

Nghiên cứu tác dụng điều trị dự phòng suy thận mạn của dịch chiết cây hạ khô thảo nam (*Blumea lacera* (Burn. f.) DC) trên động vật thực nghiệm

Preventive effectiveness of Blumea lacera extract on chronic renal failure in animal model

Trịnh Khánh Linh*, Trần Văn Cường*,
Hồ Anh Sơn**

*Trường PTTH chuyên Khoa học Tự Nhiên,
Đại học Quốc gia Hà Nội,
**Học viện Quân y

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá tác dụng điều trị dự phòng suy thận mạn của dịch chiết hạ khô thảo nam (*Blumea lacera*) trên chuột được gây tổn thương thận bằng adenine. **Đối tượng và phương pháp:** Bột cây hạ khô thảo nam được chiết 3 lần bằng cồn 96%, bốc hơi dưới áp suất giảm thu được cặn EtOH để làm thí nghiệm. 24 chuột nhắt trắng được chia thành 03 nhóm: (1) Nhóm chứng: Cho uống nước cất. (2) Nhóm điều trị dự phòng: Uống adenine liều 100mg/kg cách ngày, các ngày còn lại uống dịch chiết hạ khô thảo nam liều 8gam dược liệu/ kg. (3) Nhóm suy thận: Uống adenine liều 100mg/kg cách ngày. Theo dõi trong vòng 35 ngày về tình trạng chung, cân nặng, tỷ lệ chuột sống/chết, nồng độ ure, creatinin, huyết đồ và giải phẫu bệnh thận. **Kết quả:** Sau 35 ngày theo dõi, các chỉ số được theo dõi ở nhóm chứng và nhóm điều trị dự phòng tương đương nhau. Nhóm chỉ uống đơn thuần adenine thì tỷ lệ chuột chết cao rõ rệt, nồng độ ure và creatine cao hơn rõ rệt, số lượng hồng cầu và hemoglobine giảm rõ rệt so với 2 nhóm còn lại. **Kết luận:** Cặn chiết EtOH hạ khô thảo nam có tác dụng điều trị dự phòng suy thận trên mô hình gây tổn thương thận chuột bằng adenine.

Từ khóa: Hạ khô thảo nam, suy thận mạn, adenine.

Summary

Objective: To evaluate the preventive effectiveness of *Blumea lacera* extract on chronic renal failure by adenine in animal model. **Subject and method:** *Blumea lacera* was extracted by 96% ethanol three time, then the liquid was evaporated with low pressure to get EtOH extract. Swiss mice were devised in three groups: (1) Control group, distilled water ingestion. (2) Prevention group (M): Adenine oral administration (100mg/kg) every 2 days, in other day, *Blumea lacera* EtOH extract was oral administrated (equivalent to 8g crude/kg). (3) Renal failure group (ST): Adenine oral administration (100mg/kg) every 2 days. Animal was monitored within 35 days as whole body condition, weight, dead and other parameter such as blood cell count, urea, creatine, were identified. **Result:** At the end of 35 day duration, the similarity between control group and M group was identified. ST group significantly showed the higher in dead rate, urea and creatine concentration than other groups, red blood cell

□Ngày nhận bài: 05/11/2018, ngày chấp nhận đăng: 08/11/2018

Người phản hồi: Hồ Anh Sơn, Email: hoanhsonghp@gmail.com - Học viện Quân y

was significantly lower than those in other groups. *Conclusion: Blumea lacera* EtOH extract showed the renal failure prevention on renal failure animal model by adenine.

Keywords: Blumea lacera, chronic renal failure, adenine.

1. Đặt vấn đề

Trên thế giới, ước tính có khoảng 10% dân số mắc bệnh thận mạn và hàng triệu người chết mỗi năm vì họ không được điều trị hợp lý. Tại Mỹ, nghiên cứu năm 2015 cho thấy, có khoảng 15% dân số Mỹ mắc bệnh thận mạn. Hơn 661.000 người suy thận, trong đó 468.000 người đang chạy thận, 193.000 người sống với thận ghép [8]. Hiện ở Việt Nam chưa có số liệu thống kê chính xác toàn quốc. Song, ước tính có khoảng 6 triệu người dân bị suy thận mạn ở các mức độ khác nhau, chiếm 6,73% dân số với khoảng 8.000 bệnh nhân mới với bệnh thận giai đoạn cuối mỗi năm [2]. Hiện nay, chưa có thuốc điều trị đặc hiệu suy thận mà chúng ta dùng các biện pháp điều trị triệu chứng, lọc máu hoặc ghép thận. Việc nghiên cứu các phương pháp, liệu pháp điều trị cũng như y học cổ truyền vẫn đang được đẩy mạnh để phục vụ nhóm bệnh này.

Hạ khô thảo nam còn gọi là cây cải trời, là loài cây đặc hữu của Việt Nam và được dùng trong bài thuốc đông y cho bệnh nhân bị bệnh thận [3]. Tuy nhiên, cho đến nay ở nước ta chưa có tác giả nào nghiên cứu về chiết xuất, đánh giá thành phần hóa học của cây hạ khô thảo nam cũng như tác dụng riêng biệt của cây hạ khô thảo nam trên bệnh nhân suy thận mạn. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này trên mô hình động vật, nhằm mục tiêu: *Từng bước đánh giá hiệu quả của hạ khô thảo nam trên bệnh lý thận mạn tính.*

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng và vật liệu nghiên cứu

Chuột nhắt trắng, chủng Swiss, cả hai giống, khỏe mạnh, khối lượng $20 \pm 2g$, của Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Động vật được nuôi trong điều kiện phòng thí nghiệm với đầy đủ thức ăn và nước uống tại Viện Nghiên cứu Y Dược học Quân sự - Học viện Quân y từ trước khi nghiên cứu 5 ngày và trong suốt thời gian nghiên cứu.

Nguyên liệu nghiên cứu là phần trên mặt đất của cây hạ khô thảo nam được thu hái tại Sapa, Lào Cai có ký hiệu là HKTN-018-4 vào tháng 3 năm 2018 để làm tiêu bản (với đầy đủ bộ phận sinh sản). Tiêu bản mẫu nghiên cứu được lưu giữ tại Phòng tiêu bản, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật.

2.2. Đánh giá tác dụng trên suy thận mạn

2.2.1. Chiết xuất hoạt chất từ hạ khô thảo nam

Cân 1,1kg bột thô phần trên mặt đất của cây hạ khô thảo nam được chiết hồi lưu 3 lần với EtOH 96%, để nguội, lọc, tập trung dịch lọc, bốc hơi dung môi dưới áp suất giảm thu được cặn EtOH (86,4gam).

2.2.2. Đánh giá tác dụng bảo vệ thận

Chuẩn bị hóa chất và mẫu thử:

Pha adenine: Adenine của hãng Sigma được pha trong dầu ăn với hàm lượng 10mg/ml dầu (Chuột được uống 0,1ml/10gam thể trọng, tương ứng liều 100mg/kg thể trọng).

Pha mẫu thử: Cặn EtOH được hòa tan trong DMSO, sau đó được pha vào nước với thể tích vừa đủ tạo dung dịch 630mg/10ml (Chuột được uống 0,1ml/10gam thể trọng,

tương đương 8 gam dược liệu khô/kg thể trọng).

Đánh giá tác dụng bảo vệ thận của dịch chiết hạ khô thảo nam trên chuột tổn thương thận bằng adenine:

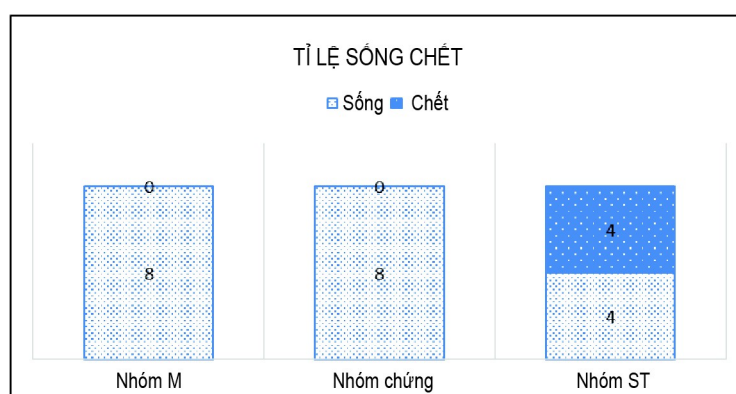
Chuột nhắt trắng thực nghiệm được nuôi ổn định trong điều kiện phòng thí nghiệm 5 ngày. Chuột đạt yêu cầu về cân nặng 20 ± 2 g sẽ được đưa vào thí nghiệm. 24 chuột nhắt trắng được phân thành 3 nhóm như sau:

Nhóm M - nhóm điều trị dự phòng (n = 08): Chuột nhắt cho uống adenine với liều 100mg/kg, uống cách ngày, các ngày khác uống dịch chiết hạ khô thảo nam với liều tương ứng 8g dược liệu khô/kg (tương ứng với liều lâm sàng 40g/ người/ ngày). Thời gian uống adenine và hạ khô thảo kéo dài 35 ngày.

Nhóm chứng (n = 08): Chuột được cho ăn uống bình thường và không cho uống thuốc thử cũng như adenine. Thời gian kéo dài 35 ngày.

3. Kết quả

3.1. Tỷ lệ chuột sống chết của các nhóm chuột



Hình 1. Tỷ lệ sống chết giữa các nhóm chuột

Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về số lượng chuột sống của các nhóm chứng và nhóm được uống dự phòng hạ khô thảo (nhóm M) so với nhóm uống adenine đơn thuần ($p < 0,05$). Trong đó, nhóm suy thận, số lượng chuột sống chỉ bằng 50% so với hai nhóm còn lại.

3.2. Kết quả cân nặng của các nhóm chuột

Nhóm ST (n = 8): Chuột được uống adenine với liều 100mg/kg (0,1ml/10 gam chuột), uống cách ngày, các ngày khác uống nước cất. Thời gian uống adenine và nước cất kéo dài 35 ngày.

Các chỉ tiêu theo dõi:

Trọng lượng chuột: Được kiểm tra hai lần/ tuần bằng cân điện tử TE3102S Sartorius (Hãng: Sartorius - Đức) với độ chính xác 0,01gram.

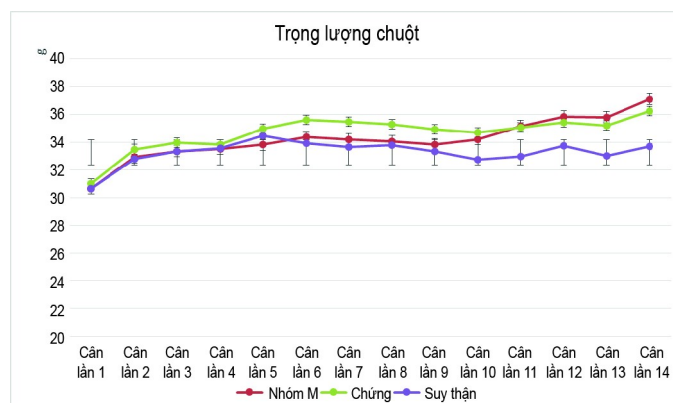
Số lượng chuột sống/ chết trong vòng 5 tuần.

Đánh giá sự thay đổi nồng độ ure và creatinin máu chuột bằng máy phân tích sinh hóa bán tự động BTS350 của hãng Biosystem Tây Ban Nha.

Hình ảnh giải phẫu bệnh học tổn thương nhu mô thận.

2.3. Xử lý số liệu

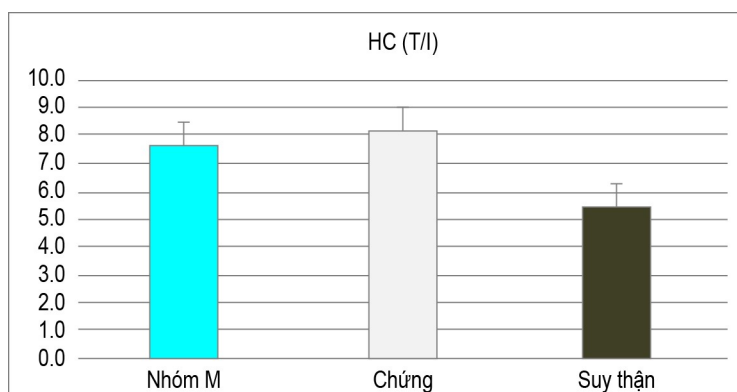
Số liệu được xử lý bằng phần mềm thống kê Statview 5.0.



Hình 2. Trọng lượng chuột trong quá trình thí nghiệm (Trung bình $\pm$ SD)

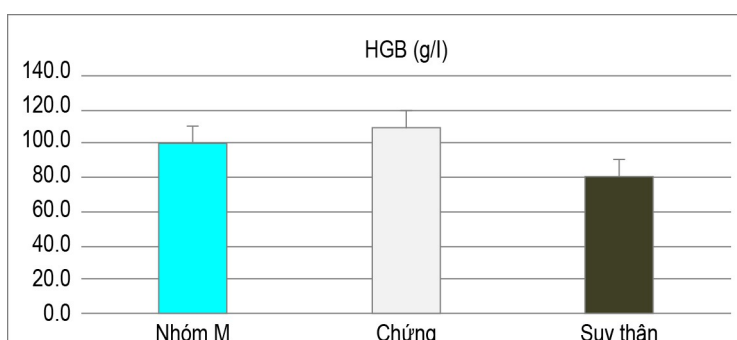
Trọng lượng chuột của các nhóm được điều trị có sự khác biệt giữa nhóm ST và 2 nhóm còn lại. Trong đó, từ lần cân thứ 11, nhóm chuột ST (chỉ uống adenine) có trọng lượng thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng và nhóm uống hạ khô thảo nam (nhóm M). Kết quả trình bày dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ SE.

3.3. Kết quả xét nghiệm huyết học của các nhóm chuột



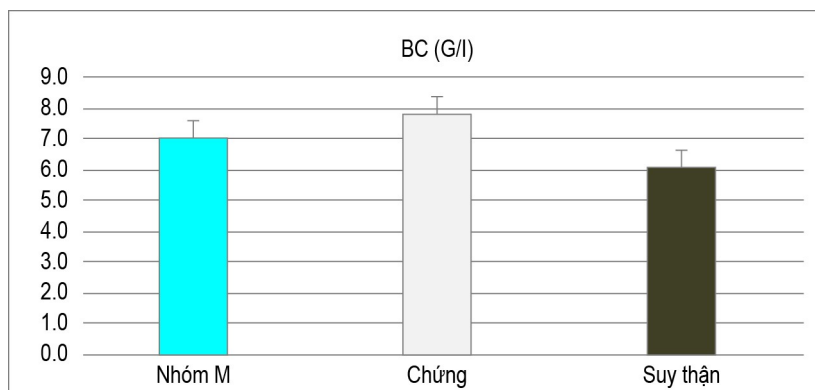
Hình 3. Số lượng hồng cầu trong máu các nhóm chuột (Trung bình $\pm$ SD)

Kết quả xét nghiệm huyết học cho thấy có sự giảm số lượng hồng cầu ở nhóm ST so với nhóm chứng ($p < 0,05$), không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về số lượng hồng cầu ở nhóm uống hạ khô thảo nam so với nhóm chứng.



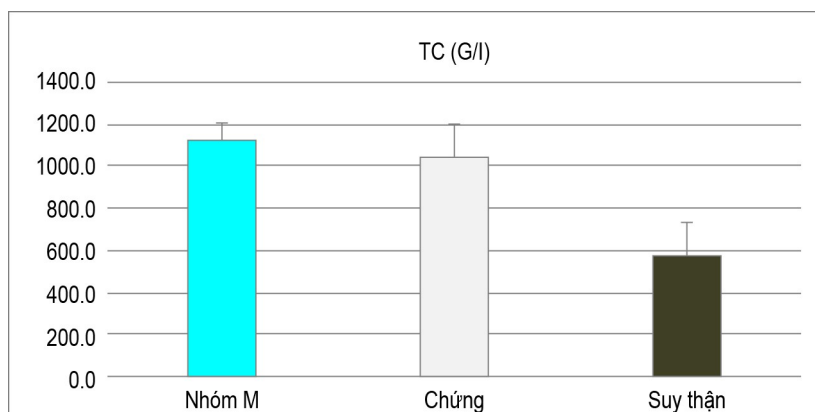
Hình 4. Nồng độ huyết sắc tố trong máu các nhóm chuột (Trung bình $\pm$ SD)

Tương tự, kết quả hemoglobin của nhóm ST cũng thấp hơn rõ rệt so với hai nhóm còn lại. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm uống hạ khô thảo nam và nhóm chứng.



Hình 5. Số lượng bạch cầu của các nhóm chuột (Trung bình $\pm$ SD)

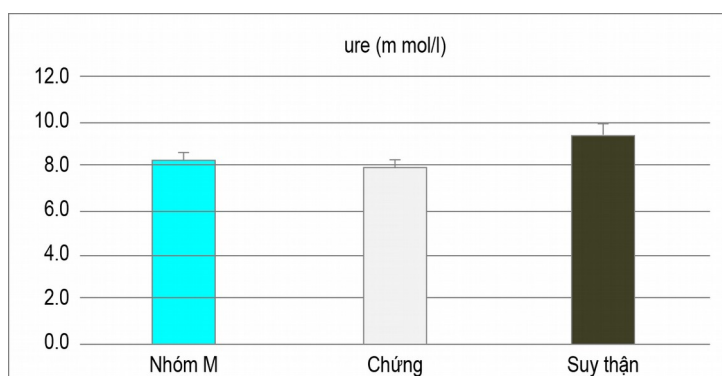
Số lượng bạch cầu cũng giảm thấp ở nhóm ST so với nhóm chứng có ý nghĩa thống kê. Nhóm uống hạ khô thảo nam có số lượng bạch cầu thấp hơn nhóm chứng, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.



Hình 6. Số lượng tiểu cầu ở các nhóm chuột (Trung bình $\pm$ SD)

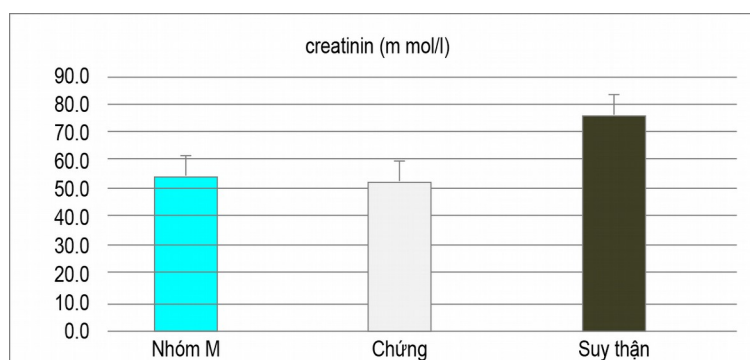
Số lượng tiểu cầu giảm mạnh ở nhóm ST so với hai nhóm còn lại có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt đáng kể giữa nhóm uống hạ khô thảo nam và nhóm chứng.

3.4. Kết quả xét nghiệm sinh hóa



Hình 7. Nồng độ ure trong máu của các nhóm chuột (Trung bình $\pm$ SD)

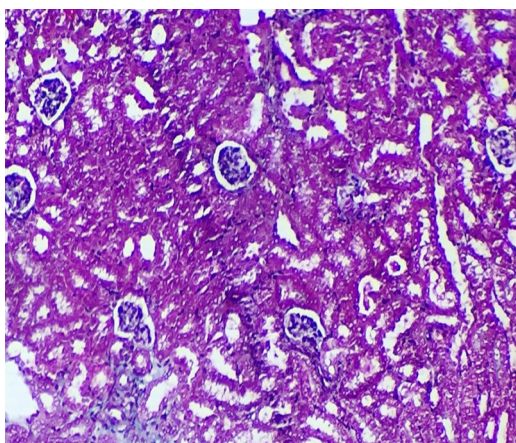
Kết quả xét nghiệm nồng độ ure của các nhóm chuột cho thấy chuột uống hạ khô thảo nam có nồng độ ure tương tự nhóm chứng. Trong khi đó, nhóm ST có nồng độ ure cao hơn có ý nghĩa thống kê so với hai nhóm còn lại ($p < 0,01$).



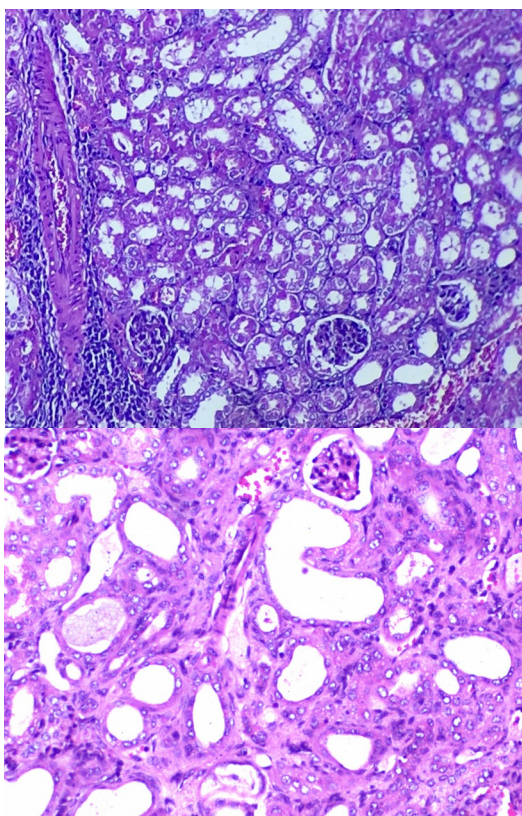
Hình 8. Nồng độ creatinin trong máu của các nhóm chuột (Trung bình $\pm$ SD)

Kết quả xét nghiệm nồng độ creatinin cho thấy nồng độ chất này tương tự giữa nhóm chuột uống hạ khô thảo nam và nhóm chứng. Nhóm ST có nồng độ creatinin cao hơn có ý nghĩa thống kê so với hai nhóm còn lại ($p < 0,05$).

3.5. Kết quả giải phẫu bệnh



Hình ảnh giải phẫu bệnh thận nhóm chứng. Các cấu trúc tiểu cầu thận, ống thận rõ. Không có tổn thương.



Hình ảnh giải phẫu bệnh thận nhóm M. Các cấu trúc tiểu cầu thận, ống thận rõ. Không có tổn thương.

Hình ảnh giải phẫu bệnh thận nhóm suy thận. Các ống thận giãn rộng, tế bào biểu mô thoái hóa, có hình ảnh tăng sinh khe thận, trụ trong ống thận.

Hình 9. Hình ảnh giải phẫu bệnh thận của các nhóm chuột

Hình ảnh giải phẫu bệnh cho thấy, nhóm chứng và nhóm dự phòng bằng hạ khô thảo không có tổn thương. Các cấu trúc cầu thận và ống thận bình thường. Nhóm suy thận có hình ảnh tổn thương vùng ống thận và khe thận.

4. Bàn luận

Nghiên cứu trước đây cho thấy, hạ khô thảo nam có tác dụng kháng khuẩn, ức chế các loại trực khuẩn lị, trực khuẩn mủ xanh, tụ cầu khuẩn, liên cầu [2]. Dược liệu này còn có tác dụng hạ áp và tác dụng hỗ trợ phòng chống ung thư trên thực nghiệm. Ngoài ra, kinh nghiệm dân gian còn sử dụng hạ khô thảo nam trong điều trị bệnh thận. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào đi sâu đánh giá tác dụng của hạ khô thảo nam trên bệnh lý thận, đặc biệt là bệnh thận mạn tính hoặc điều trị dự phòng suy thận. Kết quả của chúng tôi, chuột uống phân đoạn chiết cồn của hạ khô thảo nam

cho thấy tác dụng bảo vệ thận, dự phòng suy thận rất rõ thông qua các chỉ số huyết học, sinh hóa và giải phẫu bệnh thận chuột thực nghiệm. Nhóm chuột gây suy thận bằng adenin cho thấy có tổn thương rõ rệt trên hình ảnh giải phẫu bệnh, có sự suy giảm tế bào hồng cầu rõ rệt và tăng nồng độ ure, creatinine. Việc gây tổn thương thận mạn tính bằng adenine đã được chứng minh bằng nhiều nghiên cứu trước đây [5], [6], [7]. Các bài thuốc y học cổ truyền đã từng bước chứng minh được vai trò trong việc hạn chế tiến triển tổn thương thận mạn tính, nhưng chưa có nghiên cứu nào đánh giá vai trò của dược liệu trong việc dự phòng suy thận trên mô hình thực nghiệm [1]. Do vậy, kết quả nghiên cứu bước đầu này là rất đáng khích lệ và cần tiếp tục được đánh giá, làm rõ cơ chế tác dụng bảo vệ thận của dược liệu hạ khô thảo nam.

5. Kết luận

Bước đầu đã đánh giá tác dụng của phân đoạn chiết cồn của hạ khô thảo nam có tác dụng trên mô hình tổn thương thận chuột mạn tính bằng adenine với liều 100mg/kg thể trọng, cách ngày trong 35 ngày. Nhóm được uống kèm Hạ khô thảo nam có số lượng hồng cầu, huyết sắc tố, nồng độ ure, creatinin, giải phẫu bệnh thận tương tự nhóm chứng. Trong khi đó, nhóm không được uống hạ khô thảo nam có tỷ lệ chuột chết lên đến 50%, với số lượng hồng cầu giảm, tăng nồng độ ure, creatinine và các biểu hiện tổn thương mạn tính trên thận thông qua hình ảnh giải phẫu bệnh lý.

Tài liệu tham khảo

1. Phạm Xuân Phong, Trần Thị Tuyết Nhung (2012) *Đánh giá tác dụng bài thuốc Bảo Thận Thang thực giữ đại tràng điều trị suy thận mạn giai đoạn I, II*. Y học Việt Nam 7(2), tr. 125-127.
2. Đỗ Gia Tuyển (2012) *Bệnh thận mạn và suy thận mạn*. Bệnh học nội khoa: Nhà xuất bản y học, tr. 398-400.
3. Võ Văn Chi (1997) *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học, tr. 170.
4. Ahmed FA et al (2014) *Ethnobotany and antibacterial potentiality of Blumea lacera L. from Sundarban Mangrove forest of Bangladesh*. Jahangirnagar University J. Biol. Sci 3(2): 17-24.
5. Diwan V, Mistry A, Gobe G, Brown L (2013) *Adenine-induced chronic kidney and cardiovascular damage in rats*. J Pharmacol Toxicol Methods 68(2): 197-207.
6. Yang HC, Zuo Y, Fogo AB (2010) *Models of chronic kidney disease*. Drug Discov Today Dis Models 7(1-2): 13-19.
7. Yokozawa T, Zheng PD, Oura H, Koizumi F (1986) *Animal model of adenine-induced chronic renal failure in rats*. Nephron 44(3): 230-234.
8. Nathan RH, Samuel TF, Jason LO, Jennifer A Hi, Christopher AOC, Daniel SL, and Richard Hobbs FD (2016) *Global prevalence of chronic kidney disease - a systematic review and meta-analysis*. PLoS One 11(7): 0158765.