngược dạ dày thực quản kéo dài có thể dẫn đến các biến chứng: viêm thực quản, hẹp thực quản, thực quản barrett và ung thư biểu mô tuyến thực quản. Hiện nay, xu hướng điều trị GERD bằng các thuốc có nguồn gốc thực vật ngày càng phổ biến hơn. Tuy nhiên, cần có những mô hình thực nghiệm để chứng minh tác dụng của các dược liệu, làm sáng tỏ hơn cơ chế tác dụng của các loại dược liệu có nguồn gốc từ thảo dược.

Để đánh giá tác dụng bảo vệ thực quản của KTHV, chúng tôi tiến hành gây mô hình trào ngược dạ dày thực quản trên chuột cống trắng. Mô hình trào ngược dạ dày thực quản được gây thành công ở nhiều nơi trên thế giới để đánh giá tác dụng của các chế phẩm, hoạt chất trong điều trị bệnh trào ngược dạ dày thực quản giới [67]. Trào ngược dạ dày thực quản xảy ra do sự mất cân bằng giữa yếu tố bảo vệ và yếu tố tấn công thực quản. Trong đó, acid có trong dịch vị là tác nhân chính gây nên các tổn thương và triệu chứng của bệnh trào ngược dạ dày thực quản. Do đó, mô hình thực nghiệm cũng cần mô phỏng lại được cơ chế bệnh sinh của GERD tức cần phải gây trào ngược các chất trong dạ dày lên thực quản. Trên thế giới có các mô hình GERD khác nhau được báo cáo, dựa trên ưu điểm và nhược điểm, chúng tôi lựa chọn phương pháp thắt môn vị dựa theo phương pháp thắt đoạn nối giữa dạ dày và thân vị dựa trên nghiên cứu của Shyam Sundar Gupta (2017) đồng thời có sửa đổi, bổ sung cho phù hợp điều kiện nghiên cứu [68]. Đây là mô hình GERD đã được nhiều nơi trên thế giới áp dụng thành công để đánh giá tác dụng của các dược liệu, hoạt chất trong điều trị bệnh trào ngược dạ dày thực quản. Cơ chế của mô hình là làm tăng tiết acid dịch vị bằng cách thắt tại các vị trí môn vị và đáy vị, dịch vị tích tụ (acid dạ dày và pepsin), cản trở lưu thông máu dạ dày và tăng sản xuất các

gốc tự do đã làm acid trào ngược lên thực quản gây tổn thương thực quản giống cơ chế bệnh sinh thực thể, từ đó đánh giá tác dụng bảo vệ thực quản của chế phẩm KTHV. Ngoài ra, ưu điểm của mô hình cho thấy so với các mô hình phẫu thuật khác không đòi hỏi nhiều kỹ thuật mổ phức tạp, thời gian thực hiện nhanh chóng và hiệu quả gây tổn thương thực quản mạnh hơn. Trong nghiên cứu này, chuột được gây mô hình GERD và bổ sung indomethacin 2 giờ trước khi thắt dạ dày. Indomethacin thuộc nhóm thuốc chống viêm không steroid (NSAID), được coi là một trong những nhóm thuốc sử dụng phổ biến trên toàn thế giới. Việc sử dụng các NSAID có thể gây các tác dụng không mong muốn trên đường tiêu hóa điển hình là loét dạ dày tá tràng [69]. Trong đó, indomethacin thường được sử dụng và được coi là một tác nhân sử dụng trong nhiều mô hình thí nghiệm. Về mặt cơ chế, indomethacin gây loét dạ dày bằng cách ức chế tổng hợp tuyến tiền liệt, tạo ra các loại oxy phản ứng (ROS), bắt đầu hình thành peroxy hóa lipid [70], thúc đẩy quá trình chết theo chương trình và hoại tử tế bào dạ dày [71],[72], giảm tiết bicarbonat và chất nhầy, tăng nhu động dạ dày, tăng cường sản xuất các cytokin tiền viêm và làm gián đoạn quá trình sản xuất oxit nitric trong các mô dạ dày [73]. Tóm lại, loét dạ dày do indomethacin gây ra được cho là do ức chế giải phóng các yếu tố bảo vệ, tích lũy các yếu tố tích cực và làm trầm trọng thêm các thông số oxy hóa trong khi làm giảm các thông số chống oxy hóa. Việc thắt dạ dày kết hợp với dùng indomethacin gây ra sự gia tăng đáng kể về số lượng vết loét, chỉ số vết loét, lượng acid và pepsin, các yếu tố gây kích ứng và lipid-peroxide niêm mạc dạ dày. Takeuchi đã chứng minh rằng viêm thực quản trào ngược acid trầm trọng hơn rõ rệt bởi tác nhân indomethacin thể hiện qua tình trạng giảm độ acid, oxit nitric niêm mạc dạ dày, hàm lượng chất chống oxy hóa và các yếu tố bảo vệ. Theo nghiên cứu của Zainul Amiruddin Zakaria và cộng sự (2016), nhóm chuột ở các lô gây mô hình GERD đều có sự gia tăng thể tích dịch vị, acid tự do và acid toàn phần [73]. Tác giả Joni Sharma và cộng sự (2014) sử dụng mô

hình GERD trên chuột cho thấy chỉ số thực quản tăng đáng kể so với nhóm đối chứng [60]. Nghiên cứu của Koji Takeuchi và Kenji Nagahama (2014), diện tích tổn thương ở nhóm mô hình GERD tăng lên so với nhóm chứng, mô bệnh học đại thể của thực quản cũng được ghi nhận có sự thay đổi rõ. Ngoài ra, trong nghiên cứu trên tác giả cũng so sánh với lô mô hình có kết hợp indomethacin cho thấy thời gian gây loét thực quản ngắn hơn so với mô hình không dùng indomethacin [57]. Mohamed-Amine Jabri và cộng sự (2016) cho thấy thực quản bị sung huyết tương đối rộng và có sự thay đổi nhỏ ở phần niêm mạc, các chỉ số về thành phần dịch vị cũng thay đổi có ý nghĩa thống kê, trong đó pH dịch vị giảm, thể tích dịch vị và độ acid tăng lên [74].

Từ kết quả nghiên cứu có thể kết luận chúng tôi đã xây dựng thành công mô hình GERD trên động vật thực nghiệm và mô hình đủ tin cậy để đánh giá tác dụng của các chế phẩm thử nghiệm. Trong nghiên cứu, chúng tôi chọn, esomeprazol làm thuốc đối chứng dương. Thuốc ức chế bơm proton (PPI) thường được sử dụng đồng thời với NSAID để giảm các tác dụng phụ trên đường tiêu hóa do NSAID gây ra [75]. Việc sử dụng đồng thời này thường được coi là an toàn và được đưa vào nhiều hướng dẫn kê đơn NSAID. Esomeprazol là PPI mới nhất và được phát triển dưới dạng đồng phân S của omeprazol nhằm cải thiện tính chất dược động học của thuốc. Esomeprazol đã được báo cáo là có hiệu lực ức chế acid cao hơn so với các PPI khác. Theo nghiên cứu của Katz, PPI giúp làm giảm 56% - 76% tỷ lệ các triệu chứng đồng thời 80% - 85% các tổn thương thực quản được phục hồi. Dựa trên nghiên cứu hiệu quả điều trị của thuốc trong nhóm PPI chúng tôi đã chọn esomeprazol (Nexium 10mg) làm thuốc chứng dương [76]. Kết quả ở bảng 15 và bảng 16 cho thấy nhóm được điều trị esomeprazol liều 10 mg/kg/ngày làm giảm nồng độ acid, giảm thể tích và tăng pH dịch vị so với lô mô hình. Diện tích ổ loét và chỉ số thực quản giảm có ý nghĩa thống kê, chỉ số giảm loét là 90,64% so với lô mô hình. Hình ảnh

đại thể và vi thể của thực quản tổn thương được cải thiện so với mô hình. Trong nghiên cứu của Koji Takeuchi và Kenji Nagahama, nhóm chuột sử dụng omeprazol (10 mg/kg/ngày) đã giảm đáng kể diện tích thực quản bị tổn thương và lượng acid trong dạ dày so với nhóm mô hình GERD [57]. Nhóm chuột uống omeprazol (20 mg/kg ngày) trong nghiên cứu của Kenichi Nakahara và cộng sự (2014). cho thấy pH và thể tích dịch vị đều được cải thiện, hình ảnh đại thể và vi thể cũng làm giảm tổn thương rõ rệt [77]. Điều này có thể thấy, kết quả trong nghiên cứu này tương đồng với kết quả nghiên cứu về PPI của các tác giả khác trên thế giới.

Tổn thương của GERD là do sự tiếp xúc của acid trong dạ dày với niêm mạc biểu mô thực quản nên cần có chỉ số để đánh giá khả năng bài tiết của dạ dày. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã đánh giá thể tích dịch dạ dày, pH, độ acid tự do và độ acid toàn phần. Sự gia tăng lượng acid và lượng dịch trong dạ dày là một yếu tố tăng nguy cơ gây GERD. Kết quả bảng 3.15 cho thấy thể tích dịch vị ở nhóm uống KTHV cả hai liều cho thấy có xu hướng giảm đáng kể so với lô mô hình. pH thực quản 24 giờ là tiêu chuẩn được sử dụng trong chẩn đoán GERD, chỉ số này được tính gián tiếp thông qua pH dịch vị [78]. Mức độ tổn thương niêm mạc thực quản ở bệnh nhân trào ngược dạ dày thực quản phụ thuộc vào thời gian tiếp xúc và độ pH của dịch trào ngược. Bằng chứng cho thấy rằng độ pH trong thực quản dưới 4,0 tương quan trực tiếp với mức độ tổn thương niêm mạc [78]. Kết quả trong bảng 3.16 cho thấy độ pH ở nhóm dùng KTHV liều thấp tăng đáng kể so với nhóm dùng mô hình GERD. Tính acid là yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến độ pH, acid clohydric là tác nhân chính ảnh hưởng đến độ pH dịch dạ dày. Ở loài động vật gặm nhấm có nhiều sinh vật cộng sinh trong dạ dày, các vi sinh vật này tiết ra các acid hữu cơ như acid lactic, acid axetic... Đây là các acid yếu góp phần làm thay đổi độ pH của dịch vị. Do đó, việc đánh giá độ acid trong dịch vị đòi hỏi phải xác định nồng độ của

cả acid hữu cơ và acid clohydric và được đánh giá thông qua 2 chỉ số độ acid tự do và độ acid toàn phần của dịch vị. Kết quả nghiên cứu trong bảng 3.16, cả độ acid tự do ở cả 2 nhóm dùng KTHV có xu hướng giảm so với lô hình, độ acid toàn phần cho thấy giảm có ý nghĩa thống kê ở cả 2 nhóm KTHV ($p < 0,01$).

Chỉ số loét thực quản phản ánh tổn thương loét trên hình ảnh đại thể của thực quản. Tuy nhiên, không phải tất cả các tổn thương GERD đều là loét và rất khó tính diện tích loét, có thể gây sai sót. Vì vậy, chỉ số thực quản được sử dụng cùng với diện tích ổ loét để đánh giá chính xác hơn tổn thương trên đại thể của niêm mạc thực quản đã được áp dụng trong nhiều nghiên cứu [67], [79]. Ở cả hai liều KTHV đều có xu hướng làm giảm diện tích tổn thương và chỉ số thực quản. Trong đó, KTHV liều thấp có tác dụng trên cả diện tích vết loét thực quản và chỉ số thực quản, tỷ lệ giảm vết loét tương ứng ở liều thấp và liều cao là 1,80% và 22,72%. Niêm mạc thực quản trên đại thể ở cả hai nhóm được điều trị bằng KTHV cho thấy mức độ tổn thương trên niêm mạc thực quản ít hơn so với nhóm mô hình tuy chưa có sự cải thiện tương đương với nhóm chứng dương được điều trị bằng esomeprazol 10 mg/kg/ngày.

Hiện nay, mô bệnh học là tiêu chuẩn để chẩn đoán nhiều bệnh trên lâm sàng vì có thể thấy hình ảnh bệnh lý kể cả khi chưa thấy hình ảnh tổn thương đại thể. Mô bệnh học trong GERD là tình trạng viêm thực quản dẫn đến loét thực quản. Viêm thực quản được chẩn đoán trên mô bệnh học theo các tiêu chí: Sự hiện diện của nhiều hơn một tổn thương mô học nhẹ hoặc xói mòn hoặc xói mòn đã lành sự xuất hiện của bạch cầu trung tính trong biểu mô ở bệnh nhân GERD [80].

Mô bệnh học thực quản cho thấy tổn thương viêm thực quản nặng ở nhóm mô hình GERD. Trên hình ảnh mô bệnh học lô mô hình cho thấy, niêm mạc thực quản phủ biểu mô lát tầng có vùng bị trợt loét nông, mất lớp biểu mô phủ, đáy ổ trợt loét vượt qua lớp cơ niêm, mô đệm phù nề và thoái hoá, xâm nhiễm

một vài đám tế bào bạch cầu. Số lượng mạch máu thưa thớt. Các tế bào biểu mô bờ ổ loét bị bong tróc. Vi thể mô bệnh học niêm mạc thực quản ở 2 nhóm dùng KTHV có sự cải thiện hơn so với lô mô hình GERD, trong đó tác dụng trên vi thể mô bệnh học rõ rệt hơn ở liều thấp 1,8 g/kg/ngày (liều tương đương liều dự kiến lâm sàng). Niêm mạc thực quản phủ biểu mô lát tầng có lớp sừng hoá nhẹ trên bề mặt, các lớp biểu mô rõ cấu trúc tạo thành các nhú nhỏ trên bề mặt, màng đáy rõ.

Bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống - HV” bao gồm các loại dược liệu sẵn có ở Việt Nam đã được nghiên cứu trên thế giới chứng minh có tác dụng trong việc làm giảm sự tổn thương gây ra do sự tăng tiết acid dịch vị. Sự kết hợp các dược liệu có thể được tăng cường nhờ các cơ chế bảo vệ khác nhau. Trần bì là vị dược liệu được sử dụng phổ biến trong YHCT để điều trị các bệnh lý khác nhau. Flavonoid và acid phenolic là hai thành phần quyết định tác dụng của vị thuốc. Sự hiện diện của các hoạt chất này trong Trần bì được biết là có tác dụng chống oxy hóa và bảo vệ niêm mạc dạ dày, làm giãn cơ trơn của dạ dày, ruột, làm tăng tiết dịch nhày. Ngoài ra, Trần bì có tác dụng kháng viêm, kháng khuẩn, chống loét do thành phần Humulene và Humulenol acetat làm giảm tiết dịch vị trên mô hình gây loét dạ dày bằng cách thắt môn vị [81]. Các terpenoid như scopadulcic acid A,B, scopadiol, scopadulciol, scopadulin, scoparic acids A–C...có trong Cam thảo có tác dụng ức chế sự tiết histamin, đồng thời ức chế bơm proton ở tế bào thành của dạ dày từ đó giúp làm giảm tiết acid dịch vị [82]. Bên cạnh đó, thành phần glycirisin và glycuronic acid có trong Cam thảo còn có tác dụng kháng viêm, làm giảm mức độ tổn thương niêm mạc do acid gây ra [83]. Một số vị thuốc khác cũng đã được nghiên cứu chứng minh tác dụng giảm tiết acid dạ dày trên thực nghiệm như: Đẳng sâm, Sa sâm, Hậu phác.. Nghiên cứu của Jiankuan Li cung cấp những hiểu biết sâu sắc về tiềm năng của CP-A, một loại fructan inulin được phân lập từ rễ của Đẳng sâm có tác dụng ức chế

loét do ethanol gây ra ở chuột. Kết quả chỉ ra rằng nhóm được điều trị bằng CP-A (50 mg/kg) có biểu hiện tổn thương dạ dày cấp độ 1, tương tự như nhóm đối chứng dương, trong khi ở lô mô hình biểu hiện tổn thương dạ dày cấp độ 3. Thử nghiệm Guth chứng minh chỉ số loét niêm mạc đối với nhóm CP-A liều 50 mg/kg và 25 mg/kg giảm đáng kể so với nhóm mô hình ($p < 0,05$). Trong khi đó, CP-A làm tăng đáng kể các hoạt động của SOD và GSH-Px, đồng thời làm giảm hàm lượng MDA và NO và hoạt động MPO của mô dạ dày theo cách phụ thuộc vào liều ở chuột gây ra bởi ethanol ($p < 0,05$) [84]. Một nghiên cứu của Zhu đã chỉ ra chiết xuất ethanol của Hậu phác ở các mức liều 5 g/kg, 15 g/kg có thể ức chế đáng kể tình trạng loét do HCl gây ra ở chuột cống [85]. Trong một nghiên cứu mới nhất năm 2022 của Yuli Li, chứng minh sự phối hợp của các dược liệu trong các bài thuốc YHCT của Trung Quốc trong đó có Bạch linh, Trần bì, Cam thảo...có chứa các hợp chất quercetin, kaempferol, naringenin, baicalein, nobiletin và hederagenin, được xác định là các thành phần hoạt chất chính của chế phẩm chống lại tình trạng tăng tiết acid [86].

KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu, chúng tôi rút ra các kết luận như sau về bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống - HV” như sau:

1. Độc tính bán trường diễn của bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống - HV” trên chuột cống trắng.

“Kiện tỳ chỉ thống - HV” liều 1,8 g /kg/ngày (liều có tác dụng tương đương liều cao nhất dự kiến trên người) và liều 5,4 g/kg/ngày, uống liên tục trong 4 tuần không gây độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng, thể hiện không ảnh hưởng tới tình trạng chung của chuột, không làm thay đổi các chỉ số về sự gia tăng trọng lượng cơ thể, các chỉ số đánh giá chức năng tạo máu, chức năng gan và tổn thương gan, chức năng thận, không gây tổn thương đại thể các cơ quan và cấu trúc vi thể gan, thận chuột .

2. Tác dụng của của bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống - HV” trên mô gây trào ngược dạ dày thực quản ở chuột cống trắng trên thực nghiệm.

Kết quả nghiên cứu tác dụng của bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống – HV” trên mô hình trào ngược dạ dày – thực quản trên thực nghiệm với hai mức liều: “Kiện tỳ chỉ thống – HV” liều tương đương liều dự kiến lâm sàng (1,8 g/kg/ngày) và liều cao gấp 2 lần lâm sàng (3,6 g/kg/ngày) trong thời gian 7 ngày cho thấy:

+ Cả 2 mức liều “Kiện tỳ chỉ thống – HV” làm **tăng pH dịch vị, làm giảm độ acid toàn phần có ý nghĩa thống kê** so với lô mô hình. Đồng thời có **xu hướng làm giảm thể tích dịch vị, giảm độ acid tự do và diện tích loét trung bình, chỉ số thực quản** so với lô mô hình. Tỷ lệ giảm loét so với lô mô hình tương ứng là 22,72%; 1,80 %

+ Không có sự khác biệt về mức độ tác dụng của KTHV và esomeprazol về độ acid toàn phần, pH dịch vị, diện tích tổn thương thực quản và chỉ số thực quản.

+ Không có sự khác biệt về mức độ tác dụng của KTHV liều tương đương liều dự kiến lâm sàng (1,8 g/ngày) và liều cao gấp 2 lần lâm sàng (3,6 g/kg/ngày).

KIẾN NGHỊ

Trào ngược dạ dày – thực quản là bệnh lý ngày càng phổ biến trên thế giới cũng như tại Việt Nam. Việc tìm ra và áp dụng các phương thuốc mới từ nguồn dược liệu trong nước có hiệu quả, an toàn, giá thành hợp lý để điều trị là rất cần thiết.

Kết quả nghiên cứu bước đầu cho thấy bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống - HV” có độ an toàn cao và có khả năng tốt trong điều trị trào ngược dạ dày thực quản. Để hướng tới có thể sử dụng thuốc rộng rãi trong cộng đồng, cần tiếp tục nghiên cứu đầy đủ hơn về tác dụng của “Kiện tỳ chỉ thống - HV”:

- Tìm hiểu thêm về cơ chế tác dụng của bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống - HV”
- Xin phép Bộ Y tế được đưa bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống - HV” vào thử nghiệm lâm sàng để đánh giá hiệu quả điều trị, độ an toàn của bột cốm “Kiện tỳ chỉ thống - HV”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Ngô Quý Châu** (2016), *Cẩm nang điều trị Nội khoa*, NXB Đại học Huế, tr791-796.
2. **Phạm Quang Cử** (2015), *Bệnh các cơ quan tiêu hóa*, NXB Y học, tr18-31.
3. **Nguyễn Duy Thắng** (2016), *Bệnh lý dạ dày tá tràng*, NXB Y học, tr29-46.
4. **Trường Đại học Y Hà Nội, Bộ môn Nội Tổng hợp** (2009), *Bệnh học nội khoa bài giảng dành cho đối tượng sau đại học*, tập 1, Nhà xuất bản Y học.
5. **Papiya Bigoniya, Kailash Singh** (2014). Ulcer protective potential of standardized hesperidin, a citrus flavonoid isolated from Citrus sinensis. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24(3), 330-340.
6. **Lê Văn Dũng** (2001), *Nhận xét hình ảnh nội soi - mô bệnh học thực quản ở những bệnh nhân có triệu chứng lâm sàng trào ngược dạ dày - thực quản*, Luận văn thạc sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
7. **Nguyễn Thị Lan Anh** (2009), *Bệnh dạ dày và cách điều trị*, NXB Lao động, tr67-68.
8. **Học viện Quân Y, Bộ môn Nội Tiêu hóa** (2011), *Nội tiêu hóa*, tr153-159.
9. **Trịnh Tuấn Dũng, Tạ Long, Nguyễn Quang Chung** (1997). Đặc điểm lâm sàng, nội soi và mô bệnh học của viêm dạ dày mạn. *Tạp chí Nội khoa*, 1/1997, 58 – 63.
10. **Phạm Khuê và cộng sự** (1979). Thống kê tỷ lệ GERD tá tràng ở Miền Bắc. *Tạp chí thầy thuốc Việt Nam*, 30 – 37.
11. **Hoàng Bảo Châu** (2010). “Vị quản thông”, *Nội khoa Y học cổ truyền*, 2, tr 95-100.

12. **Khoa Y học cổ truyền, Trường Đại học Y Hà Nội** (2016). Vị quản thông, *Bệnh học nội khoa Y học cổ truyền* (sách đào tạo sau đại học), Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr195 – 202.

13. **The Gallup Organization** (2000), *A Gallup Organization National Survey: HB Across America*. Princeton.

14. **Edoardo G and Giannini.** (2005), "*Managenent strategy for patients with gastroesophageal reflux disease: A comparison between empirical treatment with Esomeprazol and endoscopy-oriented treatment*", *Americal journal of Gastroenterlogy*, pp. 267-275.

15. **Thái Khắc Minh** (2007), *Trào ngược dạ dày thực quản: Điều trị và xu hướng phát triển thuốc*, Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

16. **Nguyễn Khánh Trạch và cộng sự** (2001), *Ứng dụng nội soi trong chẩn đoán và điều trị bệnh lý tiêu hóa*, Bệnh viện Bạch Mai.

17. **Burroughs Mc Donald John W.D Andrew K, Brian G. Feagan and M Brian** (2010), *Gastroesophageal reflux disease, Gastroenterology and Hepatology*. Third Edition.

18. **Nguyễn Hòa Bình** (1996), *Góp phần nghiên cứu vấn đề nhiễm Helicobacter Pylori trong viêm loét dạ dày tá tràng mãn tính*, Nội khoa, II, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr28,32.

19. **Bộ môn Nội Y học cổ truyền, Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam** (2015). *Bài giảng Bệnh học Nội khoa y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr91 - 95.

20. **Đỗ Thị Cương, Nguyễn Thị Oanh** (1995). Nhận định về tác dụng của Famotidin (biệt dược Quanmatel) trong điều trị loét dạ dày tá tràng, *Báo cáo hội nghị khoa học Bệnh viện E*, tr5- 6.

21. **Học viện Quân Y** (2012), *Bài giảng Nội tiêu hóa*, NXB Quân đội nhân dân, tr43-49, 153-159.

22. **Ngô Quý Châu** (2016), *Bệnh học Nội khoa tập 2*, NXB Y học, tr 19-31

23. **Trường Đại học Y Hà Nội, Bộ môn Nội tổng hợp** (2011), *Điều trị học nội khoa tập 1*, NXB y học, tr 39.
24. **Douglas a drossman** (2006), "*The new criteria*", Chinese journal of Digestive Diseases. 7. pp. 181-185.
25. **Fujiwara Y và Higuchi K** (2005), "*Prevalence of gastroesophageal reflux disease and gastroesophageal reflux disease symptoms in japan*", Juornal of gastroenterlogy and hepatology. 20,pp. 26-29.
26. **The Los Angeles Classification of Gastroesophageal Reflux Disease SS Sami and K Ragunath** (2013). *University of Nottingham, Nottingham, UK.* pp 103-104.
27. **Trần Thị Thanh Hoa** (2008), *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, nội soi, mô bệnh học, và giá trị của chụp xạ hình ở đoạn nối tâm vị thực quản trong bệnh trào ngược dạ dày thực quản*, Luận văn Thạc sĩ y học, Học viện Quân Y.
28. **Đào Văn Long** (2015), *Quy trình kỹ thuật nội khoa chuyên ngành tiêu hóa*, NXB Y học, tr57-59, 267-270.
29. **Đỗ Đức Vân** (2001), "*Trào ngược dạ dày thực quản*", Ngoại khoa 1, tr.1-6.
30. **Nguyễn Đạt Anh** (2014), *Các thang điểm thiết yếu trong sử dụng trong thực hành lâm sàng*, NXB Thế giới, tr178.
31. **Velanovich V** (2007), "*The development of the GERD-HRQL symptom severity instrument*". Dis Esophagus. 20. pp. 130-4.
32. **禁星,赫芳**(2009). 中药党参的研究进展。现代生物医学进展 年 9 (12) Lý Lê Tinh, Khang Kiệt Phương (2009). Nghiên cứu phát triển vị thuốc đảng sâm. Phát triển y học sinh vật hiện đại, năm 9 (2012).
33. **Trường Đại học Y Hà Nội, Khoa Y học cổ truyền** (2012), *Bài giảng y học cổ truyền*, tập I, chủ biên, NXB Y học, tr48-50.

34. Tae-Geun Gwen et al. Additive Effects of Rebamipide Plus Proton Pump Inhibitors on the Expression of Tight Junction Proteins in a Rat Model of Gastro-Esophageal Reflux Disease. *Gut and Liver*. 2018;12(1):46-50.
35. Jinxi He et al. Surgical Models of Gastroesophageal Reflux with Mice. *J Vis Exp*. 2015;102.
36. Rao CV, Vijayakumar M. Effect of quercetin, flavonoids and alpha-tocopherol an antioxidant vitamin on experimental reflux esophagitis in rats. *Eur J Pharmacol*. 2008;589:233-238.
37. **Hải Thượng Lãn Ông Lê Hữu Trác** (1997), “Vị quản thông”, *Hải thượng y tông tâm lĩnh*, Nhà xuất bản Y học Hà Nội, tr. 92-482
38. 吕俊芳 (2011). 中医辨证治疗胃脘痛临床观察. *中国实用医药*, 6(18), 140-141.
- Lã Tuấn Phương (2011). Quan sát lâm sàng trung y biện chứng điều trị vị quản thông, *Y dược Trung quốc thực dụng*, 6(18), 140-141.
39. 杨玉红, 张淑华 (2009). 胃脘痛的辨证施护. *中国医药导报*, 6(10), 222-223.
- Dương Ngọc Hồng, Trương Thúc Hoa (2009). Vị quản thông biện chứng. *Y dược trung quốc*, 6(10), 222-223.
40. **Trần Thúy, Phạm Duy Nhac, Hoàng Bảo Châu** (1994), GERD tá tràng, y học cổ truyền, *NXB Y học Hà Nội*, tr. 470-475.
41. **Nguyễn Quang Dương** (2017), *Bước đầu đánh giá tác dụng của bài thuốc “Tuyên phúc đại giả thang” trong điều trị bệnh trào ngược dạ dày thực quản*, Luận văn Thạc sỹ Y học, Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam.
42. **Hoàng Bảo Châu** (1999). *Nội khoa y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, tr95 - 100.

43. **Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương và cộng sự** (2004). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, tập I, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, tr634.

44. **Nguyễn Ngọc Chức, Nguyễn Khánh Trạch, Trần Văn Hợp** (2000). *Nghiên cứu mối liên hệ giữa tỷ lệ viêm dạ dày, viêm tá tràng mãn tính và nhiễm Helicobacter pylory ở bệnh nhân loét hành tá tràng*, Tạp chí Nội khoa (chuyên đề tiêu hóa), 1, tr48-52.

45. **Nguyễn Thiện Nguyên** (1991). Helicobacter Pylori đóng vai trò gì trong bệnh loét dạ dày tá tràng, *Hội thảo về điều trị loét hành tá tràng ở Việt Nam trong tương lai*.

46. **Nguyễn Đức Tuấn** (2018). *Đánh giá tác dụng của bài thuốc Cam thảo bạch thực gia giảm trong điều trị bệnh trào ngược dạ dày thực quản*, Luận văn Thạc sỹ Y học, Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam.

47. **Bộ Y tế** (2017), *Dược điển Việt Nam tập V, tập 2*, Nhà xuất bản Y học, tr 1080, 1095, 1111, 1127, 1153, 1183, 1292, 1305, 1358.

48. **Đỗ Tất Lợi** (2019), *“Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam”*, Nhà xuất bản Hồng Đức.

49. **Viện Dược Liệu** (2006). *“Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo”*, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, tr 44, 45.

50. **Nguyễn Thị Lan** (2015). *“Đánh giá tác dụng giảm nhu động ruột của bài thuốc “Kiện tỳ hành khí chỉ tả thang” trên thực nghiệm”*, Luận văn thạc sỹ y học, Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam.

51. **Dương Thị Quyên** (2019). *“Đánh giá tác dụng điều trị Hội chứng ruột kích thích của bài thuốc Kiện tỳ hành khí chỉ tả thang trên lâm sàng”*, Luận văn Thạc sỹ Y học, Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam.

52. **Đỗ Trung Đàm** (2014). *Phương Pháp Nghiên Cứu Độc Tính Của Thuốc*. Nhà xuất bản y học, Hà Nội.

53. **Cục khoa học Công nghệ và Đào tạo - Bộ Y tế** (2015). Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu.
54. **Gerhard Vogel H.** (2016.) *Drug discovery and evaluation Pharmacological assays*, Springer.
55. **World Health Organization** (2013). *Working group on the safety and efficacy of herbal medicine*, Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization
56. **Zainul Amiruddin Zakaria, Tavamani Balan, Ahmad Khusairi Azem, et al** (2016). *Mechanism(s) of action underlying the gastroprotective effect of ethyl acetate fraction obtained from the crude methanolic leaves extract of Muntingia calabura*. BMC Complementary and Alternative Medicine, 16:78
57. **Koji Takeuchi, Kenji Nagahama,** (2013). *Animal Model of Acid-Reflux Esophagitis: Pathogenic Roles of Acid/Pepsin, Prostaglandins, and Amino Acids*. BioMed Research International. 2014, 10 pages.
58. **Takahiro Masuda, Sumeet K. Mittal** (2017). *Current Animal Models of Gastroesophageal Reflux Disease, Barrett's Esophagus, and Esophageal Adenocarcinoma*, Journal of Nature and Science (JNSCI), 3(6): 387.
59. **Seyed Mahdi Mohamadi, Fatemeh Nabavizadeh, Mahdieh Faghih et al** (2017). *Effects of exogenous ghrelin on experimental reflux esophagitis model in male rat*, Journal of Physiology and Pathophysiology, 6 (2), 6-12.
60. **Joni Sharma, Shyam Sundar Gupta, B Pavan Kumar DU Roshni Khare, et al** (2014). Effect of USNIC acid and Cladonia Furcata extract on gastroesophageal reflux disease in rat. *International Journal of Experimental Pharmacology*, 4(1):55-60.
61. **Nguyễn Thế Khánh, Phạm Tử Dương** (2001), *Xét nghiệm sử dụng trong lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học.

62. **Vũ Đình Vinh (2001)**, *Hướng dẫn sử dụng các xét nghiệm sinh hoá*, Nhà xuất bản Y học, tr 115-287.
63. **Nguyễn Đạt Anh, Nguyễn Thi Hương (2013)**. *Hướng Dẫn Sử Dụng Các Xét Nghiệm Sinh Hóa*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội;
64. **Liu Z, Zhang X, Cui W, et al (2007)**. Evaluation of short - term and sub-chronic toxicity of Magnolia bark extract in rats, *Regul Toxicol Pharmacol*, 49(3), 160-71.
65. **Yiping Lin, Yuke Li, Yuanlian Zeng, et al (2021)**. Pharmacology, Toxicity, *Bioavailability*, and Formulation of Magnolol: An Update Toxicology, 226(2-3), 152-160.
66. **Jianzhi Wu, Guangrui Huang, Yajing Li (2020)**. Flavonoids from Aurantii Fructus Immaturus: promising phytomedicines for the *treatment* of liver diseases. *Chinese Medicine*; 15 (89)
67. **Sameh S. Zaghlool, Ali A. Abo-Seif, Mohamed A. Rabeh et al (2019)**. Gastro-Protective and Anti-Oxidant Potential of Althaea officinalis and Solanum nigrum on Pyloric Ligation/Indomethacin-Induced Ulceration in Rats. *Antioxidants (Basel)*. 8(11), 512
68. **Shyam Sundar Gupta, Lubna Azmi, P. K. Mohapatra et al (2017)**. Flavonoids from whole Plant of Euphorbia hirta and their Evaluation against Experimentally induced Gastroesophageal Reflux Disease in Rats. *Pharmacognosy Magazine*, 3(49), 127 – 134.
69. **Inas Z.A., Hala A.K., Gehan H.H (2011)**. Gastroprotective effect of *Cordia myxa* L. fruit extract against indomethacin-induced gastric ulceration in rats. *Life Sci. J.* 8:433–445
70. **Wang T., Zhao S., Wang Y., Yang Y., Yao L., Chu L., Du H., Fu F. (2014)**. Protective effects of escin against indomethacin-induced gastric ulcer in mice. *Toxicol. Mech. Method.* 24:560–566

71. **Redlak M.J., Power J.J.**, (2005). Miller T.A. Role of mitochondria in aspirin-induced apoptosis in human gastric epithelial cells. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 289:731–738.
72. **Abdel-Raheem I.T** (2010). Gastroprotective effect of rutin against indomethacin-induced ulcers in rats. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 107:742–750.
73. **Zainul Amiruddin Zakaria et al. (2016)**. Mechanism(s) of action underlying the gastroprotective effect of ethyl acetate fraction obtained from the crude methanolic leaves extract of *Muntingia calabura*. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 16:78.
74. **Mohamed-Amine Jabri et al.** (2016). Ameliorative and antioxidant effects of myrtle berry seed (*Myrtus communis*) extract during reflux-induced esophagitis in rats. *Pharmaceutical Biology.* 54(9):1-11.
75. **Gwee K.A., Goh V., Lima G., Setia S.** (2018). Coprescribing proton-pump inhibitors with nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Risks versus benefits. *J. Pain Res.* 11:361–374.
76. **Gralnek IM, Dulai GS, Fennerty MB, Spiegel BMR** (2006). Esomeprazole versus other proton pump inhibitors in erosive esophagitis: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 4(12):1452-1458
77. **Kenichi Nakahara et al. (2014)**. Acid Reflux Directly Causes Sleep Disturbances in Rat with Chronic Esophagitis. *PLoS ONE.* 9(9):1-9.
78. **R. H. Hunt.** (1999). Importance of pH control in the management of GERD, *Archives of Internal Medicine*, 159(7). 649– 657.
79. **Jinxi He et al.** (2015). Surgical Models of Gastroesophageal Reflux with Mice. *J Vis Exp.* 102
80. **Roberto Fiocca et al.** (2011). Microscopic esophagitis and Barrett's esophagus: The histology report. *Digestive and Liver Disease.* 43S:319-330.

81. **S. Sood, A. Muthuraman, N.S. Gill, M. Bali and P.D. Sharma** (2010) Effect of Citrus karna Peel Extract on Stress Induced Peptic Ulcer in Rat, *Journal of Biological Sciences*. 10(3): 231-236
82. **Babincová M, Schronerová K, Sourivong P.** (2008). Antiulcer activity of water extract of *Scoparia dulcis*. *Fitoterapia*. 79(7):587-588.
83. **Tsai J-C, Peng W-H, Chiu T-H, Lai S-C, Lee C-Y.** (2011). Anti-inflammatory effects of *Scoparia dulcis* L. and betulinic acid. *Am J Chin Med*. 39(5):943-956.
84. **Li J, Wang T, Zhu Z, Yang F, Cao L, Gao J.** (2017). Structure Features and Anti-Gastric Ulcer Effects of Inulin-Type Fructan CP-A from the Roots of *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. *Mol Basel Switz*. 22(12).
85. **Zhu Z, Zhang M, Shen Y, Wang H** (1997). Pharmacological effect of cortex *Magnoliae officinalis* on digestion system. *J Chin Mater Medica*. 1997;22(11): 686-688, 704
86. **Yuli Li, Xiaoya Li, and Zhoujin Tan.** (2022). Basic Traditional Chinese Medicinal Compound for Adjuvant Treatment of Helicobacter pylori Related Gastritis: Implication for Anti-H. pylori Related Gastritis Drug Discovery, *Natural Product Communications*.17(7): 1–18.