

CẢI THIỆN TỔN THƯƠNG NIÊM MẠC DẠ DÀY DO INDOMETHACIN GÂY RA Ở CHUỘT (*Mus musculus*) BỞI CHIẾT XUẤT ETHANOL TỪ LÁ CÂY ĐẠ CẨM (*Oldenlandia capitellata* Kuntze)

TRẦN THỊ PHƯƠNG NHUNG

Viện Công nghệ sinh học và thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh

Tác giả liên hệ: tranthiphuongnhung@iuh.edu.vn

DOIs: <https://doi.org/10.46242/jstiuh.v71i5.4856>

Tóm tắt. Viêm loét dạ dày là một vấn đề sức khỏe cộng đồng quan trọng trên toàn thế giới và có liên quan đến các biến chứng nghiêm trọng khác nhau. Sử dụng lâu dài thuốc chống viêm không steroid (NSAID) gây tổn thương và loét niêm mạc dạ dày. Ở Việt Nam, lá *Oldenlandia capitellata* K. được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền để điều trị viêm loét dạ dày. Nghiên cứu này nhằm xác định tác dụng của chiết xuất ethanol từ lá *O. capitellata* (EOCK) trong việc cải thiện tổn thương niêm mạc dạ dày ở chuột bị viêm dạ dày do indomethacin (IND) gây ra. Những con chuột Swiss albino được chia thành sáu nhóm (mỗi nhóm gồm 5 con chuột). Các nhóm bao gồm nhóm đối chứng bình thường được điều trị bằng nước cất, nhóm kiểm soát loét dạ dày (đối chứng âm) được điều trị bằng IND (45 mg/kg), nhóm đối chứng dương được điều trị bằng omeprazole (OME) (20 mg/kg) và nhóm các nhóm thử nghiệm được điều trị bằng các liều EOCK khác nhau (200, 250 và 300 mg/kg). 30 phút sau khi sử dụng nước cất, OME và EOCK, chuột được gây viêm loét dạ dày do tiếp xúc cấp tính với IND. Sự can thiệp của EOCK và OME tiếp tục được thực hiện trong 21 ngày liên tục. Tiền xử lý bởi EOCK đã làm giảm tổn thương niêm mạc dạ dày, chỉ số loét, pH và hàm lượng axit. Biểu hiện lâm sàng của việc cải thiện niêm mạc dạ dày bằng EOCK bao gồm sự gia tăng đáng kể nồng độ SOD, GPx, GSH, TAC, IL-10 và giảm nồng độ TNF- α , IL-1 β . Kiểm tra mô bệnh học cho thấy giảm đáng kể tình trạng phù nề và thâm nhiễm bạch cầu ở lớp dưới niêm mạc. Chiết xuất ethanol từ lá *O. capitellata* đã chứng minh tác dụng bảo vệ dạ dày ở chuột bị loét dạ dày do IND gây ra. Nghiên cứu hiện tại góp phần phát triển các lựa chọn chiết xuất thực vật hợp lý để cải thiện tổn thương niêm mạc dạ dày do các tác nhân hóa học gây ra.

Từ khóa: *Oldenlandia capitellata* K., dịch chiết, bảo vệ dạ dày, cải thiện tổn thương niêm mạc, viêm loét dạ dày

1. GIỚI THIỆU

Viêm loét dạ dày là bệnh phổ biến nhất với tỷ lệ mắc bệnh (20 – 60)/100.000 dân và chiếm 5 - 10% tỷ lệ tử vong trên toàn thế giới. Bệnh viêm loét dạ dày kéo dài có nguy cơ dẫn đến ung thư dạ dày rất cao [1]. Viêm loét dạ dày xảy ra do sự hiện diện của một số yếu tố như axit, pepsin, axit mật, *Helicobacter pylori*, ethanol và thuốc chống viêm không steroid (NSAID), ... cản trở các yếu tố phòng thủ như mối nối chặt chẽ giữa các tế bào biểu mô, vi mạch tuần hoàn máu, bài tiết bicarbonate, prostaglandin và oxit nitric [2]. Cơ chế bệnh sinh của viêm loét dạ dày là sự bài tiết axit dịch vị. Do đó, mục tiêu điều trị chính là kiểm soát sự bài tiết này bằng cách sử dụng thuốc kháng axit, thuốc ức chế thụ thể H₂ (ranitidin, famotidine) hoặc thuốc chặn bơm proton (omeprazole và lansoprazole). Tuy nhiên, việc điều trị viêm loét dạ dày hiện nay gặp phải một nhược điểm lớn là vì hầu hết các loại thuốc hiện có trên thị trường đều cho thấy hiệu quả hạn chế đối với các bệnh dạ dày và thường đi kèm với các tác dụng phụ nghiêm trọng như lo âu, căng thẳng, chóng mặt, choáng váng, táo bón, tiêu chảy [3]. Hiện nay, các sản phẩm tự nhiên đang chiếm lĩnh vị trí và tầm quan trọng trong ngành dược phẩm cũng như truyền cảm hứng cho việc tìm kiếm các nguồn phân tử hoạt tính sinh học tiềm năng mới. Các loại thảo mộc, cây thuốc và dược chất thô được coi là nguồn tiềm năng để chống lại các bệnh khác nhau bao gồm viêm loét dạ dày. Trong các tài liệu khoa học, một số lượng lớn cây thuốc có khả năng chống viêm loét dạ dày đã được báo cáo [4].

Chi *Oldenlandia* (họ Rubiaceae) gồm các cây thân thảo hoặc cây bụi, hoa 4 cánh, đầu nhụy hai thùy, quả nang hai ngăn và nhiều hạt, chúng được phân bố rộng rãi ở các vùng nhiệt đới và nóng ẩm như Trung Quốc, Nhật Bản, Việt Nam, Ấn Độ, Indonesia và Thái Lan. Về mặt khoa học, chi *Oldenlandia* đã được báo cáo là có chứa nhiều thành phần có hoạt tính sinh học như phenolic, steroid, terpenoid iridoids, anthraquinones,

flavonoids, alkaloids, sterols, polysaccharides, protein. Trong y học cổ truyền, chi thực vật này được sử dụng rộng rãi để điều trị các bệnh khác nhau như chống ung thư, trị sỏi đường, bảo vệ dạ dày, gan và thận kinh. Các nghiên cứu dược lý gần đây cũng đã cho thấy tiềm năng sử dụng các hợp chất và chất chiết xuất từ thực vật thuộc chi *Oldenlandia* có tác dụng chống oxy hóa, kháng khuẩn và chống viêm [5]. Theo WHO, thực vật thuộc chi *Oldenlandia* được sử dụng phổ biến trên khắp thế giới cho mục đích y học từ thời xa xưa, là nguồn dược phẩm có triển vọng rộng to lớn, liên quan đến các nghiên cứu hóa học thực vật và hoạt tính sinh học [6]. Nước sắc *O. corymbosa* có tính hàn, được sử dụng trong điều trị sốt, thải độc, lưu thông máu, điều trị ho, viêm phế quản, bệnh phong, vàng da và chăm sóc hệ thần kinh. Lá thu hái, rửa sạch, giã nát, đun và uống nước cốt chữa đau bụng, kiết lý, lợi tiểu, tẩy giun, trị đau dạ dày và chống thấp khớp và điều trị viêm khớp dạng thấp [7]. *O. umbellata* thường được sử dụng chống rắn cắn, thuốc giải độc, giảm đau, hạ sốt [8]. Lá *O. scandens* có đặc tính chống độc, điều trị hen suyễn, viêm phế quản, long đờm, viêm dạ dày [9]. Cây dạ cẩm (*O. capitellata*) thuộc chi *Oldenlandia*, ở Việt Nam, dạ cẩm được xem là “khắc tinh” của những cơn đau dạ dày và viêm loét miệng. Với vị ngọt, hơi đắng, tính bình, dạ cẩm có tác dụng thanh nhiệt, giải độc, giảm đau, tiêu viêm, lợi tiểu. Nó thường được sử dụng để điều trị những cơn đau do viêm loét dạ dày, ợ chua, khó tiêu, đầy bụng, chữa lở lưỡi, loét miệng, làm mau lành các vết thương, giúp chóng lên da non. Theo Đỗ Tất Lợi (2006), cây dạ cẩm (*O. capitellata*) trong thành phần có chứa các hợp chất hóa học như iridoid, tannin, alkaloid, saponin, phenolic, có tác dụng điều trị viêm dạ dày, trung hòa axit, giảm ợ chua, se lạnh vết loét, chữa viêm lưỡi, loét họng, giảm đau [10]. Hiện nay, các kiến thức, kỹ năng và thực hành kế thừa về cách sử dụng truyền thống lá dạ cẩm (*O. capitellata*) điều trị viêm loét dạ dày chỉ dựa trên lý thuyết, niềm tin và kinh nghiệm (thực tế hoặc truyền miệng). Theo hiểu biết của chúng tôi chưa có báo cáo khoa học nào được công bố về các hoạt động chống viêm và bảo vệ tổn thương dạ dày của lá dạ cẩm, mặc dù việc sử dụng cây này theo truyền thống đã được thực hiện để điều trị những cơn đau dạ dày và viêm loét miệng. Do đó, nghiên cứu hiện tại đã được thực hiện để xác định khả năng chống viêm, bảo vệ tổn thương dạ dày của chiết xuất ethanol lá dạ cẩm (*O. capitellata*) thông qua sử dụng mô hình động vật thực nghiệm.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

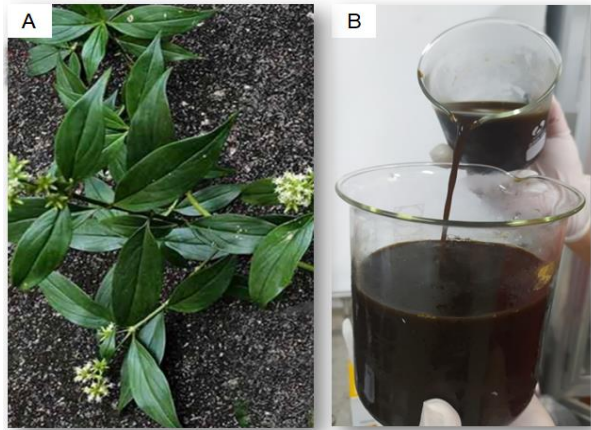
2.1. Thuốc thử, hóa chất

Indomethacin (IND) và Omeprazole (OME) được cung cấp từ Công ty dược phẩm Pharmedic, Việt Nam. Tất cả các hóa chất khác là loại phân tích và được cung cấp từ Sigma (St. Louis, MO, Hoa Kỳ).

2.2. Chuẩn bị nguyên liệu và tạo chiết xuất EOCK

Lá cây dạ cẩm tươi (*O. capitellata*) sử dụng trong nghiên cứu được thu mua tại huyện Cẩm Mỹ, Đồng Nai vào tháng 12 năm 2022 (Hình 1A). Mẫu vật chứng được xác định và ký gửi tại phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học Thực vật, Viện Công nghệ Sinh học - Thực phẩm, trường Đại học Công nghiệp TP. HCM với số chứng từ (Số OC121222VST). Lá tươi được rửa sạch bằng nước máy, được phơi khô trong bóng râm và tiếp tục sấy khô trong tủ sấy Memmert ở 50°C cho đến khi độ ẩm < 10%. Tiếp theo lá khô được nghiền thành bột (qua rây 180/125) bằng máy xay điện. Bột lá được đặt trong bao bì kín, bảo quản ở điều kiện nhiệt độ 4°C để sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

Chuẩn bị chiết xuất ethanol lá cây dạ cẩm (*O. capitellata*): 200g bột lá dạ cẩm được ngâm với 500 mL dung môi methanol 95% trong bình nón trong 3 ngày. Sau 3 ngày, hỗn hợp được lọc bằng vải muslin mịn, sau đó là giấy lọc (Whatman số 4). Dịch lọc thu được sau đó được cô lại dưới áp suất giảm (7,4 kPa) bằng thiết bị cô quay Eyela (Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ) cho đến khi mức chất lỏng (dịch chiết) không thay đổi. Chiết xuất ethanol lá cây dạ cẩm thu được có độ ẩm $\leq 20\%$, ở dạng cao lỏng (gọi tên là EOCK) (Hình 1B), được bảo quản trong hộp kín, đặt ở nơi khô, tránh ánh sáng, nhiệt độ 4°C để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 1. Lá dạ cẩm (*O. capitellata*) và chiết xuất ethanol lá dạ cẩm (EOCK); A. Lá dạ cẩm; B. EOCK

2.3. Động vật thí nghiệm

Chuột Swiss albino trưởng thành nặng (30-35 g) được thu mua từ Viện Pasteur Thành phố Hồ Chí Minh và được nuôi thích ứng với điều kiện nuôi mới trong 7 ngày. Chuột được giữ trong điều kiện môi trường ổn định (nhiệt độ phòng ($30 \pm 2^\circ\text{C}$), độ ẩm ($50 \pm 5\%$) và chu kỳ sáng-tối 12 giờ) trong suốt thời gian điều tra. Chuột được nuôi trong lồng kính sạch (5 chuột/mỗi lồng), sử dụng dăm gỗ làm chất lót chuồng (chất lót chuồng được trộn với chế phẩm sinh học EM để khử mùi và khử khuẩn và được thay đổi thường xuyên 3 lần/tuần). Những con chuột được cho ăn bằng thức ăn dành cho chuột và uống nước lọc sạch thông thường. Việc điều trị động vật được thực hiện theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) [12]. Quy trình kiểm tra được thực hiện theo đúng Tuyên bố của Helsinki (2014) [13]. Tất cả động vật được con người chăm sóc theo quy định Pháp luật Việt Nam về sử dụng và chăm sóc động vật thí nghiệm và theo Bộ Y tế Việt Nam Hướng dẫn về đạo đức trong nghiên cứu y sinh [14].

2.4. Thiết kế thí nghiệm

Động vật được cân đo khối lượng cơ thể và phân chia ngẫu nhiên vào sáu nhóm khác nhau (mỗi nhóm 5 con chuột). Nhóm D.W (đối chứng bình thường) chuột được dùng nước cất (10 mL/kg); Nhóm IND (đối chứng tiêu cực) chuột được sử dụng indomethacin (IND) (45 mg/kg, một liều duy nhất); Nhóm IND+OME (đối chứng tích cực) chuột được dùng indomethacin (45 mg/kg, một liều duy nhất) và omeprazole (OME) (20 mg/kg); Nhóm IND+EOCK₂₀₀, IND+EOCK₂₅₀ và IND+EOCK₃₀₀ (các nhóm thử nghiệm) chuột được dùng indomethacin (IND) (45 mg/kg, một liều duy nhất) và EOCK với các liều 200, 250 và 300 mg/kg, tương ứng. Sự can thiệp của EOCK và OME được thực hiện trong 21 ngày liên tục, các biện pháp can thiệp đều được dùng thông qua đường uống bằng gavage, ống được đưa vào thực quản trong quá trình dùng thuốc để đảm bảo phân phối thuốc đầy đủ và tránh trào ngược. Động vật được nhịn ăn, nhưng được uống nước tự do trong 24 giờ trước khi tiến hành điều trị.

2.5. Đánh giá độ axit dạ dày

Thu thập dịch dạ dày: Theo Mohammad và cộng sự (2017) [15], dạ dày được tách rời khỏi cơ thể cẩn thận bằng cách giữ cho phần cuối của thực quản đóng lại và mở ra dọc theo bờ cong lớn hơn, dịch dạ dày được thu thập và ly tâm ở tốc độ 1000 vòng/phút trong 10 phút. Mẫu ly tâm đã được gạn để thu nhận phần dịch nổi ở trên.

Xác định pH dịch vị: 1 mL chất lỏng nổi đã thu nhận được pha loãng thành 10 mL bằng nước cất. Độ pH của dung dịch được ghi lại bằng máy đo pH kỹ thuật số SK-630PH (Nhật Bản) [15].

Ước tính độ axit tự do và tổng số: Phương pháp được thực hiện theo Mohammad và cộng sự (2017) [15] với một vài sửa đổi nhỏ. Dùng pipet lấy 1 mL dịch vị cho vào bình nón 100 mL, thêm 2 hoặc 3 giọt thuốc thử Topfer và chuẩn độ bằng NaOH 0,01 N cho đến khi tất cả các vết màu đỏ biến mất và màu của dung dịch chuyển sang màu vàng cam. Thể tích NaOH tiếp tục được thêm vào được ghi lại, thể tích này tương ứng với độ axit tự do. Sau đó, thêm 2 hoặc 3 giọt dung dịch phenolphthalein và tiếp tục chuẩn độ cho đến khi xuất hiện một màu đỏ. Tổng thể tích kiềm được thêm vào đã được ghi lại, thể tích này tương ứng với tổng lượng axit. Lượng axit tự do hoặc tổng số được tính toán theo công thức:

CẢI THIÊN TỒN THƯƠNG NIÊM MẠC DẠ DÀY...

$$\text{Lượng axit (tự do/tổng số) (mEq/L)} = \frac{V(\text{NaOH}) \times N(\text{NaOH}) \times 100 \left(\frac{\text{mEq}}{\text{L}}\right)}{0,1}$$

2.6. Đánh giá tổn thương niêm mạc dạ dày

Vào ngày cuối cùng của quá trình thí nghiệm, tất cả chuột được nhịn ăn trong 24 giờ nhưng uống nước tự do. Chuột được phẫu thuật để thu nhận dạ dày. Mô dạ dày được mở dọc theo độ cong lớn hơn, sau đó rửa nhẹ bằng dung dịch natri clorid 0,9% lạnh. Tổn thương niêm mạc dạ dày đánh giá theo thang điểm được mô tả bởi Liu và cộng sự (2023) [16].

Bảng 1. Phân loại mức độ loét theo thang điểm Liu

| Đặc điểm | Điểm |
|---|----------|
| Dạ dày bình thường (Normal colored stomach) | 0 |
| Sung huyết (Red coloration) | 0,5 |
| Chấm loét, vết xói mòn hoặc chiều dài xói mòn < 1 mm (Spot ulcer) | 1 |
| Vết xuất huyết (Hemorrhagic streak) | 1,5 |
| Loét sâu, chiều dài xói mòn từ 1 đến 2 mm (Deep ulcers) | 2 |
| Thủng, chiều dài xói mòn từ 2 đến 3 mm (Perforation) | 3 |
| chiều dài xói mòn từ 3 đến 4 mm | 4 |
| Chiều dài xói mòn dài hơn 4 mm và chiều rộng xói mòn lớn hơn 2 mm | 4 x 2 =8 |

Chỉ số loét UI theo thang điểm của Liu được tính bằng điểm mức độ loét trung bình theo công thức:

$$\text{Chỉ số loét (UI)} = \frac{\text{Tổng số điểm niêm mạc dạ dày của từng chuột}}{\text{Tổng số chuột}} \quad [17]$$

Khả năng ức chế loét được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ ức chế loét (PI\%)} = \frac{\text{Chỉ số loét (nhóm kiểm soát - nhóm điều trị)}}{\text{Chỉ số loét nhóm kiểm soát}} \times 100 \quad [17]$$

2.10. Huyết học và sinh hóa

Vào cuối giai đoạn nghiên cứu, các mẫu máu được thu nhận từ đám rối tĩnh mạch trên quỹ đạo của chuột bằng cách sử dụng các ống mao quản siêu nhỏ theo phương pháp được mô tả bởi Mahmoud (2014) [18]. Máu được thu thập trong các ống có EDTA (để ngăn ngừa máu đông) và ống không có chất chống đông. Để phân tách huyết thanh, máu được ly tâm ở tốc độ 3000 vòng/phút trong 20 phút trong nhiệt độ phòng và thu phần nổi phía trên. Huyết thanh được tách ra để phân tích các thông số sinh hóa như CRP, ALP bằng máy phân tích sinh hóa tự động RANDOX (Anh). Mẫu máu đựng trong ống có chứa EDTA được sử dụng để phân tích các thông số huyết học RBC, WBCs, LYM (bạch cầu lympho), MONO (bạch cầu mono), GRA (bạch cầu hạt) bằng máy phân tích huyết học tự động ABACUS 380 (Hungary).

2.7. Các chất chống oxy hóa

Superoxide dismutase (SOD): Hoạt tính SOD đã được kiểm tra bằng cách làm theo các phương pháp được báo cáo trước đây của Lim và cộng sự (2019) [19] với những sửa đổi nhỏ. Hỗn hợp dạ dày đã đồng nhất (15 µl) được trộn với ethanol (250 µl), chloroform (125 µl) và nước khử ion lạnh (450 µl). Hỗn hợp đồng nhất sau đó được ly tâm ở 8000×g trong 2 phút ở 4°C và dịch chiết (500 µl) được thêm vào hỗn hợp phản ứng [16% Triton X-100 (100 µl), 0,9 mM nitroblue tetrazolium (250 µl), và 500 µl dung dịch đệm triscacodylate 72,4 mM với axit pentaacetic diethylene 3,5 mM (pH 8,2)], ủ trong 5 phút ở 37°C, thêm 10 µl pyrogallol 9 mM và ủ lại trong 5 phút ở 37°C. Sau khi dừng phản ứng với dung dịch đệm formic 2 M, độ hấp thụ được đo ở bước sóng 540 nm. Hoạt tính SOD được biểu thị bằng mM/phút/mg mô.

Glutathione peroxidase (GPx): Hoạt tính glutathione peroxidase (GPx) được xác định bằng đo quang phổ theo mô tả của Sen và cộng sự (2013) [20] với một vài sửa đổi nhỏ. 100 µl dung dịch đồng nhất mô dạ dày được trộn với 800 µl dung dịch đệm kali photphat 100 mmol/l (pH 7,4), chứa 1 mmol/l EDTA, 1 mmol/l natri azide, 0,2 mmol/l NADPH. Sau 5 phút ủ, phản ứng được bắt đầu bằng cách bổ sung 100 µl 2,6 mmol

H₂O₂ và sự thay đổi độ hấp thụ ở bước sóng 340 nm trong 3 phút được ghi lại ở 37°. Hoạt tính của GPx được biểu thị bằng $\mu\text{mol NADPH bị oxy hóa/phút/mg protein ở } 37^\circ\text{C}$ ($\mu\text{mol /phút/mg protein}$).

Glutathione (GSH): Hàm lượng GSH được ước tính bằng phương pháp đã báo cáo trước đó của Sedlak và Lindsay (1968) [21] với một vài sửa đổi nhỏ. Mô dạ dày được đồng nhất hóa trong 2 mL dung dịch đệm Tris-HCl [50 mM Tris HCl, 0,2 mM sucrose và 20 mM EDTA; pH 7,5], kết tủa với 0,1 mL axit trichloroacetic 25% và ly tâm ở 3500×g trong 40 phút ở 4°C để loại bỏ kết tủa. Hàm lượng GSH được xác định trong phần nổi phía trên bằng cách đo độ hấp thụ ở bước sóng 412 nm và kết quả được biểu thị bằng nM/mg mô.

Total antioxidant capacity (TAC): Nồng độ của TAC được xác định theo phương pháp của Dejan và cộng sự (2019) [22]. Hỗn hợp phản ứng chứa: 200 μL thuốc thử I (đệm axetat-CH₃COONa/CH₃COOH, 0,4 M, pH = 5,8), 20 μL dịch đồng nhất của dạ dày và 20 μL thuốc thử II (ABTS 10 mM, 2 mM H₂O₂ trong dung dịch đệm axetat (30 mM), pH = 3,6). Sau 5 phút, độ hấp thụ được ghi lại bằng đo quang phổ ở bước sóng 660nm và kết quả được biểu thị bằng nM/mg protein.

2.8. Các cytokine

Máu được thu nhận theo phương pháp từ đám rối tĩnh mạch trên quỹ đạo và đựng vào ống nghiệm serum. Sau đó ly tâm ở tốc độ 3000 vòng/phút, ở 4°C trong 10 phút để thu nhận huyết thanh. Nồng độ các cytokine liên quan đến viêm trong huyết thanh được đo theo phương pháp mô tả bởi Li và cộng sự (2014) [23] với một vài sửa đổi nhỏ. Nồng độ TNF- α , IL-1 β và IL-10 được biểu thị bằng đơn vị pg/mL.

2.9. Mô bệnh học

Phương pháp được thực hiện theo mô tả của Nabil và cộng sự (2021) [24] với một vài sửa đổi nhỏ. Các mô dạ dày được cố định trong 10% formalin đệm trung tính trong một ngày, sau đó khử nước và nhúng vào sáp parafin, trước khi chúng được cắt ngang dày 5 μm bằng microtome sledge. Để phát hiện tổn thương vi thể dạ dày, nhuộm hematoxylin và eosin, sau đó kiểm tra mô bệnh học dưới kính hiển vi quang học. Những thay đổi mô bệnh học được đánh giá theo Ortac và cộng sự (2018) [25].

2.10. Phân tích thống kê

Tất cả các phân tích thống kê được thực hiện bằng phần mềm Statgraphics Centurion XIX. Phân tích phương sai một chiều được sử dụng để xác định sự khác biệt đáng kể giữa các nhóm. Kiểm tra Student-Newman-Keuls được sử dụng để so sánh giữa các nhóm. Các giá trị được biểu thị bằng giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn, $p < 0,05$ được coi là khác biệt có ý nghĩa thống kê.

3. KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN

3.1. Đánh giá khả năng ức chế tiết axit dạ dày của EOCK

Bảng 2. Tác dụng của EOCK đối với độ pH, độ axit tự do và tổng số của dịch dạ dày

| Nhóm thí nghiệm | pH | Axit tự do (mEq/L) | Axit tổng số (mEq/L) |
|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| Nhóm D.W | 6,91 \pm 0,11 ^f | 4,86 \pm 0,34 ^a | 7,75 \pm 0,24 ^c |
| Nhóm IND | 4,74 \pm 0,07 ^a | 12,56 \pm 0,43 ^d | 10,7 \pm 0,29 ^e |
| Nhóm IND+OME | 6,71 \pm 0,11 ^e | 5,2 \pm 0,39 ^a | 9,06 \pm 0,24 ^d |
| Nhóm IND+EOCK ₂₀₀ | 5,98 \pm 0,09 ^b | 6,36 \pm 0,24 ^c | 6,78 \pm 0,26 ^a |
| Nhóm IND+EOCK ₂₅₀ | 6,28 \pm 0,11 ^c | 6,34 \pm 0,25 ^c | 7,34 \pm 0,21 ^b |
| Nhóm IND+EOCK ₃₀₀ | 6,45 \pm 0,08 ^d | 5,76 \pm 0,24 ^b | 8,76 \pm 0,24 ^d |

Các giá trị được biểu thị bằng Mean \pm SD (n = 5), các chữ cái a, b, c, d, e, f biểu thị sự khác biệt đáng kể giữa các nhóm ($p < 0,05$).

Bảng 2 minh họa sự thay đổi nồng độ axit tự do và tổng lượng axit trong dịch dạ dày, có liên quan nghịch với sự thay đổi độ pH dạ dày. Sự gia tăng nồng độ axit dạ dày được phản ánh qua việc giảm độ pH dạ dày ở chuột được điều trị bằng IND so với nhóm đối chứng (D.W) ($p < 0,05$). Điều trị bằng OME làm giảm đáng kể nồng độ axit dạ dày so với nhóm IND ($p < 0,05$). Tương tự, cả 3 mức liều lượng EOCK cũng làm giảm đáng kể nồng độ axit dạ dày so với nhóm IND ($p > 0,05$). Những kết quả này cho thấy IND dẫn đến

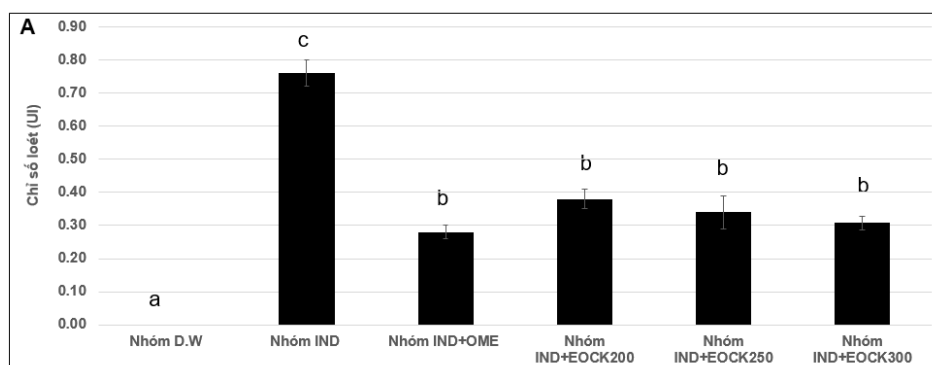
CẢI THIÊN TỒN THƯƠNG NIÊM MẠC DẠ DÀY...

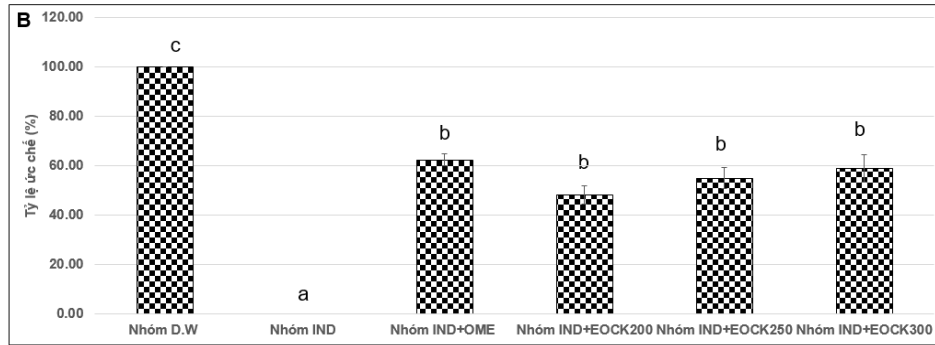
tăng độ axit dạ dày, pH dạ dày thấp hơn so với nhóm đối chứng. Tuy nhiên, điều trị bằng OME hoặc EOCK có hiệu quả làm giảm nồng độ axit dạ dày, dẫn đến tăng pH dạ dày. Điều này chứng tỏ tiềm năng của cả OME (thuốc tham chiếu) và EOCK (chiết xuất được thử nghiệm) trong việc điều chỉnh sự tiết axit dạ dày và duy trì độ pH dạ dày cân bằng.

Axit tự do là lượng axit hiện diện trong dạ dày dưới dạng tự do, tức là axit không liên kết với bất kỳ chất nào khác. Lượng axit này có thể gây kích thích và gây ra các triệu chứng không thoải mái như trào ngược axit dạ dày. Axit toàn phần là tổng lượng axit có trong dạ dày, bao gồm cả axit tự do và axit đã liên kết với các chất khác như protein và muối. Đây là chỉ số đo lường tổng lượng axit có mặt trong dạ dày [26]. Hầu hết các loại thuốc hiện đang được sử dụng trong điều trị loét và trào ngược dạ dày-thực quản như thuốc ức chế bơm proton và thuốc kháng histamin H₂ (H₂RA), omeprazole, hoạt động bằng cách giảm tiết axit dạ dày. Sự ức chế axit làm tăng nồng độ gastrin trong máu động vật, từ đó làm tăng tiết axit dạ dày, làm tăng sản tế bào giống enterochromaffin và carcinoid. Bên cạnh đó, giảm độ axit dạ dày làm tăng nguy cơ nhiễm trùng đường ruột và thay đổi sự phân bố viêm dạ dày ở động vật nhiễm bệnh. Điều này tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển viêm dạ dày. Việc giảm độ axit dạ dày do IND gây ra sẽ làm suy giảm sự hấp thụ canxi và vitamin B12 ở ruột, làm tăng nguy cơ gãy xương và thiếu máu [24]. Một số thành phần của EOCK có tính kháng viêm và bảo vệ niêm mạc dạ dày khỏi tổn thương. EOCK giúp giảm viêm nhiễm dạ dày, giảm sản xuất axit dạ dày và tăng pH. Bên cạnh đó, flavonoid và phenolic có trong EOCK có khả năng kháng oxy hóa. Khi có sự stress oxy hóa trong dạ dày do viêm nhiễm, việc sử dụng EOCK giúp giảm stress oxy hóa và do đó giảm sản xuất axit dạ dày. Đồng thời, một số thành phần trong EOCK như tannin (có khả năng tạo kết tủa với các hợp chất có thể gây tổn thương niêm mạc dạ dày, giúp giảm sự kích thích và tiết ra axit), saponin (tạo kết tủa với axit và các hợp chất khác trong dạ dày, làm giảm đáng kể nồng độ axit và tăng pH), những chất này có thể tương tác với axit dạ dày, làm giảm khả năng tiết ra axit dạ dày hoặc làm ổn định axit. Những kết quả này nêu bật cơ sở khoa học về tác dụng điều trị tiềm năng của EOCK đối với việc điều chỉnh axit dạ dày và cân bằng độ pH [27].

3.2. Ảnh hưởng của EOCK chống lại tổn thương niêm mạc dạ dày

Trong Hình 4A, kiểm tra hình thái niêm mạc dạ dày ở chuột bị viêm dạ dày cho thấy, niêm mạc dạ dày của chuột thuộc nhóm IND có nhiều vết loét tròn, có các vết xung huyết thâm đen (Hình 4Ab). Tuy nhiên, hình ảnh niêm mạc dạ dày từ các nhóm điều trị bằng EOCK₃₀₀ (Hình 4Ac) và OME (Hình 4Ad) cho thấy số lượng vết loét giảm đáng kể, không có sự xuất hiện vết xung huyết thâm đen trên bề mặt, giống như niêm mạc dạ dày của nhóm đối chứng (Hình 4Aa). Kết quả này được hỗ trợ thêm bởi Hình 2, trong đó liệu thử nghiệm của chiết xuất (200, 250 và 300 mg/kg) làm giảm đáng kể chỉ số loét (lần lượt là $0,38 \pm 0,42$, $0,34 \pm 0,57$, $0,31 \pm 0,29$) so với Nhóm IND ($0,76 \pm 0,45$) ($p < 0,05$) (Hình 2A). Ngoài ra, tỷ lệ ức chế loét của EOCK tăng đáng kể ở nhóm điều trị bằng chiết xuất (lần lượt là 49,33%, 55%, 59%) so với nhóm IND (0%) ($p < 0,05$) (Hình 2B). Những phát hiện này chứng minh tác dụng phòng ngừa và điều trị của EOCK và thuốc tham chiếu (OME) đối với tình trạng viêm dạ dày, được biểu thị bằng việc giảm đáng kể sự hình thành vết loét và tăng tỷ lệ ức chế loét ở các nhóm điều trị so với nhóm IND.





Hình 2. Hiệu quả của EOCK đối với tổn thương niêm mạc dạ dày do indomethacin gây ra; A. Chỉ số loét dạ dày, B. Tỷ lệ ức chế loét.

Indomethacin gây tổn thương niêm mạc dạ dày bằng cách kích hoạt các tế bào viêm và sản xuất các cytokine tiền viêm và một phần do cảm ứng stress oxy hóa. Điều trị trước bằng chiết xuất ethanol từ lá cây dạ cẩm đã cải thiện tổn thương niêm mạc dạ dày, bằng chứng là giảm đáng kể chỉ số loét, tăng tỷ lệ ức chế, kết quả này tương tự như chỉ số do omeprazole (thuốc tham chiếu) cung cấp ($p < 0,05$). Trong một nghiên cứu trước đây về tác dụng giảm đau của chiết xuất ethanol lá cây dạ cẩm, chúng tôi đã báo cáo về sự hiện diện của alkaloid, tannin, terpenoid, carbohydrate, flavonoid, glycoside, phenolic, saponin trong chiết xuất. Tannin có tác dụng ngăn ngừa sự phát triển của vết loét do tác dụng co mạch và làm se của chúng. Saponin tạo điều kiện thuận lợi cho sự kết tủa của microprotein trên vị trí loét, tạo thành một lớp trên lớp lót niêm mạc ngăn chặn sự tiết dịch dạ dày và bảo vệ niêm mạc khỏi các chất và yếu tố có hại. Các chất chuyển hóa thứ cấp chống oxy hóa, trong số đó có flavonoid, ngăn ngừa sự hình thành các tổn thương dạ dày do chất gây loét và tác nhân hoại tử gây ra [24].

3.4. Huyết học và sinh hóa

Bảng 3. Ảnh hưởng của EOCK đối với các thông số sinh hóa huyết học và sinh hóa của chuột

| Nhóm thí nghiệm | Nhóm D.W | Nhóm IND | Nhóm IND+OME | Nhóm IND+EOCK ₂₀₀ | Nhóm IND+EOCK ₂₅₀ | Nhóm IND+EOCK ₃₀₀ |
|---|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| RBC ($\times 10^6$ tb/mm ³) | 6,98 ± 0,19 ^f | 4,23 ± 0,11 ^a | 6,56 ± 0,11 ^c | 5,55 ± 0,08 ^b | 5,83 ± 0,11 ^c | 6,24 ± 0,09 ^d |
| WBC ($\times 10^3$ tb/mm ³) | 4,21 ± 0,16 ^a | 9,79 ± 0,17 ^f | 4,86 ± 0,11 ^b | 5,97 ± 0,16 ^e | 5,54 ± 0,13 ^d | 5,25 ± 0,17 ^c |
| LYM ($\times 10^3$ tb/mm ³) | 2,65 ± 0,12 ^a | 5,54 ± 0,12 ^e | 2,77 ± 0,16 ^a | 3,25 ± 0,06 ^c | 3,08 ± 0,05 ^b | 2,98 ± 0,09 ^b |
| MONO ($\times 10^3$ tb/mm ³) | 1,18 ± 0,09 ^a | 2,28 ± 0,12 ^e | 1,44 ± 0,12 ^b | 1,76 ± 0,09 ^d | 1,61 ± 0,09 ^c | 1,52 ± 0,07 ^{bc} |
| GRA ($\times 10^3$ tb/mm ³) | 0,96 ± 0,03 ^b | 1,97 ± 0,13 ^c | 0,75 ± 0,18 ^a | 0,96 ± 0,03 ^b | 0,85 ± 0,04 ^{ab} | 0,75 ± 0,18 ^{ab} |
| ESR (mm/hr) | 4,42 ± 0,18 ^a | 7,85 ± 0,16 ^f | 4,76 ± 0,14 ^b | 5,77 ± 0,14 ^e | 5,31 ± 0,14 ^d | 4,97 ± 0,12 ^c |
| CRP (mg/L) | 0,28 ± 0,05 ^a | 6,77 ± 0,11 ^f | 0,75 ± 0,18 ^a | 3,84 ± 0,11 ^e | 3,37 ± 0,09 ^d | 2,88 ± 0,07 ^c |
| ALP (U/L) | 134,46 ± 18,58 ^a | 517,73 ± 24,13 ^f | 189,95 ± 24,13 ^b | 299,63 ± 23,63 ^e | 264,89 ± 18,53 ^d | 228,46 ± 20,75 ^c |

Các giá trị được biểu thị bằng Mean ± SD (n = 5), các chữ cái a, b, c, d, e, f biểu thị sự khác biệt đáng kể giữa các nhóm ($p < 0,05$).

Các thông số huyết học và sinh hóa của nhóm đối chứng và nhóm điều trị được trình bày trong Bảng 3. Có sự khác biệt đáng kể trong các thông số huyết học được phân tích ($p < 0,05$). Tất cả các nhóm chuột được điều trị bởi IND đều có số lượng hồng cầu giảm so với nhóm đối chứng D.W ($p < 0,05$), giảm mạnh nhất ở nhóm IND ($4,23 \pm 0,11 \times 10^6$ tb/mm³), các nhóm được sử dụng EOCK (200, 250 và 3000 mg/kg) số lượng hồng cầu đã tăng dần ($5,55 \pm 0,08$; $5,83 \pm 0,11$ và $6,24 \pm 0,09 \times 10^6$ tb/mm³, tương ứng). Ngược lại, sau thời gian sử dụng IND, lượng bạch cầu tăng mạnh ở nhóm IND ($9,79 \pm 0,17 \times 10^3$ tb/mm³) so với nhóm đối chứng D.W ($4,21 \pm 0,16 \times 10^3$ tb/mm³). Lượng bạch cầu đã giảm dần ở các nhóm điều trị bởi EOCK phụ thuộc vào liều lượng ($p < 0,05$). Các thông số sinh hóa CRP, ALP cũng tăng mạnh ở những con chuột được

CẢI THIÊN TỔN THƯƠNG NIÊM MẠC DẠ DÀY...

gây cảm ứng viêm dạ dày bởi IND so với nhóm đối chứng ($p < 0,05$). Kết quả đảo ngược đã được nhìn thấy ở những nhóm điều trị bởi EOCK, khác biệt đáng kể so với nhóm IND ($p < 0,05$).

Việc đánh giá huyết học và sinh hóa máu cung cấp một dấu hiệu quan trọng về các biểu hiện nhiễm độc dạ dày do IND gây ra [28]. IND có khả năng ức chế COX (enzyme tham gia vào quá trình tổng hợp các prostaglandin (PG), chất dẫn truyền trong quá trình viêm nhiễm), làm giảm sản xuất PG, gây giảm sự co bóp của hệ thống mạch máu, dẫn đến giảm hồng cầu trong máu. IND tạo ra và di chuyển của bạch cầu, tác động phức tạp và đa dạng đến hệ thống miễn dịch và bạch cầu, dẫn đến làm tăng lượng bạch cầu [29]. Sau thời gian điều trị bởi EOCK, kết quả đã được đảo ngược, EOCK đã có khả năng cải thiện sự sản xuất và duy trì số lượng tế bào hồng cầu trong máu, giảm viêm nhiễm, bảo vệ tế bào hồng cầu khỏi sự tổn thương. Bên cạnh đó, EOCK tác động ức chế đến sự gia tăng tế bào bạch cầu, giúp kiểm soát phản ứng viêm nhiễm trong dạ dày do IND gây ra. CRP thường tăng cao trong các trường hợp viêm nhiễm. IND ức chế COX, làm giảm sản xuất PG, gây tăng CRP trong máu như một phản ứng cơ thể đối phó với việc ức chế PG. IND tác động tương tác phức tạp với các cơ quan và hệ thống enzym trong cơ thể dẫn đến tăng ALP [30]. Sau khi được điều trị bởi EOCK, chiết xuất đã làm giảm CRP (chỉ số cho sự viêm nhiễm trong cơ thể), giảm ALP (enzyme thường tăng khi có tổn thương trong cơ quan tiêu hóa). Điều đó cho thấy EOCK đã giảm tổn thương hoặc viêm nhiễm trong các cơ quan tiêu hóa, đặc biệt là trong dạ dày.

3.4. Các chất chống oxy hóa

Bảng 4. Tác dụng của EOCK đối với hàm lượng các chất chống oxy hóa trong mô dạ dày

| Nhóm thí nghiệm | SOD (mM/phút/mg mô) | GPx (μmol /phút/mg protein) | GSH (nM/mg mô) | TAC (nM/mg protein) |
|---------------------------------|------------------------|--|-------------------|------------------------|
| Nhóm D.W | $30,31 \pm 0,11^f$ | $1,35 \pm 0,04^e$ | $4,98 \pm 0,17^f$ | $28,77 \pm 0,8^f$ |
| Nhóm IND | $15,15 \pm 0,12^a$ | $0,82 \pm 0,05^a$ | $2,23 \pm 0,12^a$ | $11,52 \pm 0,51^a$ |
| Nhóm IND+OME | $27,25 \pm 0,12^e$ | $1,31 \pm 0,03^{de}$ | $4,42 \pm 0,11^e$ | $25,61 \pm 0,84^e$ |
| Nhóm IND+EOCK ₂₀₀ | $21,17 \pm 0,11^b$ | $1,22 \pm 0,04^b$ | $3,45 \pm 0,13^b$ | $15,47 \pm 0,54^b$ |
| Nhóm IND+EOCK ₂₅₀ | $23,09 \pm 0,12^c$ | $1,25 \pm 0,03^{bc}$ | $3,84 \pm 0,11^c$ | $18,39 \pm 0,74^c$ |
| Nhóm IND+EOCK ₃₀₀ | $25,42 \pm 0,13^d$ | $1,29 \pm 0,04^{cd}$ | $4,16 \pm 0,11^d$ | $22,41 \pm 0,67^d$ |

Các giá trị được biểu thị bằng Mean \pm SD ($n = 5$), các chữ cái a, b, c, d, e, f biểu thị sự khác biệt đáng kể giữa các nhóm ($p < 0,05$). Chú thích: SOD (Superoxide dismutase), GPx (Glutathione peroxidase), GSH (Glutathione), TAC (Total antioxidant capacity).

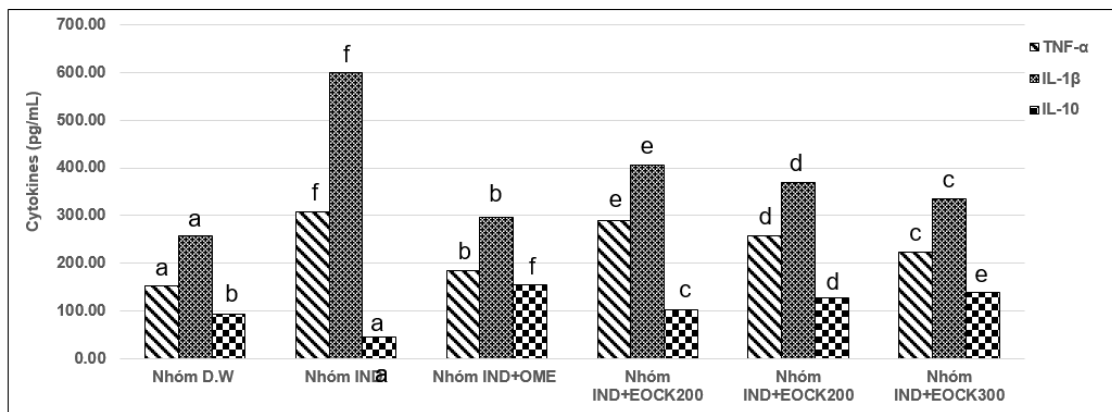
Để xác định cơ chế bảo vệ niêm mạc dạ dày của chiết xuất, chúng tôi đã phân tích các dấu hiệu stress oxy hóa của niêm mạc dạ dày và phát hiện ra rằng IND làm giảm đáng kể hàm lượng các chất chống oxy hóa như GPx, SOD, GSH và TAC của dạ dày so với nhóm đối chứng (Bảng 4, $p < 0,05$). Việc xử lý bởi EOCK (200, 250 và 300 mg/kg) và OME đã làm đảo ngược kết quả trên, hàm lượng các chất chống oxy hóa trong dạ dày đã tăng lên đáng kể ở các nhóm được uống EOCK và OME so với nhóm IND ($p < 0,05$, Bảng 4).

Hàm lượng GPx phụ thuộc vào hoạt động của hàng rào phòng thủ chống lại sự tấn công của hydroperoxide. Isoenzym của LDH hoạt hóa làm tăng mức độ GPx và giảm GSH, giúp duy trì trạng thái oxy hóa khử của sinh vật. Việc sử dụng IND làm giảm hoạt động GPx và suy giảm GSH. Hoạt động của GSH giảm làm tổn thương niêm mạc dạ dày trầm trọng hơn do sự gia tăng tức thời của hydro peroxide và lipid peroxid trong tế bào niêm mạc dạ dày. Do đó, sự điều hòa của các enzyme chống oxy hóa, trong số đó có GPx, GSH, SOD và TAC trong dạ dày, có thể tạo thành một cơ chế bảo vệ đáng kể chống lại các vết loét GI liên quan đến stress oxy hóa [24]. Sử dụng EOCK điều trị viêm dạ dày đã làm giảm tình trạng oxy hóa bị xáo trộn. Sự hiện diện của flavonoid trong chiết xuất giúp duy trì mức GSH trong dạ dày bằng cách loại bỏ các gốc tự do, làm cho chúng trở nên không hoạt động hoặc bị khử hoá học. Alkaloid có khả năng tạo ra tác động chống oxy hóa trong dạ dày làm tăng hàm lượng các chất chống oxy hóa. Tannin có thể tạo kết tủa hoặc kết hợp với các chất chống oxy hóa, làm giảm sự hấp thụ và khả năng sử dụng của chúng trong dạ dày. Phenolic và flavonoid có thể có tác động kháng viêm và kháng oxy hóa. Saponin có khả năng tạo kết hợp với nhiều loại chất, làm tăng sự hấp thụ, hoạt động của các chất chống oxy hóa trong dạ dày. Kết

quả trên đã cho thấy việc sử dụng EOCK có thể bảo vệ niêm mạc dạ dày khỏi stress oxy hóa và đảo ngược tác động tiêu cực của IND [27].

3.5. Hoạt động chống viêm (các cytokine)

EOCK đã chứng minh tác dụng chống viêm thông qua việc làm giảm nồng độ TNF- α , IL-1 β và tăng nồng độ IL-10 trong huyết thanh của chuột bị viêm dạ dày do IND gây ra (Hình 3). Sau thời gian gây cảm ứng viêm dạ dày bởi IND, nồng độ TNF- α , IL-1 β đã tăng mạnh ($308,62 \pm 12,75$; $559,86 \pm 13,06$ pg/mL, tương ứng) so với nhóm đối chứng D.W ($153,46 \pm 13,51$; $256,65 \pm 14,83$ pg/mL) ($p < 0,05$). Trong khi đó, nồng độ IL-10 ($45,29 \pm 2,73$ pg/mL) giảm mạnh so với nhóm D.W ($92,61 \pm 4,03$ pg/mL) ($p < 0,05$). Sau thời gian điều trị bởi EOCK, nồng độ TNF- α , IL-1 β đã giảm mạnh (ở liều điều trị 300 mg/kg nồng độ TNF- α là $222,78 \pm 6,34$ pg/mL, IL-1 β là $334,44 \pm 15,03$ pg/mL), ngược lại nồng độ IL-10 ($139,78 \pm 4,98$ pg/mL) đã tăng lên so với nhóm IND ($p < 0,05$).



Hình 3. Hiệu quả của việc điều trị bằng EOCK đối với các cytokine gây viêm và chống viêm trên chuột

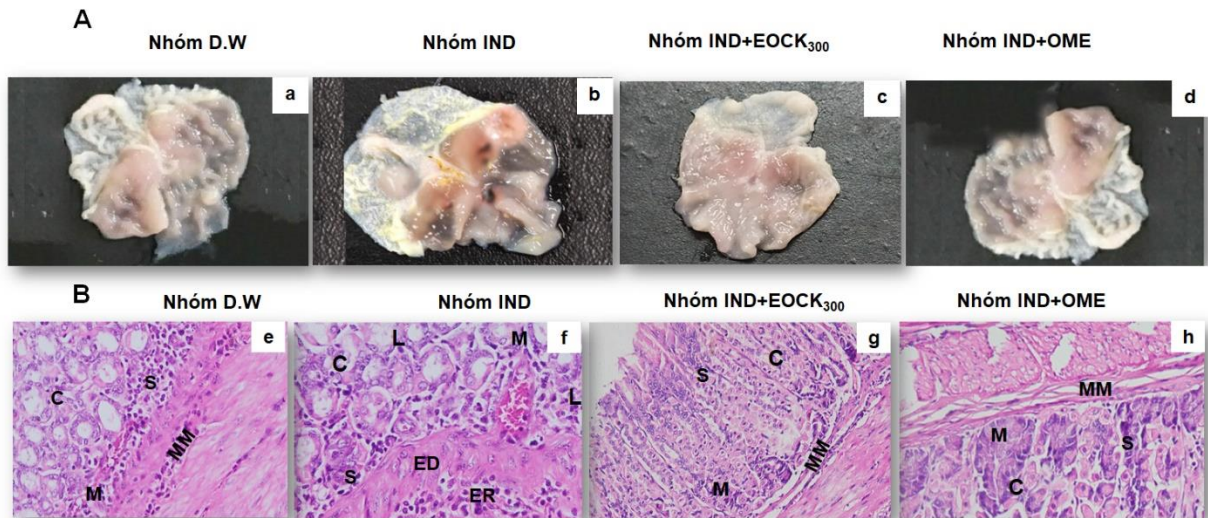
Sau khi tạo ra ROS, việc sử dụng IND sẽ gây ra phản ứng viêm là kết quả của một chuỗi các sự kiện phức tạp liên quan đến phản ứng miễn dịch, giải phóng một lượng lớn các cytokine gây viêm như TNF- α , IL-1 β . TNF- α là một cytokine gây viêm được các đại thực bào tiết ra ngày càng nhiều trong quá trình gây loét dạ dày. Nó là một chất kích thích mạnh mẽ sự xâm nhập của bạch cầu trung tính vào niêm mạc dạ dày. Việc ức chế sản xuất TNF- α và sự xâm nhập bạch cầu trung tính có liên quan chặt chẽ với nhau. IL-1 β là một cytokine đa năng, có vai trò quan trọng trong tình trạng viêm cấp tính và điều hòa miễn dịch. Mức độ IL-1 β tăng cao kích thích sự phát triển và di chuyển của các tế bào miễn dịch đến vị trí của viêm, làm tăng hiệu ứng miễn dịch bằng cách kích thích tế bào bạch cầu trung tính và tế bào T. IL-1 β cũng có khả năng tác động lên tế bào B, giúp chúng phát triển và sản xuất các kháng thể, đồng thời tác động lên các tế bào miễn dịch khác để sản xuất thêm các cytokine pro-inflammatory khác như TNF- α và IL-6, làm tăng sự viêm nhiễm. Có ý kiến cho rằng, các cytokine TNF- α , IL-1 β rất quan trọng trong việc điều chỉnh mức độ nghiêm trọng của viêm loét dạ dày. Sự tiết ra cả 2 cytokine làm tăng tác động của stress oxy hóa bằng cách tạo ROS trong ty thể và gây độc tế bào. IL-10 là cytokine chống viêm và ức chế miễn dịch quan trọng nhất. IL-10 ức chế phản ứng viêm và ức chế sản xuất TNF- α [31]. Các kết quả được báo cáo ở Hình 3 chứng minh rằng điều trị bằng EOCK làm giảm nồng độ các chất trung gian gây viêm TNF- α , IL-1 β và làm tăng mức độ của cytokine chống viêm IL-10. Kết quả đã phần nào khẳng định tác dụng chống viêm của EOCK.

3.6. Mô bệnh dạ dày

Hình 4A cho thấy hình thái vĩ mô của niêm mạc dạ dày của chuột ở các nhóm thử nghiệm. Nhóm đối chứng (nhóm D.W) (Hình 4Aa) và nhóm IND+OME (Hình 4Ac), IND+EOCK₃₀₀ (Hình 4Ad) không có tổn thương niêm mạc dạ dày khi đánh giá vĩ mô. Mặt khác, các vết loét, bào mòn, các vùng xung huyết có thể quan sát được ở bề mặt vĩ mô của niêm mạc dạ dày nhóm IND (Hình 4Ab). Các vết loét lan rộng, tuyến tính và mức độ nghiêm trọng của tổn thương niêm mạc vĩ mô là đáng kể ở nhóm IND so với nhóm đối chứng. Cấu trúc mô bệnh dạ dày ở hình 4B cho thấy, xung huyết, phù nề rải rác, các vết loét sâu, lan rộng và bào mòn niêm mạc, có sự xâm nhiễm nặng của các tế bào viêm ở mô dạ dày nhóm IND (Hình 4Bf) khác biệt đáng kể so với mô bệnh nhóm đối chứng D.W (Hình 4Be). Tình trạng viêm, loét và xung huyết đã

CẢI THIÊN TỔN THƯƠNG NIÊM MẠC DẠ DÀY...

được cải thiện ở nhóm sử dụng EOCK (Hình 4Bg) và OME (Hình 4Bh). Đã không còn xuất hiện tế bào viêm, cấu trúc mô gần như đã được hồi phục, không khác biệt nhiều so với nhóm D.W.



Hình 4. Hiệu quả của việc điều trị bằng EOCK đối với hình thái và mô bệnh dạ dày chuột. A. Hình thái niêm mạc dạ dày, B. Mô bệnh dạ dày (nhuộm H&E, phóng đại 400x). Chú thích: (M) – lớp đệm, (C) – tế bào chính, (S) – tế bào viêm, (MM) – cơ niêm mạc, (L) – tế bào lympho xâm nhiễm trong mô dạ dày, (ED) – niêm mạc dạ dày bị phù nề, (ER) – niêm mạc dạ dày bị xói mòn

IND gây ra tác động trực tiếp lên niêm mạc dạ dày thông qua ức chế COX. Khi COX bị ức chế, việc sản xuất prostaglandins bị giảm, dẫn đến giảm sự bảo vệ và bảo vệ niêm mạc dạ dày khỏi các tác động có hại, dẫn đến tổn thương và loét niêm mạc dạ dày. IND kích thích quá trình viêm nhiễm. Sự tổn thương và mất bảo vệ của niêm mạc dạ dày dẫn đến viêm nhiễm và bào mòn của niêm mạc. Prostaglandins cũng đóng vai trò trong việc điều hòa quá trình viêm nhiễm và khi chúng bị giảm, sự viêm nhiễm trở nên cấp tính và gây ra các vết xung huyết [32]. EOCK chứa các hợp chất có khả năng chống viêm, như flavonoid, phenolic, alkaloid,.... Các hợp chất này có khả năng làm giảm sự viêm nhiễm trong niêm mạc dạ dày bằng cách ức chế các tác nhân pro-inflammatory hoặc tăng cường các tác nhân chống viêm, cải thiện tình trạng viêm nhiễm của niêm mạc. Các hợp chất có thể tạo ra lớp bảo vệ, giúp niêm mạc dạ dày tránh khỏi sự tác động của các yếu tố có hại như acid dạ dày hay kháng sinh, giúp ngăn ngừa sự hình thành và phát triển của các vết loét. EOCK cũng ảnh hưởng đến quá trình co bóp và giãn mạch máu trong niêm mạc dạ dày, làm giảm xung huyết và các vết chảy máu trên niêm mạc.

4. KẾT LUẬN

Mục đích của nghiên cứu này là điều tra tác động của chiết xuất ethanol lá cây dạ cẩm (*O. capitellata*) đối với chứng viêm loét dạ dày do IND gây ra ở chuột. Tiên xử lý bằng EOCK đã ức chế tổn thương niêm mạc dạ dày và thay đổi mô bệnh học. Tác động chống viêm của EOCK được thể hiện thông qua việc điều chỉnh hàm lượng RBC, WBC, ALP, CRP. Tiên xử lý với EOCK đã làm giảm căng thẳng oxy hóa bằng cách tăng hoạt động của SOD, GPx, GSH và TAC. Hơn nữa, EOCK điều chỉnh giảm mạnh sự biểu hiện của các dấu hiệu viêm, bao gồm TNF α , IL1 β và tăng nồng độ cytokine chống viêm IL-10. Nhìn chung, việc giảm tác dụng của IND trong dạ dày khi sử dụng EOCK là dấu hiệu cho thấy tiềm năng chống oxy hóa và bảo vệ dạ dày tuyệt vời của chúng ở chuột.

LỜI CẢM ƠN

Tác giả xin cảm ơn các đồng nghiệp và cộng sự từ Khoa Huyết học và Sinh hóa, Khoa Giải phẫu bệnh Bệnh viện 175 Tp.HCM và Viện Pasteur Tp.HCM, Phòng Thí nghiệm Công nghệ Động vật, Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp Tp. HCM đã hỗ trợ chúng tôi trong dự án này. Tác

giả cũng gửi lời cảm ơn đến các chị Lê Trúc Tiên, Nguyễn Thị Tuyết Mai, Võ Quý Như đã tham gia, hỗ trợ, giúp đỡ án thành công

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Z. Rahman, D. K. Dwivedi, G. B. Jena, "Ethanol-induced gastric ulcer in rats and intervention of tert-butylhydroquinone: Involvement of Nrf2/HO-1 signalling pathway", *Human & Experimental Toxicology*, 39(4), 547-562, 2020. <https://doi.org/10.1177/0960327119895559>
2. M. Kolgazi, Z. N. Ozdemir-Kumral, C. Cantali-Ozturk, E. K. Demirci, M. Yuksel, S. Sirvanci, B. C. Yegen, "Anti-inflammatory effects of nesfatin-1 on acetic acid-induced gastric ulcer in rats: involvement of cyclo-oxygenase pathway", *Journal of Physiology and Pharmacology*, 68, 765-777, 2017. PMID: 29375052
3. A. S. AlRashdi, S. M. Salama, S. S. Alkiyumi, M. A. Abdulla, A. H. A. Hadi, S. I. Abdelwahab, M. M. Taha, J. Hussiani, N. Asykin, "Mechanisms of Gastroprotective Effects of Ethanolic Leaf Extract of *Jasminum sambac* against HCl/Ethanol-Induced Gastric Mucosal Injury in Rats", *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 786426, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/786426>
4. J. U. Park, J. H. Kang, A. A. Rahman, A. Hussain, J. S. Cho, Y. I. Lee, "Gastroprotective Effects of Plants Extracts on Gastric Mucosal Injury in Experimental Sprague-Dawley Rats", *BioMed Research International*, 2019, 8759708, 2019. DOI: 10.1155/2019/8759708
5. S. Ngadiran, M. Yahayu, S. Z. Hanapi, I. M. Yusoff, S. H. M. Sarip, R. A. Malek, M. F. Mohamad, L. H. Heng, E. Kian, H. A. Enshasy, "Hedyotis-Oldenlandia genus: A review of Traditional Chinese Medicine herb", *Bioscience research*, 18(4), 2830-2844, 2021. ISSN: 2218-3973
6. U. Anand, N. Jacobo-Herrera, A. Altemimi, N. Lakhssassi, "A comprehensive review on medicinal plants as antimicrobial therapeutics: Potential avenues of biocompatible drug discovery", *Metabolites*, 9(11), 258, 2019. <https://doi.org/10.3390/metabo9110258>
7. S. Das S, N. Mondal, S. Mondal, P. Ghosh, C. Ghosh, C. Das, S. Chatterjee, "Botanical features, phytochemical and pharmacological overviews of *Oldenlandia corymbosa* Linn: A brief review", *The Pharma Innovation Journal*, 8(2), 464-468, 2019.
8. A. Dey, J. N. De, "Traditional use of plants against snakebite in Indian subcontinent: a review of the recent literature", *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 9(1), 153-174, 2012.
9. S. K. Behera, C. Rajasekaran, S. Payas, D. P. Fulzele, C. G. Doss, R. Siva, "In vitro flowering in *Oldenlandia umbellata* L.", *Journal of Ayurveda and integrative medicine*, 9(2), 99-103, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jaim.2017.02.011>
10. Đỗ Tất Lợi, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học, 2006
11. E. Iqbal, K. A. Salim, B. L. Linda. Lim, "Phytochemical screening, total phenolics and antioxidant activities of bark and leaf extracts of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) from Brunei Darussalam", *Journal of King Saud University - Science*, 27(3), 224-232, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2015.02.003>
12. W.H. Organization, "General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine", *World Health Organization*, 2000.
13. Hurst, S.A.J.J., "Declaration of Helsinki and protection for vulnerable research participants", *Jama*, 311(12), 1252-1252, 2014.
14. Bộ Y tế, Việt Nam, *Hướng dẫn quốc gia về đạo đức trong nghiên cứu y sinh học*, Hà Nội, 173, 2013.
15. S. Q. A. Mohammad, R. Venkateshwar, G. S. Kumar, "Protective Effect of *Hydrolea zeylanica* Vahl. Leaf extract in Ethanol and Cold Restraint Stress Induced Ulcers in Rats", *Journal of Pharmacy and Technology*, 10(1), 49-54, 2017. DOI: 10.5958/0974-360X.2017.00012.9.
16. R. Liu, N. Zhu, Y. Hao, X. Liu, J. Kang, R. Mao, X. Yu, Y. Li, "The Protective Effect of Walnut Oligopeptides against Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Rats", *Nutrients*, 15(7), 1675, 2023. <https://doi.org/10.3390/nu15071675>
17. L. Feng, T. Bao, L. Bai, X. Mu, N. Ta, M. Bao, Y. Li, J. Zhang, M. Fu, Y. Chen, "Mongolian medicine formulae Ruda-6 alleviates indomethacin-induced gastric ulcer by regulating gut microbiome and serum metabolomics in rats", *Journal of Ethnopharmacology*, 314, 5, 116545, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116545>

18. M. F. Mahmoud, "Gastroprotective Effects of Standardized Ginkgo Biloba Extract (Egb761), Aniseed, Quercetin and Trans-Anethole on Ethanol-Induced Ulcers in Rats", *Austin J Pharmacol Ther*, 2 (5), 1031, 2014.
19. J. M. Lim, C. H. Song, S. J. Park, D. C. Park, G. W. Jung, H. R. Cho, K. M. I. Bashir, S. K. Ku, J. S. Choi, "Protective effects of triple fermented barley extract (FBe) on indomethacin-induced gastric mucosal damage in rats", *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19, 49-60, 2019. <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2457-0>
20. S. Sen, K. Asokkumar, M. Umamaheswari, A. T. Sivashanmugam, V. Subhadradevi "Antiulcerogenic Effect of Gallic Acid in Rats and its Effect on Oxidant and Antioxidant Parameters in Stomach Tissue", *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 75(2), 149–155, 2013. PMID: 2401956
21. J. Sedlak, R. H. Lindsay, "Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent", *Anal Biochem*, 25, 192–205, 1968. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(68\)90092-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(68)90092-4).
22. P. Dejan, K. Gordana, K. Vuka, Z. Aleksandra, J. V. Ljubinka, P. N. Vanja, J. Andrija, V. Andrej, P. Vladimir, R. Violeta, J. Zorica, P. U. Natasa, S. Danka, S. Marko, S. Marko, R. Goran, R. N. Gordana, L. Azra, M. Aleksandar, S. Dusan, "Anthocyanins Protect Hepatocytes against CCl4-Induced Acute Liver Injury in Rats by Inhibiting Pro-inflammatory mediators, Polyamine Catabolism, Lipocalin-2, and Excessive Proliferation of Kupffer Cells" *Antioxidants*, 8(10), 451, 2019. <https://doi.org/10.3390/antiox8100451>
23. G. J. Li, P. Sun, R. Wang, Y. L. Zhou, Y. Qian, X. Zhao, "Preventive Effect of Polysaccharide of *Larimichthys crocea* Swim Bladder on Reserpine Induced Gastric Ulcer in ICR Mice", *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, 18(2), 183-190, 2014. DOI: <https://doi.org/10.4196/kjpp.2014.18.2.183>
24. M. Nabil, M. A. E. Raey, W. Abdo, M. A. O. Abdelfattah, A. M. E.-Shazly, M. Sobeh, M. F. Mahmoud, "Gastro-Protective Effects of *Albizia anthelmintica* Leaf Extract on Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Wistar Rats: In Silico and In Vivo Studies", *Antioxidants*, 10(2), 176, 2021. <https://doi.org/10.3390/antiox10020176>
25. D. Ortaç, M. Cemek, T. Karaca, M. E. Büyükkuroğlu, Z. O. Özdemir, A. T. Kocaman, S. Göneş, "In vivo anti-ulcerogenic effect of okra (*Abelmoschus esculentus*) on ethanol-induced acute gastric mucosal lesions", *Pharm. Biol*, 56, 165–175, 2018. DOI: 10.1080/13880209.2018.1442481
26. P. J. Lu, P. I. Hsu, C. H. Chen, M. H., W. C. Chang, H. H. Tseng, K. H. Lin, S. K. Chuah, H. C. Chen, "Gastric juice acidity in upper gastrointestinal diseases", *World J Gastroenterol*, 16(43), 5496–5501, 2010. DOI: 10.3748/wjg.v16.i43.5496
27. D. Kumadoh, M. AnnArcher, G. N. Yeboah, M. O. Kyene, M. B. Yiadom, O. A. Dako, C. O. Asare, E. Adase, A. A. Appiah, S. O. Mintah, "A review on anti-peptic ulcer activities of medicinal plants used in the formulation of Enterica, Dyspepsia and NPK 500 capsules", *Heliyon*, 7, e08465, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08465>
28. S. A. Ferreira, A. G. Guimarães, F. C. Ferraria, C. M. Carneiro, N. C. N. Paivac, D. A. S. Guimarães, "Assessment of acute toxicity of the ethanolic extract of *Lychnophora pinaster* (Brazilian arnica)". *Rev Bras Farmacogn*, 24, 553-560, 2014
29. A. M. Abd-Eldayem, S. M. Alnasser, H. H. Abd-Elhafeez, S. A. Soliman, R. A. Abdel-Emam, "Therapeutic Versus Preventative Use of Ginkgo biloba Extract (EGb 761) against Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Mice". *Molecules*, 27(17), 5598, 2022. doi: 10.3390/molecules27175598
30. Rustem Anil Ugan1 , Harun Un, "The Protective Roles of Butein on Indomethacin Induced Gastric Ulcer in Mice". *Eurasian J Med.*, 52(3), 265-70, 2020. DOI 10.5152/eurasianjmed.2020.20022
31. A. L. Rozza, F. M. Faria, A. R. S. Brito, C. H. Pellizzon, "The Gastroprotective Effect of Menthol: Involvement of Anti-Apoptotic, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities". *Plos One*, 9(1), e86686, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086686>
32. S. Sabiu, T. Garuba, T. Sunmonu, E. Ajani, A. Sulyman, I. Nurain, A. Balogun, "Indomethacin-induced gastric ulceration in rats: Protective roles of *Spondias mombin* and *Ficus exasperata*". *Toxicol Rep.*, 2, 261–267, 2015. DOI: 10.1016/j.toxrep.2015.01.002

**IMPROVEMENT OF INDOMETHACIN-INDUCED GASTRIC MUCOSAL DAMAGE
IN MICE (*Mus musculus*) BY ETHANOL EXTRACT FROM *Oldenlandia capitellata*
Kunzte. LEAVES**

PHUONG-NHUNG TRAN THI

Institute of Food and Biotechnology, Industrial University of Ho Chi Minh City

Corresponding author: tranthiphuongnhung@iuh.edu.vn

Abstract. Gastric ulcer is a significant public health issue worldwide and is associated with various serious complications. Long-term use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) causes gastric mucosal damage and ulceration. In Vietnam, *Oldenlandia capitellata* K. leaves are widely used in traditional medicine for the treatment of gastric ulcers. This study aimed to determine the effect of ethanol extract from *O. capitellata* (EOCK) on improving gastric mucosal damage in indomethacin (IND)-induced gastric inflammation in mice. Swiss albino mice were divided into six groups (each group consisting of 5 mice). The groups included the normal control group treated with distilled water, the gastric ulcer control group (negative control) treated with IND (45 mg/kg), the positive control group treated with omeprazole (OME) (20 mg/kg), and the experimental groups treated with different doses of EOCK (200, 250, and 300 mg/kg). Thirty minutes after the administration of distilled water, OME, and EOCK, mice were induced with acute gastric ulceration by exposure to IND. The intervention with EOCK and OME continued for 21 consecutive days. Pretreatment with EOCK reduced gastric mucosal damage, ulcer index, pH, and acid content. The clinical manifestation of gastric mucosal improvement by EOCK included a significant increase SOD, GPx, GSH, TAC, IL-10 levels, and a decrease in TNF- α , IL-1 β levels. Histopathological examination showed a noticeable reduction in congestion and leukocyte infiltration in the submucosal layer. Ethanol extract from *O. capitellata* leaves demonstrated a protective effect on the stomach in mice with IND-induced gastric ulcers. The current study contributes to the development of rational plant-based chemical options for improving gastric mucosal damage caused by chemical agents.

Keywords: *Oldenlandia capitellata* K., ethanol extract, gastric protection, improvement of mucosal damage, gastric ulceration.

Ngày nhận bài: 25/9/2023

Ngày chấp nhận đăng: 08/12/2023