**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ Y TẾ**

**HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM**

**PHẠM TUẤN THANH**

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM, GIẢM ĐAU CỦA CAO LỎNG THIÊN CỐT ĐAN TRÊN THỰC NGHIỆM**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC**

**Hà Nội - Năm 2017**

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ Y TẾ**

**HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM**

**PHẠM TUẤN THANH**

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM, GIẢM ĐAU CỦA CAO LỎNG THIÊN CỐT ĐAN TRÊN THỰC NGHIỆM**

**Chuyên ngành: Y học cổ truyền**

**Mã số : 60.72.02.01**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC**

Người hướng dẫn khoa học: **PGS.TS NGUYỄN DUY THUẦN**

**Hà Nội - Năm 2017**

**LỜI CẢM ƠN**

Sau 2 năm học tập khóa cao học tại Học viện Y học cổ truyền Việt Nam, đến nay tôi đã hoàn thành chương trình học tập. Với lòng biết ơn và kính trọng tôi xin chân thành cám ơn:

- Ban Giám hiệu, phòng Đào tạo Sau đại học Học viện Y Dược học cổ truyển Việt Nam.

- Ban Giám đốc, Viện nghiên cứu Học viện Y Dược học cổ truyển Việt Nam.

- Tập thể bộ môn Dược lý Học viện Quân Y đặc biệt là Ts Nguyễn Hoàng Ngân đã giúp đỡ tôi tận tình để hoàn thành luận văn.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới là người Thầy PGS. TS Nguyễn Duy Thuần đã trực tiếp giúp đỡ, hướng dẫn, đóng góp nhiều ý kiến quý báu, tận tâm dìu dắt tôi từng bước hoàn thành luận văn.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới tất cả các Giáo sư, Phó giáo sư, Tiến sỹ trong Hội đồng: Là những người thầy, những Nhà khoa học dạy dỗ tôi suốt quá trình học tập và đóng góp cho tôi những ý kiến quý báu để tôi hoàn thành và bảo vệ thành công luận văn này.

Tôi xin gửi lời cảm ơn tới Ban giám đốc, tập thể khoa y học cổ truyền Bệnh viện đa khoa huyện Phú Xuyên luôn tạo điều kiện tốt nhất về thời gian, chia sẻ, động viên giúp đỡ tôi trong quá trình học tập.

Cuối cùng tôi xin dành những tình cảm trân trọng nhất cảm ơn gia đình, anh chị em, bạn bè những người luôn lo lắng, vất vả sớm hôm vì tôi, để cho tôi có được thành công ngày hôm nay.

Hà nội, ngay tháng năm 2017

**Học viên**

**Phạm Tuấn Thanh**

**LỜI CAM ĐOAN**

Tôi là Phạm Tuấn Thanh, học viên cao học khóa 8 Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam, chuyên ngành Y học cổ truyền, xin cam đoan:

1. Đây là luận văn do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của Thầy PGS. TS Nguyễn Duy Thuần.
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 2017.*

Người viết cam đoan

***Phạm Tuấn Thanh***

**DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT**

**COX** Cyclooxygenase

**CSSK** Chăm sóc sức khỏe

**CS** Cộng sự

**IL**  Interleukin

**LHQ** Liên Hiệp Quốc

**PG** Prostaglandin

**NSAID** Non steroid Anti Inflammation Drug

**SD** Standard Deviation

**TCĐ** Thiên cốt đan

**TTCT** Thể trọng cơ thể

**TNF- 𝛼** Tumor necrosis factor-𝛼

**YHCT** Y học cổ truyền

**YHHĐ**  Y học hiện đại

**WHO** Tổ chức Y tế thế giới

**MỤC LỤC**

**ĐẶT VẤN ĐỀ** 1

**CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN** 3

* 1. TỔNG QUAN VIÊM VÀ ĐAU THEO Y HỌC HIỆN ĐẠI 3
     1. Tổng quan về viêm 3
     2. Tổng quan về đau 14
  2. TỔNG QUAN VIÊM VÀ ĐAU THEO Y HỌC CỔ TRUYỀN 22
  3. TỔNG QUAN VỀ BÀI THUỐC NGHIÊN CỨU 23

**CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG-PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU** 31

2.1. CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG NGHIÊNCỨU 31

2.1.1. Thuốc nghiên cứu 31

2.1.2. Thuốc đối chứng và hóa chất dùng trong nghiên cứu 32

2.1.3. Phương tiện và trang thiết bị dùng trong nghiên cứu. 32

2.1.4. Động vật sử dụng trong nghiên cứu 32

2.2. ĐỊA ĐIỂM VÀ THỜI GIAN NGHIÊN CỨU 33

2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU 33

2.4. KỸ THUẬT PHÂN TÍCH SỐ LIỆU 41

**CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU** 43

3.1. ĐỘC TÍNH CẤP 43

3.2. TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM, GIẢM ĐAU 46

3.2.1. Tác dụng chống viêm 46

3.2.1.1. Tác dụng chống viêm cấp 46

3.2.1.2. Tác dụng chống viêm mạn 56

3.2.2. Tác dụng giảm đau 58

3.2.1. Tác dụng giảm đau trung ương. 58

3.2.2. Tác dụng giảm đau ngoại biên 59

**CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN** 64

**CHƯƠNG 5: KẾT LUẬN** 75

**CHƯƠNG 6: KIẾN NGHỊ VÀ ĐỀ XUẤT** 77

**DANH MỤC CÁC BẢNG**

Bảng 3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cao lỏng Thiên cốt đan 44

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của cao lỏng Thiên cốt đan tới trung bình tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở thời điểm 2 giờ sau gây viêm 46

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của cao lỏng Thiên cốt đan tới trung bình tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở thời điểm 4 giờ sau gây viêm 48

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của cao lỏng Thiên cốt đan tới trung bình tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở thời điểm 6 giờ sau gây viêm 49

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của cao lỏng Thiên cốt đan tới trung bình tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở thời điểm 24 giờ sau gây viêm 50

Bảng 3.6. mức độ ức chế phù viêm cấp bàn chân chuột 52

Bảng 3.7. Tác dụng của cao lỏng Thiên cốt đan lên thể tích dịch rỉ viêm 53

Bảng 3.8. Tác dụng của cao lỏng Thiên cốt đan lên hàm lượng protein trong dịch rỉ viêm 54

Bảng 3.9. Tác dụng của cao lỏng Thiên cốt đan lên số lượng bạch cầu trong dịch rỉ viêm 55

Bảng 3.10. Tác dụng giảm khối lượng u hạt (mg/100 g) của cao lỏng Thiên cốt đan 56

Bảng 3.11. Tác dụng chống viêm thông qua trọng lượng tuyến ức của cao lỏng Thiên cốt đan 57

Bảng 3.12. Ảnh h­ưởng của cao lỏng Thiên cốt đan tới thời gian đáp ứng đau của chuột 58

Bảng 3.13. Ngưỡng đau của tổ chức viêm cấp bàn chân chuột 59

Bảng 3.14. Ảnh hưởng của cao lỏng Thiên cốt đan tới thời gian xuất hiện số cơn đau quặn của chuột nhắt trắng 60

Bảng 3.15. Ảnh hưởng của cao lỏng Thiên cốt đan tới số cơn đau quăn của chuột nhắt trắng trong 20 phút sau khi tiêm 61

**DANH MỤC CÁC HÌNH**

Sơ đồ nghiên cứu 43

Hình 3.1. Biểu diễn số cơn đau quặn của các lô nghiên cứu đo được ở mỗi khoảng thời gian 5 phút sau tiêm acid acetic 62

**ĐẶT VẤN ĐỀ**

Viêm và đau là hai triệu chứng thường cùng gặp trong nhiều bệnh như viêm khớp, viêm khớp dạng thấp...Viêm vừa là một phản ứng bảo vệ cơ thể chống lại yếu tố gây bệnh, vừa là phản ứng bệnh lý vì quá trình viêm gây ra tổn thương, hoại tử, rối loạn chức năng cơ quan...., có thể ở mức độ rất nặng nề nguy hiểm. Theo tổ chức y tế thế giới (WHO): Đau là một cảm giác khó chịu và một kinh nghiệm xúc cảm gây ra bởi tổn thương tế bào thực thể hoặc tiềm tàng. Đau là một cơ chế tự bảo vệ cơ thể, cảm giác đau xuất hiện tại một vị trí nào đó khi bị tổn thương, nó tạo nên một đáp ứng nhằm tránh lại tác nhân gây đau [1], [9].

Từ khi kháng sinh xuất hiện, kháng sinh giúp cho thầy thuốc xử trí hiệu quả các bệnh có viêm do nhiễm khuẩn. Còn các nguyên nhân gây viêm khác thì chủ yếu vẫn là điều trị triệu chứng viêm là chính. Bệnh nhân thường được chỉ định dùng các thuốc chống viêm, giảm đau steroid và không steroid, nhưng đặc biệt bị hạn chế do gây nhiều tác không mong muốn nguy hiểm [1], [9].

Nước ta có nguồn dược liệu phong phú và một nền y học cổ truyền lâu đời. Ngày nay, kết hợp giữa y học cổ truyền và y học hiện đại là phương châm của nền y học nước ta. Nhiều bài thuốc hay, vị thuốc quý có tác dụng tốt trên lâm sàng nhưng chưa được nghiên cứu sâu về thành phần hóa học, tác dụng dược lý, độc tính, khả năng dung nạp và cơ chế tác dụng.

Từ ngàn xưa cha ông ta đã biết sử dụng các cây thuốc nam để chữa bệnh với phương châm “Phù chính khu tà”, tức là dùng các vị thuốc, bài thuốc có tác dụng nâng cao sức đề kháng của con người, điều hòa rối loạn chức năng của tạng phủ giúp cơ thể đẩy lùi tác nhân gây bệnh. Liệu pháp dùng thuốc hiện nay vẫn có một vị trí quan trọng. Nhiều loại thuốc cũ đã được cải tiến, nhiệu loại thuốc mới đã được ra đời. Dựa vào các thành tựu của y học hiện đại, các nhà khoa học Việt Nam từng bước nghiên cứu nhằm làm sáng tỏ cơ chế tác dụng, dược động học, khả năng dung nạp thuốc để đạt tính an toàn, hiệu quả các vị thuốc và bài thuốc trong kho tàng qúy báu của y học cổ truyền như vai trò chống viêm, giảm đau của các vị thuốc y học cổ truyền.

Thực hiện phương châm kết hợp Yhọc hiện đại (YHHĐ) với Y học cổ truyền (YHCT), khai thác thế mạnh của YHCT, nghiên cứu bảo tồn, kế thừa các cây thuốc và bài thuốc dân tộc chúng tôi đã phát hiện “Bài thuốc Thiên cốt đan” của đồng bào dân tộc Dao đỏ (Ba Vì), (tên bài thuốc do tác giả tự đặt) sử dụng điều trị các bệnh liên quan tới xương khớp có hiệu quả trên thực tế lâm sàng tuy nhiên chưa được nghiên cứu và chứng minh một cách khoa học vì vậy chúng tôi thực hiện đề tài này: “**Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng chống viêm, giảm đau của cao lỏng Thiên cốt đan trên thực nghiệm**”

được tiến hành nhằm mục tiêu:

1. *Xác định độc tính cấp của cao lỏng Thiên cốt đan theo đường uống trên chuột nhắt trắng.*
2. *Nghiên cứu tác dụng chống viêm, giảm đau trên thực nghiệm của cao lỏng Thiên cốt đan.*

**CHƯƠNG I. TỔNG QUAN**

**1.1.TỔNG QUAN VỀ VIÊM VÀ ĐAU THEO Y HỌC HIỆN ĐẠI**

**1.1.1. Tổng quan về viêm**

**1.1.1.1.Khái niệm**

Viêm là một phản ứng của cơ thể tại mô liên kết - một mô có mặt ở mọi cơ quan - biểu hiện bằng sự thực bào tại chỗ, có tác dụng loại trừ tác nhân gây viêm và sửa chữa tổn thương; đồng thời kèm theo những biểu hiện bệnh lý. Khi động vật tiến hóa đến giai đoạn xuất hiện hệ tuần hoàn thì viêm bao giờ cũng kèm theo thay đổi mạch máu, với sự tham gia của thần kinh, nhằm đưa các tế bào thực bào (có mặt trong lòng mạch) tới vị trí diễn ra phản ứng viêm (ở ngoài lòng mạch).

Viêm vừa là một phản ứng bảo vệ cơ thể chống lại yếu tố gây bệnh, vừa là phản ứng bệnh lý vì quá trình viêm gây ra tổn thương, hoại tử, rối loạn chức năng cơ quan..., có thể ở mức độ nặng nề nguy hiểm [1], [9].

**1.1.1.2. Nguyên nhân gây viêm**

Có rất nhiều nguyên nhân gây viêm. Mọi nguyên nhân dẫn đến tổn thương và làm chết một lượng tối thiểu tế bào tại chỗ đều có thể gây viêm tại chỗ đó. Có thể xếp thành hai nhóm lớn [9].

\* Nguyên nhân bên ngoài:

- Cơ học: Từ sây sát nhẹ tới chấn thương nặng...

- Vật lý: Nhiệt độ quá cao hoặc quá thấp làm thoái hóa protid tế bào gây tổn thương enzym; các tia xạ vì tạo ra các gốc oxy tự do gây phá hủy một số enzym oxy hóa, còn gây tổn thương ADN.

- Hóa học: Các chất hóa học gây hủy hoại tế bào hoặc phong bế các hệ enzym chủ yếu.

- Sinh học: Là nguyên nhân phổ biến nhất gồm virut, vi khuẩn, nấm....

\* Nguyên nhân bên trong:

- Do hoại tử tổ chức, lấp quản, nhồi máu, chảy máu trong lan rộng…

- Lắng đọng các phức hợp miễn dịch (có hoạt hóa bổ thể) (phức hợp kháng nguyên - kháng thể) như viêm cầu thận, viêm trong hiện tượng Arthus [1], [9].

**1.1.1.3. Phân loại viêm**

Có nhiều cách phân loại, mỗi cách đưa lại một lợi ích riêng [9]:

*- Theo nguyên nhân:* Viêm nhiễm khuẩn và viêm vô khuẩn.

*- Theo vị trí:* Viêm nông, viêm sâu.

*- Theo dịch rỉ viêm:* Viêm thành dịch, viêm tơ huyết, viêm mủ...

*- Theo diễn biến:* Viêm cấp và viêm mạn.

+ Viêm cấp: Khi thời gian diễn biến ngắn (vài phút - vài ngày) và có đặc điểm tiết dịch chứa nhiều protein huyết tương và xuất ngoại nhiều bạch cầu đa nhân trung tính.

+ Viêm mạn, nếu diễn biến vài ngày - tháng hoặc năm và biểu hiện về mô học là sự xâm nhập của lympho - bào và đại thực bào, sự tổn thương và sửa chữa (với sự tăng sinh của mạch máu và mô xơ).

**1.1.1.4.** **Những thay đổi tại tổ chức viêm**

Những rối loạn chủ yếu của viêm bao gồm 3 loại hiện tượng đồng thời tồn tại và liên quan chặt chẽ với nhau: Tổn thương tổ chức và rối loạn chuyển hoá. Rối loạn tuần hoàn và vi tuần hoàn. Tăng sinh các tế bào tổ chức liên kết [1], [9].

***a. Tổn thương và rối loạn chuyển hóa tại tổ chức viêm.***

Tổn thương có thể xảy ra ngay lúc nhân tố bệnh lý tác động trên tổ chức (tổn thương nguyên phát), đồng thời có thể phát sinh muộn hơn do những rối loạn tuần hoàn tại tổ chức viêm và các yếu tố khác gây ra (tổn thương thứ phát). Cơ chế có thể do yếu tố bệnh lý tác dụng lên các thụ cảm thần kinh tại chỗ gây trạng thái cận sinh tạo điều kiện thuận lợi cho các biến đổi loạn dưỡng và hoại tử. Tổn thương ảnh hưởng trước nhất tới siêu cấu trúc tế bào, tới các ti lạp thể (mitochondrie) và lisosome. Tổn thương các ti lạp thể, đại diện chủ yếu của các men oxy hoá - khử của tổ chức do đó quá trình oxy hoá và khả năng hấp thụ oxy của tổ chức giảm, hệ số hô hấp cũng như hiệu thế oxy hoá khử trong tổ chức viêm giảm và hoạt tính các men chuyển hoá bị rối loạn. Hậu quả là chuyển hoá vật khí (gluxit, lipit, protit) bị rối loạn, không tận cùng bằng bài tiết CO2 và H2O mà dừng lại ở các sản phẩm trung gian và tạo thành một số lượng lớn các acid hữu cơ như acid lactit, acid pyruvic, acid anpha xetoglutaric, acid malic, polypeptit…

Tổn thương tổ chức và rối loạn chuyển hóa càng diễn biến mạnh khi tình trạng thiếu oxy, hậu quả của rối loạn tuần hoàn tại tổ chức viêm. Tổn thương các lisosome, tiêu vật của nguyên sinh chất tế bào gây giải phóng các men thuỷ phân (hydrolaza) của lisosome, các men cathepsin, men tiêu gluxit, lipit, protit…, các lisosome của các bạch cầu trung tính, các đại thực bào, các tế bào nhu mô của tổ chức viêm đều có thể bị tổn thương, và hâu quả của nó giữ một vai trò quan trọng trong bệnh sinh của viêm. Tổn thương tổ chức, tổn thương các ti lạp thể và lisosome của tế bào dẫn tới các hậu quả sau đây:

\**Thứ nhất là gây nhiễm toan*: Do rối loạn chuyển hoá vật chất, các sản phẩm toan tích luỹ tại tổ chức viêm tăng làm tăng nồng độ ion, chủ yếu là ion H+ và gây nhiễm toan. Mức độ của nhiễm toan phụ tuộc vào tính chất và cường độ của viêm. Ở trung tâm tổ chức viêm, nhiễm toan biểu hiện rõ nhất, nồng độ ion H+ có thể cao hơn bình thường tới 50 lần, càng xa trung tâm tổ chức viêm nhiễm toan càng giảm. Viêm càng nặng, nhiễm toan càng nghiêm trọng. Trong viêm cấp diễn, có khi pH giảm tới 6,5 - 5,5; trong viêm trường diễn thường nhiễm toan nhẹ hơn 7,1 - 6,6. Tình trạng nhiễm toan tùy theo mức độ có thể gây rối loạn tuần hoàn, gây dãn mạch, hạn chế hiện tượng tăng sinh các tế bào tổ chức liên kết…

\**Thứ hai là làm biến đổi áp lực thẩm thấu và áp lực keo tai tổ chức viêm:* Đồng thời với tăng nồng độ ion H+, nồng độ các ion khác như K+, Na+, Cl-, PO4-…, cũng tăng, đặc biệt ion K+ tăng cao nhất ở trung tâm ổ viêm, có thể tới 100 - 200 mg%. Nồng độ phân tử cũng tăng do tổ chức viêm tập trung nhiều sản phẩm trung gian của chuyển hoá và do quá trình dị hoá potit tăng cường, phân huỷ các phân tử lớn thành nhiều phẩn tử nhỏ, mặt khác do thành mạch bị tổn thương tăng tính thấm nên các protein huyết tương thoát vào trong tổ chức viêm. Tất cả những yếu tố này làm tăng áp lực thẩm thấu và áp lực keo trong tổ chức viêm, cũng mạnh và rõ nhất ở trung tâm và giảm dần ở ngoại viêm, cũng mạnh và rõ nhất ở vùng trung tâm và giảm dần ở ngoại vi tổ chức viêm. Tăng áp lực thẩm thấu và áp lực keo làm cho tổ chức viêm có tính chất giữ nước, và cùng với các yếu tố khác tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát sinh phủ viêm.

\**Thứ ba là tạo thành và giải phóng các sản phẩm có hoạt tính sinh học trong tổ chức viêm:* Một trong những phản ứng được nghiên cứu nhiều trong những năm gần đây là sự tạo thành và giải phóng các sản phẩm có hoạt tính sinh vật, các mediator nội sinh của viêm trong các tổ chức bị tổn thương như histamin, serotonin, các polypeptid hệ kinin, các axit nhân và dẫn xuất AMP, ATP [1], [9].

***b. Rối loạn tuần hoàn và vi tuần hoàn trong tổ chức viêm.***

Song song với tổn thương tổ chức và rối loạn chuyển hoá tại tổ chức viêm cũng thấy có rối loạn tuần hoàn bao gồm các hiện tượng: Rối loạn vận mạch; thoát dịch rỉ viêm; thoát bạch cầu và thực bào.

1. *Rối loạn vận mạch*: Phát sinh với hình thái 4 giai đoạn liên tiếp: Co chớp nhoáng các tiểu động mạch, xung huyết động mạch chủ động do các tiểu tĩnh mạch và ứ máu, tắc mạch. Co chớp nhoáng các tiểu động mạch phát sinh do các yếu tố gây viêm kích thích thần kinh co mạch và các tế bào cơ trơn tiểu động mạch tai tổ chức viêm. Hiện tượng này rất ngắn, khó quan sát vì tác dụng kích thích nguyên phát qua rất nhanh và các trung gian hoá học của phân bố thần kinh giao cảm, noradrenalin bị huỷ bởi monoaminooxydaza lúc đó tăng cao trong tổ chức viêm. Dẫn các tiểu động mạch và mao mạch, hay xung huyết động mạch, chủ động phát sinh theo cơ chế thần kinh thể dịch. Thần kinh dãn mạch bị kích thích theo phản xạ sợi trục, đồng thời chịu ảnh hưởng của các sản phẩm có hoạt tính sinh vật trong tổ chức viêm như histamin, serotorin, bradikinin…, giãn các tiểu tĩnh mạch và mao mạch tĩnh mạch, hay xung huyết tĩnh mạch thụ động tiếp theo đó tác dụng mạnh hơn của các nhân tố gây viêm. Cơ chế chủ yếu do tác dụng của các sản phẩm có hoạt tính sinh học được tạo thành một số lượng lớn, bị ứ lại trong tổ chức viêm gây hủy hoại các sợi tổ chức liên kết (sợi chun dãn, sợi kéo của thành tĩnh mạch làm cho chúng giãn ra, và dòng máu chảy chậm lại. Sự phát sinh và phát triển của hiện tượng này còn phụ thuộc vào nhiều yếu tố chi phối: Thần kinh - cơ của huyết quản bị tê liệt làm cho thành huyết quản mất trương lực. Độ nhớt của máu tăng do nước thấm qua thành mao mạch mỗi lúc một nhiều. Bạch cầu dạt vào thành huyết quản làm cho máu chảy châm lại đồng thời các huyết cầu và tế bào nội mô trương lên làm cho máu vân chuyển khó khăn. Nước tràn vào tổ chức khe kẽ gây phủ, chén ép vào thành mạch các tiểu tĩnh mạch cũng là trở ngại cơ giới đối với dòng máu. Tăng tính đông máu trong tổ chức viêm do hậu quả của tổn thương thành mạch gây ngưng tụ tiểu cầu và giải phóng các yếu tố đông máu (tromboplastin và các yếu tố khác). Tăng tính đông máu còn gây trở ngại lưu thông bạch mạch do tắc bởi những cục nhỏ fibrin bị huỷ hoại. Máu và tắc mạch: Các mạch máu dãn làm dòng máu chảy chậm dần rồi ứ lại. Trước khi ngừng tuần hoàn, ở các mạch máu tại tổ chức viêm thường phát sinh biến đổi hướng chảy qua dòng máu một cách độc đáo, đều đặn với nhịp co bóp của tim. Đó là những chuyển động lắc lư của máu: Trong thời kỳ tâm thu máu chuyển vận theo hướng của dòng máu lại chuyển ngược từ tĩnh mạch sang động mạch. Cơ chế là do trong thời kỳ tâm thu làn sóng mạch chảy qua các mao mạch bị dãn lại tạo thành mạch mao mạch, nhưng sau đó áp lực máu giảm sút nhanh đồng thời gặp trở ngại từ dòng máu tĩnh mạch nên máu bị dồn ngược lại. Sau một thời gian ngắn, máu ứ lại và gây tắc mạch, ảnh hưởng sâu sắc tới quá trình chuyển hoá và dinh dưỡng tại tổ chức viêm.

2*.Thoát dịch rỉ viêm*: Dịch rỉ viêm là các thành phần dịch thể và hữu hình của máu thoát khỏi mao mạch tràn vào tổ chức viêm. Tổ chức viêm bị tăng khối lượng do thoát dịch di, gọi là phù viêm. Dịch rỉ viêm có nhiều loại: Dịch di huyết thanh màu vàng nhạt trong suốt, gần giống như dich thấm, tuy nhiên dịch di khác với dịch thấm ở chỗ tỷ trọng dịch di cao hơn, nồng độ chất đạm cũng nhiều hơn. Dịch tơ huyết (fibrin) là do thoái hóa fibrinogen và chuyển thành dạng fibrin ngay tại tổ chức viêm, có thể gặp trong phế nang khi bị bệnh viêm phổi tiết tơ huyết, hoặc gặp trong ruột non khi bị bệnh lỵ. Dịch rỉ máu được tạo trong các quá trình viêm cấp nghiêm trọng trong các mụn mủ đậu mùa, trong các hiện tượng viêm dị ứng. Dịch di mủ màu vàng đục, có nhiều bạch cầu bị thoái hoá tạo thành các tiểu thể mủ, thường gặp trong các mụn mủ đầu mùa, trong các hiện tượng viêm dị ứng và thường gặp trong các trường hợp viêm nhiễm khuẩn. Thoát dịch di là một phản ứng phức tạp, chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố: Áp lực máu trong các mao mạch khu vực tĩnh mạch, khu vực tĩnh mạch của tổ chức viêm tăng tạo điều kiện cho chất dịch thoát khỏi mao mạch vào tổ chức viêm nhiều gấp bội bình thường. Tính thấm của mao mạch tăng, được coi là yếu tố quan trọng nhất. Tăng cường áp lực thuỷ tĩnh của máu trong các mao mạch tiểu tĩnh mạch của tổ chức viêm gây nên dãn các khe hở đó tới 80 - 1000 A, tạo điều kiện cho nước và các protit huyết tương thoát ra ngoài dễ dàng gây phù viêm. Tăng cường áp lực keo và áp lực thẩm thấu trong tổ chức viêm cũng tạo điều kiện giữ chất dịch trong tổ chức viêm. Trong cơ chế của tổ chức viêm, tăng tính thấm qua mao mạch do ảnh hưởng của các sản phẩm có hoạt tính sinh vật như histamin, serotomin và các polypeptid hệ kinin giữ một vai trò quan trọng. Trong dịch di fibrin, nồng độ fibrinogen rất cao, trong khi đó anbumin, glubulin lại ở mức rất thấp mặc dù ta đã biết phân tử fibrinogen lớn hơn các phân tử anbumin rõ rệt và nếu coi thành nội mạc như một cái lọc đơn giản thì khi fibrinogen qua được tất nhiên các chất đạm phân tử kích thước nhỏ hơn cũng qua được dễ dàng. Như vậy trong cơ chế thoát các thành phần đạm qua dịch di còn phải kể đến quá trình siêu hấp thụ các chất đạm của bạch mạch, sự hấp thụ nhiều anbumin qua các bạch mạch có thể tạo điều kiện làm tăng cường nồng độ globulin hoặc fibrinogen trong dịch di và trong các giai đoạn muộn của viêm nặng, các bạch mạch thường bị phong bế bởi các tủa, các chất lắng đọng của fibrin, globulin, các kết vón tế bào Lympho. Phù viêm ở mức độ nhất định có ý nghĩa thích ứng bảo vệ: Các chất đạm trong dịch phù kết hợp với các sản phẩm độc trong viêm, để trung hoà chất độc của tổ chức thoái biến, bạch cầu làm nhiệm vụ thực bào, fibrinogen tạo thành một hàng rào ngăn chặn không cho vi khuẩn và độc tố lan rộng…, tuy nhiên nếu dịch di quá nhiều có thể chèn ép cã tổ chức xung quanh, hạn chế hoạt động cơ quan (tràn dịch màng phổi, màng tim…) gây nhiều hậu quả tai hại.

3.*Thoát bạch cầu và hiện tượng thực bào*: Đồng thời với hiện tượng thoát di dịch, bạch cầu dạt vào thành mạch rồi vận động theo kiểu amíp lách qua thành mạch tiến tới tổ chức viêm làm nhiệm vụ thực bào. Thoát bạch cầu vào tổ chức chứa viêm bắt đầu giai đoạn xung huyết động mạch, đạt tới mức tối đa trong giai đoạn xung huyết tĩnh mạch và ứ máu. Thoát bạch cầu có thể chia là 3 giai đoạn: Bạch cầu dạt vào bờ viêm ở mặt trong nội mạc các mao mạch tổ chức viêm. Trong điều kiện bình thường, bề mặt nội mô che phủ một màng mỏng “Ximăng fibrin” ở sát với lớp không di động của huyết tương nên các bạch cầu không tiếp xúc với màng này. Khi tổn thương mao mạch, các bạch cầu trung tính theo dòng máu chảy chậm lại, dạt vào bờ, tiếp xúc với mảng “Ximăng fibrin”, vượt qua lớp huyết tương tiến đến khe hở giữa các tế bào nội mạc huyết quản. Thoát bạch cầu qua khe hở bằng hoạt động amíp, xuyên qua màng ngoài ra khỏi tổ chức viêm. Hai hoạt động trên tiến hành trong thời gian từ vài phút đến nửa giờ. Vận động của các bạch cầu trong tổ chức viêm kéo dài trong nhiều giờ, có thể tới 24 giờ, được giải thích theo cơ chế “Hấp dẫn hoá học” (chimiotaxis), tức là các bạch cầu bị thu hút vận động tới tổ chức viêm bị hấp dẫn bởi các chất hoá học, thành phần của những chất đó được hình thành trong tổ chức viêm. Theo Metnhicop, hấp dẫn hoá học là sự hưng phấn của nguyên sinh chất tế bào bởi một chất có trong tổ chức viêm, hưng phấn lan rộng ra khắp tế bào gây phản ứng vận động, hướng tế bào tới nơi có nhiều chất đó. Vi sinh vật, đặc biệt là liên cầu và tụ cầu khuẩn có tác dụng “Hấp thụ hoá học dương tính” mạnh nhất, tác dụng này là do những sản vật phân giải, độc tố của sinh vật. Các sản phẩm của rối loạn chuyển hoá và phân giải tổ chức như histamin, polypeptit, axit nhân và dẫn xuất đều có tác dụng “Hấp dẫn hoá học dương tính”. Ngược lại, một số chất có tác dụng hấp dẫn hóa học âm tính như quinin, chloroforme, benzol…

Hiện tượng thoát bạch cầu đơn nhân khác hẳn với thoát bạch cầu trung tính. Quá trình này chậm hơn thoát bạch cầu trung tính qua các khe hở giữa các tế bào nội mạc nên bạch cầu đơn nhân xuất hiện trong tổ chức viêm chậm hơn. Các bạch cầu tới tổ chức viêm làm nhiện vụ thực bào, gồm các bạch cầu trung tính và các bạch cầu đơn nhân to (monpcyte). Bạch cầu trung tính còn được gọi là “Tiêu thực bào” đối với các dị vật nó như vi khuẩn còn “Đại thực bào” là các bạch cầu đơn nhân to và cả các tế bào tổ chức liên kết cố định trong điều kiện cần thiết có thể trở thành lưu động, làm nhiệm vụ “Ăn” những vật lớn, các mảnh tế bào tổ chức bị huỷ hoại. Trong viêm số lượng các bạch cầu và hoạt tính thực bào của bạch cầu đều tăng cao có tính chất thích ứng phòng ngự, Hoạt động thực bào của bạch cầu còn chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố:

Ảnh hưởng của môi trường: Nhiệt độ thích hợp nhất đối với vận động và khả năng thực bào của bạch cầu là 36 - 38oC. Protit huyết tương, các globulin và fibrinogen có tác dụng kích thích thực bào mạnh cho nên giảm protit huyết tương ảnh hưởng rõ rệt tới khả năng thực bào của bạch cầu. pH của môi trường trung tính tạo điều kiện thuận lợi cho hiện tượng thực bào ngược lại nhiễm toan thực bào bị hạn chế. Bạch cầu trung tính trong viêm mủ cấp diễn với pH 6,6 đã bị chết co chịu đựng kém còn bạch cầu đơn nhân chịu đựng khá hơn và tiếp tục hoạt động được ở môi trường pH 5,5. Môi trường nhược hoặc ưu trương mạnh, hoạt động thực bào của bạch cầu cũng bị hạn chế, và có thể bị đình chỉ.

Ảnh hưởng của thần kinh - nội tiết: Xúc cảm dương tinh, dùng cafein có tác dụng làm tăng cường khả năng thực bào của bạch cầu, ngược lại xúc cảm âm tính và dùng các thuốc ức chế thần kinh, thuốc ngủ (urethan, barbamil…) khả năng thực bào của bạch cầu bị giảm rõ rệt. Kích thích thần kinh giao cảm làm tăng khả năng thực bào và kích thích thần kinh phó giao cảm, làm tăng khả năng thực bào của bạch cầu. Hormon các tuyến sinh dục, tuyến ức, đặc biệt tuyến giáp cũng có tác dụng kích thích thực bào. Trong thực nghiệm nếu cắt bỏ những tuyến này hoạt động thực bào giảm rõ rệt.

***c. Tăng sinh các tế bào tổ chức liên kết***

Hiện tượng tế bào tăng sinh diễn biến đồng thời với tổn thương tổ chức và rối loạn tuần hoàn, do tác dụng kích thích của một số sản phẩm phân giải tổ chức và phân giải chuyển hoá bị rối loạn, ngoài ra bạch cầu chết ở tổ chức viêm cũng giải phóng các chất có tác dụng kích thích tế bào tăng sinh. Giai đoạn đầu, hiện tượng tăng sinh chủ yếu thấy ở các tế bào nội mô và lớp ngoài của huyết quản, các bạch cầu phát triển để chống đỡ kịp thời với nguyên nhân gây viêm. Mặt khác ở trung tâm tổ chức viêm phản ứng toan mạch, tình trạng thiếu oxy nghiêm trọng nên hiện tượng tăng sinh không thể tiến hành được. Hiện tượng tế bào tăng sinh còn phụ thuộc vào loại viêm và tổ chức tế bào bị huỷ hoại nhiều hay ít. Điển hình nhất là viêm mủ, khi ổ mủ vỡ, mủ thoát ra để lại một hốc “Thiếu tổ chức”, hốc này sẽ dần dày lên do tăng sinh các tế bào liên kết tại chỗ, các histiocyte rồi tế bào xơ non fibroblaste. Các đại thực bào thâu tính, tiêu hoá, làm sạch các sản phẩm thoái biến trong tổ chức viêm còn sót lại bằng con đường tiêu hoá bên trong tế bào. Đồng thời các tế bào xơ non phát triển mạnh từ ngoại vi tiến đàn vào trung tâm tổ chức viêm thay thế các tổ chức hoại tử đồng thời tạo một hàng rào có tác dụng bảo vệ ngăn cản không cho độc tố và chất độc lan rộng. Nếu các tế bào tổ chức ở tổ chức viêm bị huỷ hoại không nhiều lắm và có khả năng tái sinh tốt thì tổn thương có thể lành, tổ chức hoàn toàn hồi phục về mặt cấu tạo và chức phận. Các rối loạn chủ yếu trong viêm thường không diễn biến riêng biệt mà phát sinh đồng thời và có liên quan chặt chẽ với nhau tạo thành một chuỗi phản ứng phức tạp [2], [9].

**1.1.1.5 *.* Một số thuốc chống viêm**

***a. Thuốc kháng viêm glucocorticoid***

*\*Glucocorticoid tự nhiên:*

Hydrocortison (Cortisol) và Cortison là các Glucocorticoid tự nhiên được tiết ra từ vỏ thượng thận theo cơ chế phản hồi âm tính. Tuy nhiên do hoạt tính kháng viêm thấp và độc tính (giữ muối) còn cao nên các Glucocorticoid tổng hợp ra đời.

*\*Glucocorticoid tổng hợp*

- Tác động: Hai cơ chế kháng viêm chính của nhóm này là

• Giảm lượng bạch cầu và đại thực bào ở ổ viêm, ngăn những tế bào này tiết ra các chất trung gian hóa học làm tăng tính thấm thành mạch, dãn mạch gây đỏ, nóng, sưng, đau.

• Ức chế enzym phospholipase A2, ngăn tạo thành các yếu tố gây viêm như prostaglandin, leucotrien, thromboxan.

- Tác dụng phụ:

• Tác dụng của mineralcorticoid nên có khuynh hướng giữ Na, giữ nước gây phù.

• Tác dụng tân tạo đường có thể gây tăng đường huyết.

• Tác dụng thủy giải mỡ, tích trữ lipid dưới da cổ, mặt “Moonface”

• Làm xáo trộn chuyển hóa Ca: Giảm hấp thu ở ruột và giảm tái hấp thu, tăng bài thải qua thận, dùng lâu dài sẽ gây loãng xương.

• Giảm hoạt động của các mô lympho và hoạt động sản xuất kháng thể, suy yếu hệ miễn dịch [4], [5], [31].

*\*Một số thuốc trong nhóm:* Hydocortison, Prednisolon, Methylprednisolon, Dexamethason …

***b. Thuốc chống viêm không steroid (NSAID)***

Các thuốc chống viêm không steroid đều có tác dụng chống viêm, hạ sốt, giảm đau. Thuốc ức chế cyclo - oxygenase nên ức chế tổng hợp prostaglandin và thromboxan. Có hai dạng cyclo - oxygennase, COX - 1 cần thiết để tổng hợp prostaglandin (bảo vệ niêm mạc dạ dày) và thromboxan cần thiết cho tiểu cầu kết dính, và COX - 2 tham gia tạo ra prostaglandin khi có viêm [4], [31].

Các thuốc chống viêm không chọn lọc ức chế cả hai loại COX - 1 và COX-2, bao gồm Ibuprofen, Indometacin, Naproxen, Piroxicam, Diclofenac, Ketoprofen. Các thuốc NSAID ức chế ưu tiên và chọn lọc COX - 2 gồm có Ketorolac, Parecoxib, Celecoxib, Meloxicam, Rofecoxib…, tác dụng chống viêm tuy không khác nhau lớn giữa các thuốc đó, nhưng đáp ứng và dung nạp với thuốc biến đổi nhiều tuỳ theo từng người bệnh. Khoảng 60% người bệnh đáp ứng bất cứ một thuốc NSAID nào, còn lại có thể không đáp ứng với một thuốc này nhưng lại đáp ứng với một thuốc kia.

Sự khác nhau giữa các thuốc NSAID chủ yếu là tỷ lệ và các biểu hiện của tác dụng không mong muốn. Các thuốc có tính chọn lọc ít gây các tác dụng phụ, còn tác dụng chống viêm, giảm đau giống như các thuốc không chọn lọc cũ. Do đó các chống chỉ định và thận trọng khi dùng thường cùng giống nhau [5], [31].

Ngoài ra các thuốc ức chế chọn lọc không có tác dụng ức chế tiểu cầu kết dính, còn các thuốc ức chế không chọn lọc có tác dụng ức chế kết dính tiểu cầu nhưng có thể hồi phục được, trái với acid acetylsalicylic. Ibuprofen ít gây tai biến nhưng tác dụng yếu hơn các thuốc khác, được dùng trong viêm khớp dạng thấp. Diclofenac và Naproxen tác dụng giống nhau và mạnh hơn nhưng lại nhiều tác dụng phụ hơn Ibuprofen. Indometacin có tác dụng giảm đau kháng viêm bằng hoặc mạnh hơn Diclofenac, Naproxen nhưng tỷ lệ tác dụng phụ cao hơn. Piroxicam tác dụng giảm đau kháng viêm tương đương Naproxen, Diclofenac nhưng kéo dài hơn (uống 1 lần mỗi ngày) và tỷ lệ tác dụng phụ cao hơn, đặc biệt đối với người cao tuổi. Ketoprofen tác dụng giảm đau kháng viêm không hơn Ibuprofen nhưng tác dụng phụ nhiều hơn. Có nhiều tác dụng không mong muốn khi sử dụng thuốc NSAIDs, trong đó cần lưu ý biến chứng trên hệ tim mạch và biến chứng trên đường tiêu hóa [31].

**1.1.2. Tổng quan về đau**

**1.1.2.1.Khái niệm**

Theo tổ chức y tế thế giới (WHO) đau là một cảm giác khó chịu và một kinh nghiệm xúc cảm gây ra bởi tổn thương tế bào thực thể hoặc tiềm tàng. Đau là một cơ chế tự bảo vệ cơ thể, cảm giác đau xuất hiện tại một vị trí nào đó khi bị tổn thương, nó tạo lên một đáp ứng nhằm tránh tác nhân gây đau [3].

Cảm giác đau là một cảm giác đặc biệt, khác với cảm giác khác. Cảm giác này thông báo cho não biết kích thích có hại cho cơ thể và cần có các cơ chế sinh lý và tâm lý để loại trừ kích thích đó [3], [9].

**1.1.2.2. Phân loại cảm giác đau**

***a. Phân loại đau theo cơ chế***

Gồm: - Đau do cảm thụ thần kinh (nociceptive pain).

- Đau do nguyên nhân thần kinh (neuropathic pain).

- Đau do căn nguyên tâm lý (psychogenic pain).

\* Đau do cảm thụ thần kinh (nociceptive pain): Là đau do thái quá về sự kích thích nhận cảm đau tổn thương mà bắt đầu từ các thụ cảm thể nhận cảm đau tổn thương rồi dẫn truyền hướng tâm về thần kinh trung ương; là cơ chế thường gặp nhất trong phần lớn các chứng đau cấp tính (chấn thương, nhiễm trùng, thoái hóa...).

\* Đau do nguyên nhân thần kinh (neuropathic pain): Một số trường hợp đau thần kinh do bị chèn ép thân, rễ hay đám rối thần kinh (như đau thần kinh tọa do thoát vị đĩa đệm, hội chứng ống, u bướu...). Các trường hợp này thực chất là đau có nguyên nhân thực thể (đau tổn thương). Ngoài ra, trong lâm sàng còn thường gặp chứng đau hỗn hợp (mixed pain) bao gồm cả cơ chế đau nhận cảm và đau thần kinh.

\* Đau do căn nguyên tâm lý (psychogenic pain): Đau do căn nguyên tâm lý có đặc điểm: Là những cảm giác bản thể hay nội tạng, ám ảnh nhiều hơn là đau thực thụ, với sự mô tả phong phú, không rõ ràng hoặc luôn thay đổi và thường lan tỏa, triệu chứng học không điển hình. Thường gặp trong các trường hợp như: Bệnh hysteri, bệnh rối loạn cảm xúc (trầm cảm), tự kỷ ám thị về bệnh tật, bệnh tâm thần phân liệt...[3], [9].

***b. Phân loại đau theo thời gian và tính chất***

- Gồm có cấp tính và mãn tính

\* Đau cấp tính:

- Đau cấp tính (acute pain) là đau mới xuất hiện, có cường độ mạnh mẽ, có thể được coi là một dấu hiệu báo động hữu ích.

- Đau cấp tính bao gồm: Đau sau phẫu thuật, đau sau chấn thương, đau sau bỏng, đau sản khoa.

\* Đau mạn tính:

- Đau mạn tính (chronic pain) là chứng đau dai dẳng tái đi tái lại nhiều lần. Nó làm cho cơ thể bị phá hủy về thể lực và cả về tâm lý và xã hội.

- Đau mạn tính bao gồm: Đau lưng và cổ, đau cơ, đau sẹo, đau mặt, đau khung chậu mạn tính, đau do nguyên nhân thần kinh.

- Theo quy ước cổ điển, người ta ấn định giới hạn phân cách đau cấp và mạn tính là giữa 3 và 6 tháng.

***c. Phân loại đau dựa theo cảm nhận***

- Đau nhói (pricking pain), đau rát (burning), đau nội tạng (aching - đau quằn quại)

\* Đau nhói: Là cảm giác đau khi có kim châm vào da hoặc như bị dao cắt vào da. Cảm giác này xuất hiện khi một vùng da rộng bị kích thích tấy mạnh.

\* Đau rát: Là cảm giác đau khi bị da bị bỏng cháy, gây ra cảm giác đau đớn và hành hạ bệnh nhân.

\* Đau quằn quại - đau vật vã: Đây không phải là cảm giác đau trên bề mặt cơ thể mà là cảm giác đau sâu bên trong cơ thể gây khó chịu cho bệnh nhân. Một cảm giác đau nội tạng nhẹ nhưng tích hợp lại từ một vùng rộng cũng gây ra một cảm giác rất khó chịu cho bệnh nhân [1], [3].

**1.1.2.3.** **Ngưỡng đau**

- Cường độ kích thích nhỏ nhất có thể gây ra được cảm giác đau được gọi là ngưỡng đau. Cường độ kích thích mạnh sẽ gây ra cảm giác đau sau một thời gian ngắn (1 giây), nhưng cường độ kích thích nhẹ đòi hỏi thời gian dài hơn (vài giây) mới gây được cảm giác đau.

- Cường độ kích thích gây ra được cảm giác đau có thể đo được bằng nhiều cách nhưng phương pháp thường dùng là dung kim châm vào da với áp lực nhất định (đo được áp suất) hoặc dùng nhiệt tác động vào da (đo được nhiệt độ).

- Bằng cách dùng cường độ kích thích khác nhau nhận thấy ở một người bình thường có thể có tới 22 mức nhận biết khác nhau về độ đau (đi từ mức không đau đến mức đau nhất).

- Ít có sự khác nhau giữa các cá thể về ngưỡng đau nhưng ngược lại phản ứng với cảm giác đau lại rất khác nhau giữa các cá thể và các chủng tộc, nhờ ngưỡng đau để người ta đưa ra các thước đo về đau khi tiến hành nghiên cứu [3], [9].

**1.1.2.4.** **Bộ phận nhận cảm giác đau**

***a. Vị trí***

Có nhiều trên bề mặt da và các mô như màng xương, thành động mạch, bề mặt khớp, lều não, khung vòm sọ. Hầu hết các mô của các tạng trong cơ thể có ít bộ phận nhận cảm giác đau, tuy nhiên nếu những mô này có tổn thương rộng, các kích thích được tập hợp lại gây cảm giác đau nội tạng.

***b. Các loại bộ phận nhận cảm giác đau***

- Bao gồm các loại thụ cảm thể nhận cảm đau sau:

+ Các thụ cảm thể nhận kích thích cơ học.

+ Các thụ cảm thể nhận kích thích hóa học.

+ Các thụ cảm thể nhận kích thích nhiệt.

+ Các thụ cảm thể nhận kích thích áp lực.

- Một số bộ phận nhận cảm chỉ chịu kích thích của các tác nhân cơ học đó là các bộ phận cảm giác đau nhạy cảm với kích thích cơ học.

- Một số khác lại chỉ nhạy cảm với những tác nhân kích thích như nóng, lạnh đó là các bộ phận nhận cảm giác đau nhạy cảm với kích thích nhiệt.

- Một số khác nữa chỉ nhạy cảm với các tác nhân hóa học đó là các bộ phận nhận cảm hóa học. Những chất thường tác động vào các bộ phận nhận cảm hóa học của cảm giác đau là bradykinin, serotonin, histamine, các men phân giải protein.

- Mặc dù có một số bộ phận nhận cảm giác đau chỉ nhạy cảm với một loại tác nhân nhưng nhìn chung hầu hết các bộ phận nhận cảm này thường nhạy cảm với trên một loại tác nhân kích thích [3], [9].

**1.1.2.5. Đáp ứng với cảm giác đau của cơ thể**

Tín hiệu đau được truyền đến tủy sống, đồi thị và các trung tâm dưới vỏ khác, đến vỏ não gây ra một số phản ứng như phản ứng vận động, phản ứng tâm lý và kích thích hệ thống giảm đau của cơ thể hoạt động.

***a. Phản ứng vận động***

Tín hiệu đau được truyền đến tủy sống gây phản xạ “Rút lại” để làm cho cơ thể hoặc một phần cơ thể thoát khỏi tác nhân kích thích gây đau. Những phản xạ tủy có tính bản năng này rất quan trọng đối với động vật cấp thấp nhưng trên người thường bị kìm nén lại nhờ hoạt động của hệ thần kinh cấp cao.

1. ***Phản ứng tâm lý***

Bao gồm tất cả các phản ứng có liên quan đến cảm giác đau như cảm giác lo lắng, đau khổ, kêu la, chán nản, buồn nôn và tình trạng hưng phấn quá mức của hệ thống cơ thể. Những phản ứng này rất khác nhau giữa các cá thể.

1. ***Hệ thống giảm đau trong não và tủy sống***

- Kích thích điện vào nhiều vùng của não và tủy sống có thể làm giảm mạnh hoặc hầu như ức chế hoàn toàn đường dẫn truyền cảm giác đau trong tủy sống, nhận thấy những vùng quan trọng nhất có khả năng làm mất cảm giác đau là vùng quanh não thất III, chất xám quanh cống, thân não, thể Raphe của thân não và bó não trước giữa. Hệ thống giảm đau có thể ngăn chặn sự dẫn truyền tín hiệu đau ngay từ nơi tín hiệu vừa được truyền đến tủy sống.

- Các chất sinh học tham gia trong hệ thống giảm đau: Hơn hai mươi năm trước đây người ta đã thí nghiệm tiêm Morphin vào vùng quanh não thất ngay gần não thất III thuộc não trung gian và thấy có tác dụng giảm đau rất mạnh. Sau đó người ta đã xác định được tại các vùng của não có các receptor. Những nghiên cứu tiếp theo cho thấy Morphin có tác dụng ở nhiều chặn của hệ thống giảm đau như thể Raphe, sừng sau tủy sống. Hầu hết các thuốc tác động ở các receptor tại synap nên người ta cho rằng các receptor tiếp nhận Morphin chính là các receptor tiếp nhận các chất truyền đạt thần kinh, các chất truyền đạt thần kinh quan trọng nhất đó là: β-endorphin, met - enkephalin, leu - enkephalin và dynorphin [1], [3].

**1.1.2.6. Một số thuốc giảm đau**

Thuốc giảm đau được chia làm 3 loại:

- Thuốc giảm đau loại Morphin.

- Thuốc giảm đau không phải loại Morphin: Paracetamol và thuốc chống viêm không steroid.

- Thuốc giảm đau hỗ trợ: Là những thuốc có tác dụng làm tăng hiệu quả giảm đau hoặc giảm nhẹ tác dụng không mong muốn của các thuốc trên [4], [31].

***a. Thuốc giảm đau loại morphin***

Là thuốc giảm đau trung ương, gây nghiện.

Nhóm thuốc này bao gồm:

- Opiat: Là các dẫn xuất của thuốc phiện (opium), có tính chất giống như morphin.

- Opioid: Là các chất tổng hợp, bán tổng hợp, có tác dụng giống Morphin hoặc gắn được vào các receptor của Morphin.

*\* Receptor của Morphin (và các opioid):* Receptor đặc hiệu của morphin được tìm thấy từ cuối 1973, có 3 loại chính (𝜇, k, δ) và mỗi loại lại có các phân loại nhỏ. Gần đây, một receptor mới được phát hiện, có tên là N/OFQ receptor. Các receptor này có rất nhiều ở sừng sau tuỷ sống của động vật có xương sống, ở nhiều vùng trong thần kinh trung ương: Đồi thị, chất xám quanh cầu não, não giữa. Các receptor của Morphin còn tìm thấy ở trong vùng chi phối hành vi (hạnh nhân, hồi hải mã, nhân lục, vỏ não), vùng điều hòa hệ thần kinh thực vật (hành não) và chức phận nội tiết (lồi giữa). Ở ngoại biên, các receptor có ở tuỷ thượng thận, tuyến ngoại tiết dạ dày, đám rối thần kinh tạng. Về mặt điều trị, mỗi receptor được coi như có chức phận riêng [5], [31].

Receptor muy (𝜇): Khi kích thích gây tác dụng giảm đau, ức chế hô hấp, co đồng tử, giảm co bóp cơ trơn dạ dày, ruột và gây sảng khoái.

Receptor kappa (k): Khi kích thích gây tác dụng giảm đau, suy hô hấp, co đồng tử và an thần.

Receptor delta (δ): Chưa được nghiên cứu đầy đủ trên người, nhưng trên động vật khi kích thích cũng gây tác dụng giảm đau.

Morphin là thuốc giảm đau mạnh do làm tăng ngưỡng nhận cảm giác đau, thuốc còn làm giảm các đáp ứng phản xạ với đau. Tác dụng giảm đau của Morphin là do thuốc kích thích trên receptor muy và kappa. Morphin ức chế tất cả các điểm chốt trên đường dẫn truyền cảm giác đau của hệ thần kinh trung ương như tuỷ sống, hành tuỷ, đồi thị và vỏ não. Như vậy, vị trí tác dụng của Morphin và các opioid chủ yếu nằm trong hệ thần kinh trung ương. Khi dùng Morphin, các trung tâm ở vỏ não vẫn hoạt động bình thường, nhưng cảm giác đau đã mất, chứng tỏ tác dụng giảm đau của morphin là chọn lọc. Khác với thuốc ngủ, khi tất cả các trung tâm ở vỏ não bị ức chế, bệnh nhân mới hết đau.

Một số thuốc khác thuộc nhóm này:

- Các opioid thường dùng: Pethidin, Methadon, Fentanyl, Propoxyphen.

- Các opioid có tác dụng hỗn hợp: Vừa hiệp đồng - vừa đối lập, hoặc hiệp đồng một phần (Agonist - antagonist; partial agonist): Có nhiều thuốc gắn trên receptor muy, tranh chấp với Morphin và các opioid khác nhưng không gây tác dụng gì, được gọi là thuốc đối lập tranh chấp ngược lại, một số thuốc sau khi tranh chấp được receptor còn có thể gây ra một số tác dụng dược lý, hoặc trên receptor muy, hoặc trên các receptor khác như delta và kappa. Các thuốc đó được gọi là thuốc có tác dụng hỗn hợp hoặc hiệp đồng một phần [5], [31].***b. Thuốc giảm đau loại không phải morphin:*** Paracetamol và thuốc chống viêm không steroid. (xem 1.1.1.5 .mục b).

***c. Thuốc giảm đau hỗ trợ***

Thuốc giảm đau hỗ trợ có tác dụng hiệp đồng, làm tăng tác dụng giảm đau của các opioid và thuốc giảm đau chống viêm không steroid. Các thuốc này đặc biệt hiệu quả đối với đau do nguyên nhân thần kinh. Gồm:

*\*Thuốc chống trầm cảm*

Tác dụng giảm đau không phụ thuộc vào tác dụng chống trầm cảm. Thường dùng trong các trường hợp đau kéo dài, có liên quan đến bệnh lý thần kinh.

Nhóm thuốc có tác dụng tốt nhất là thuốc chống trầm cảm loại ba vòng.

*\* Thuốc chống động kinh*

Để giảm đau trong bệnh thần kinh do đái tháo đường, đau sau zona, đau dây thần kinh, dự phòng cơn đau nửa đầu (migraine) có thể dùng các thuốc: Phenytoin, Carbamazepin và Valproat [5], [31].

**1.2. TỔNG QUAN VIÊM VÀ ĐAU THEO Y HỌC CỔ TRUYỀN**

**1.2.1. Sơ lược quan niệm viêm và đau theo y học cổ truyền**

Viêm không phải là một bệnh cụ thể mà là một quá trình bệnh lý chung. Viêm không có tên trong y văn của YHCT; nhưng viêm có biểu hiện sưng nóng đỏ nếu thuộc nhiệt (dương chứng), còn sưng không nóng đỏ thì thuộc về hàn (âm chứng), có thể do nguyên nhân nội nhân hoặc ngoại nhân.

Đau thường với viêm theo y học cổ truyền đau có nghĩa là “Thống”, trong y học cổ truyền là do “Bất thông” của khí huyết trong kinh mạch; muốn chữa được chứng đau (chỉ thống) thì phải làm cho khí huyết lưu thông, còn muốn huyết thông (hành huyết) thì phải hành khí (khí hành thì huyết hành, khí không hành thì huyết tắc, huyết tắc thì gây đau) bất vinh ắt thống, bất thông ắt thống thống tức bất thông, thông tức bất thống. Chính vì vậy khi “Chữa thống” bằng y học cổ truyền thường dùng kèm thuốc hành khí, hành huyết và phương pháp không dùng thuốc khác như châm cứu, xoa bóp bấm huyệt, khí công chủ yếu làm thông kinh lạc, điều hòa âm dương, khí huyết [25], [26], [27].

Đau và viêm là triệu chứng gặp trong nhiều bệnh lý viêm khớp, viêm khớp dạng thấp, gout. Y học cổ truyền xếp bệnh lý về khớp thuộc chứng tý và gout thuộc chứng thống phong.

**1.2.2.Các thể lâm sàng và điều trị**

Trong các y văn trước đây đều phân loại chứng Tý thành 2 thể lớn là Phong hàn thấp tý (gồm Phong tý, Hàn tý, Thấp tý) và Phong thấp nhiệt tý. Tuy nhiên, sự phân loại này không phản ánh được toàn bộ các chứng trạng của bệnh VKDT.

Theo Trung Y Nội khoa, chứng Tý được phân thành 10 thể gồm: Phong thấp tý, Hàn thấp tý, Hàn nhiệt thác tạp tý, Thấp nhiệt tý, Nhiệt độc tý, Huyết ứ tý, Đàm trọc tý, Đàm ứ tý, Khí âm lưỡng hư tý, Can thận lưỡng hư tý [26], [27]. Mỗi thể đều có triệu chứng lâm sàng, phương pháp điều trị và phương thuốc đặc trưng cho từng thể (trình bày tại phụ lục 2).

**1.3. TỔNG QUAN VỀ BÀI THUỐC NGHIÊN CỨU “THIÊN CỐT ĐAN”**

**1.3.1. Đặc điểm của bài thuốc**

***1.3.1.1. Nguồn gốc xuất xứ***

Bài thuốc nghiên cứu Thiên cốt đan (tên bài thuốc do tác giả tự đặt) là một bài thuốc Nam kinh nghiệm của dân tộc Dao đỏ. Bài thuốc bước đầu áp dụng trong điều trị tại khoa y học cổ truyền Bệnh viện đa khoa huyện Phú Xuyên, dùng cho điều trị viêm khớp dạng thấp, sắc uống mỗi ngày một thang.

***1.3.1.2. Thành phần bài thuốc***

Bài thuốc Thiên cốt đan gồm các vị thuốc:

Dóng xanh *(Justicia ventricosa)* 30gam

Hy thiêm (*Siegesbeckia orientalis)* 20gam

Thổ phục linh (*Smilax glabra)* 20gam

Ngưu tất (*Achyranthes bidentata)* 16gam (thay Cỏ xước bài thuốc gốc)

Dây đau xương (*Tinospora sinensis)* 12gam

***1.3.1.3. Công dụng***

- Hoạt huyết, khu phong trừ thấp.

- Chủ trị viêm khớp dạng thấp, viêm khớp cấp, viêm khớp mạn...

**1.3.2. Phân tích bài thuốc**

Trong bài này Dóng xanh có tác dụng hoạt huyết, khứ ứ, trừ phong thấp; Thổ phục linh có tác dụng trừ phong thấp, giải độc; Hy thiêm có tác dụng bổ huyết, hoạt huyết, trừ thấp, giảm đau; Ngưu tất có tác dụng hoạt huyết, hành ứ, bổ can thận, mạnh gân cốt đuổi tà phù chính; Dây đau xương tác dụng khu phong trừ thấp, thư cân hoạt lạc. Cả bài thuốc gộp lại có công hiệu hoạt huyết, khu phong trừ thấp.

***1.3.2.1. Dóng xanh***

*Tên khoa học****:****Justicia ventricosa*Wall. Thuộc họ Ô rô (Acanthaceae)

*Tên tiếng Việt:* Xuân tiết bụng; Dóng xanh; Thường sơn trắng; Thanh táo tuy.

*Mô tả:* Cây nhỏ có thể cao tới 2 - 3m; nhánh phình mạnh ở các đốt. Lá có cuống thon hay thuôn, thon hẹp ở gốc và nhọn ngắn lại ở đầu, dài 7 - 20cm, rộng 3 - 8cm. Hoa trắng rồi vàng lục, chấm những điểm màu đỏ, xếp 4 dãy thành bông ở ngọn các nhánh. Quả nang cao 17mm.

Ra hoa kết quả vào mùa xuân hè.

*Bộ phận dùng*: Toàn thân và lá(*Herba et Folium Justiuciae Ventricosae*)

*Nơi sống và thu hái:* Cây mọc rải rác ở chỗ ẩm, gần suối trong rừng khắp nước ta từ Cao Bằng, Bắc Thái, Ninh Bình, Quảng Trị cho tới Sông Bé. Còn phân bố ở các nước nhiệt đới Viễn đông. Cũng thường được trồng làm cây cảnh và làm thuốc. Thu hái lá và toàn cây quanh năm, dùng tươi hoặc rửa sạch, thái nhỏ, phơi khô dùng dần.

*Tính vị quy kinh*: Vị cay, hơi chua, tính bình.

*Công dụng*: Có tác dụng hoạt huyết, khu ứ, trừ phong thấp.

*Thành phần hoá học*: Các polyphenol, Lignan và flavonoid.

*Chỉ định và phối hợp*: Chưa có nhiều tài liệu nghiên cứu về tác dụng dược lý và thành phần hóa học của cây Dóng xanh. Theo kinh nghiệm sử dụng cây thuốc của y học cổ truyền, ở Trung Quốc cây được dùng trị: 1. Bị đòn, ngã, gãy xương; 2. phong thấp đau nhức xương, đau thần kinh ngang thắt lưng; 3. viêm mủ da, apxe vú; liều dùng 15 - 30g dạng thuốc sắc; dùng ngoài giã đắp. Ở nước ta, lá còn được nấu xông dùng trị đau răng. Lá cũng dùng chữa rắn cắn [11], [30].

*Một số bài thuốc có sử dụng Dóng xanh:*

1. Trị rắn cắn; dùng lá Dóng xanh 50g, giã nát, thêm nước gạn uống. Lá trầu không 10g, nấu nước, rửa sạch vết cắn. Vỏ cây Nóng 30g, giã nhỏ đắp xung quanh vết cắn.

2. Gãy xương: Dóng xanh, Thanh táo, Chua me đất, Xuyên tiêu, tất cả đều dùng tươi, mỗi vị 30g, nghiền nát thêm ít rượu vang đắp xung quanh vết thương, sau khi đã chỉnh lại tư thế của xương và có nẹp giữ xương. Hàng ngày thay thuốc.

3. Apxe vú: Dùng lá tươi và thân cây, giã ra với mật đường đỏ và bã rượu để đắp ngoài.

***1.3.2.2.* Thổ phục linh**

*Tên khoa học*: *Smilax glabra* Roxb*.*Thuộc họ hành tỏi Liliaceae.

*Tên khác*: Khúc khắc, Kim cang, khau đâu (Tày), d’rạng lò (Châu mạ), tơ pớt (K’ho), lái (K’dong), mọt hoi đòi (Dao).

*Bộ phận dùng*: Phần thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Thổ phục linh (Smilax glabra Roxb).

*Phân bố:* Thổ phục linh là loại cây mọc hoàng, mọc ở các nước châu Á như Trung Quốc, Ấn Độ, Thái Lan, Campuchia, Việt Nam, Lào, Myanma. Tại Việt Nam, cây thường mọc ở các vùng đồi núi, nơi rừng thưa, hay thung lũng, từ các tỉnh vùng miền núi Tây Bắc, cây mọc dọc Trường Sơn, cho đến các tỉnh ở miền Nam Trung Bộ (Khánh Hòa, Bình Thuận). Đặc điểm cây sinh trưởng và phát triển tốt ở vùng đất đỏ Tây Nguyên, Tây Bắc. Cây mọc hoang được thu hái thân rễ tươi quanh năm, nhưng để tốt nhất là vào mùa hè, mùa thu. Khi đào thân rễ về ta cắt bỏ rễ con và gai, rửa sạch, đem phơi hoặc sấy khô. Có thể ủ cho thật mềm, đem thái lát mỏng rồi phơi hoặc sấy khô để làm vị thuốc.

*Tính vị quy kinh*: Ngọt nhạt, bình vào kinh can vị.

*Công dụng*: Thổ phục linh là dược liệu quý được sử dụng từ lâu đời với rất nhiều công dụng trong y học. Theo sách "Nam dược thần hiệu" của Tuệ Tĩnh, Thổ phục linh có vị ngọt, nhạt, tính bình, có tác dụng đào thải các chất cặn bã và giải độc. Thổ phục linh được dùng để chữa phong thấp, đau xương khớp, mẩn ngứa ngoài da, ung thũng (ung nhọt sưng đau), giải độc….

Trong sách “Lĩnh nam bản thảo”, đại danh y Hải Thượng Lãn Ông đã viết về cây Thổ phục linh như sau:

"Thổ phục linh là củ khúc khắc

Ngọt nhạt, tính bình, chữa đắc lực

Mạnh gân, khỏe vị, thu miệng ghẻ

Đuổi phong, trừ thấp, rất có sức."

Ở Trung Quốc, Thổ phục linh được sử dụng từ rất lâu đời với công dụng: Thanh nhiệt, giải độc, lợi quan tiết, trừ thấp. Thổ phục linh được dùng để điều trị: mụn nhọt, rôm sẩy, nhiệt độc sưng lở, chứng thấp chẩn (Da nổi những hột lấm tấm đỏ, rát, ngứa do nóng ẩm gây ra), chứng lâm trọc (Đi tiểu đục, đường tiểu sưng đau), chứng cước khí (bàn chân phù nề, đau nhức), chứng gân cốt co rút, nhức mỏi, đau tê. Ở Mỹ người ta dùng Thổ phục linh làm thuốc giải khát đào thải chất độc trong gan...

*Thành phần hoá học*: Rễ củ của Thổ phục linh là các saponin, b - sitosterol, stigmasterol, các chất tanin và chất nhựa. Các nghiên cứu sâu về thành phần hóa học của Thổ phục linh cho thấy các thành phần chính của nó là các flavonoid và phenylpropanoid esters, ngoài ra còn có các terpenoids, mannose - binding lectin, và glycoproteins...

*Tác dụng dược lý*: Theo một số tài liệu viết về cây con làm thuốc ở Việt Nam, Thổ phục linh có nhiều tác dụng quý. Nghiên cứu trên chuột cống trắng có tác dụng chống viêm rõ rệt đối với giai đoạn viêm cấp tính cũng như mạn tính thực nghiệm trong mô hình phù bàn chân gây bằng kaolin và mô hình u hạt thực nghiệm gây bằng amiant, đồng thời có tác dụng gây thu teo tuyến ức chuột cống non, ức chế miễn dịch, nâng cao được tỷ lệ chuột lang sống qua cơn choáng phản vệ, làm giảm nhẹ cơn dị ứng trong thí nghiệm tiêm mẫn cảm chuật lang bằng kháng nguyên. Thổ phục linh có những tính chất của một thuốc chống viêm steroid ngoài ra còn có tác dụng kháng histamin. Trong thử nghiệm invitro Thổ phục linh làm giảm co thắt cơ trơn ruột chuột lang cô lập bởi histamin và acetylcholin. Flavonoid của Thổ phục linh có tác dụng ức chế men oxy hoá khử peroxydase và catalase máu chuột và huyết thanh người. Cao chiết với methanol từ thân rễ Thổ phục linh với liều 100mg/kg thể trọng, tiêm phúc mạc, đã làm hạ glucose máu của chuột trắng bình thường 4 giờ sau khi tiêm và cũng làm giảm glucose máu chuột nhắt gây đái tháo đường không phụ thuộc insulin. Cao lỏng chế từ Thổ phục linh phối hợp với Ngưu tất và Hy thiêm hoặc Cà gai leo được dùng điều trị thấp khớp đã tỏ ra có tác dụng tốt đối với chứng đau nhức, nhất là với những bệnh khớp không có tiêu chuẩn chẩn đoán và kết quả tốt nhất và tương đối nhanh với đau lưng cấp do lạnh và sang chấn [10], [11], [12], [20], [28], [35], [36].

Nhiều nghiên cứu trong và ngoài nước cũng đã chứng minh tác dụng chống viêm giảm đau của Thổ phục linh.

***1.3.2.3.* Hy Thiêm**

*Tên khoa học*: *Siegesbeckia orientalis* (Thuộc họ cúc).

*Tên gọi khác:* Cỏ đĩ, cỏ mật.

*Phân bố và bộ phận dùng:* Hy thiêm mọc hoang khắp nơi trên đất nước ta, đặc biệt là vùng đồi núi. Bộ phận dùng làm thuốc của Hy thiêm là toàn bộ phần trên mặt đất.

Thu hái vào mùa hạ (tháng 4 - 6) khi cây đang ra hoa là tốt nhất. Cắt lấy phần trên mặt đất (dài độ 35 - 50cm kể từ ngọn xuống) rồi phơi sấy cho thật khô.

*Tính vị quy kinh:* Vị đắng, tính hàn, hơi có độc, qui vào hai kinh can và thận.

*Công dụng:* Hy thiêm có tác dụng khu phong thấp, lợi gân cốt, giảm đau, đồng thời có tác dụng giảm độc, an thần, hoạt huyết. Dược liệu này được dùng khá phổ biến trong đông y để điều trị phong thấp, tê bại, khớp sưng nóng đỏ và đau nhức, đau lưng mỏi gối, mụn nhọt, lở ngứa, kinh nguyệt không đều.

*Thành phần hoá học:* Nhóm melampolides, thymohydroquinon dimethylether, phytol, germocranolid, melampolid các chất đắng darutosid, orientalid và flavonoid.

*Tác dụng dược lý:* Hy thiêm được chứng minh có nhiều tác dụng qúy [10], [11], [12], [20], [28], [43].

- Tác dụng giảm đau chống viêm: Lá Hy thiêm có tác dụng ức chế khá mạnh giai đoạn viêm cấp tính trong thí nghiệm gây phù chân chuột cống trắng và ức chế viêm mạn tính, gây thu teo với mức độ trung bình tuyến ức chuột cống non. Hơn nữa Hy thiêm còn có tác dụng giảm tỷ lệ - globulin trong huyết thanh khi dùng phối hợp trong bài thuốc Hy thiêm, Mộc qua, Thiên niên kiện, Ngưu tất. Kirenol phân lập từ Hy thiêm đã được chứng minh có tác dụng chống viêm, giảm đau trên chuột thực nghiệm. Nghiên cứu của Nguyễn Thùy Dương và cộng sự (2011) cho thấy phân đoạn n - butanol Hy thiêm với liều 120mg/kg có tác dụng chống viêm trên các mô hình thực nghiệm: Có tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin, thể hiện khả năng ức chế mức độ phù chân chuột tại thời điểm 1 và 3 giờ sau gây viêm, có tác dụng chống viêm trên chuột cống trắng gây viêm màng hoạt dịch bằng tinh thể natri urat, thể hiện qua việc làm giảm triệu chứng viêm. Phân đoạn n - butanol Hy thiêm với liều 120mg/kg có tác dụng giảm đau trên các mô hình thực nghiệm: Có tác dụng tăng ngưỡng phản ứng đau của chuột tại thời điểm 3 giờ sau tiêm carrageenin trên mô hình Randall - Selitto, có tác dụng rút ngắn thời gian phản ứng đau trên mô hình mâm nóng, phần trăm ức chế phản ứng đau là 66,8% và làm giảm acid uric trên mô hình thực nghiệm [14].

- Tác dụng dược lý khác: Dịch chiết methanol, ethyl acetat và dịch chiết nước của Hy thiêm có hiệu quả chỗng oxy hóa. Hy thiêm chống oxy hóa trên cả gốc tự do OH- và O2-. Hy thiêm có tác dụng an thần, làm giảm hoạt động tự nhiên của động vật thí nghiệm. Hy thiêm còn có khả năng ức chế miễn dịch, dịch chiết ethanol Hy thiêm có tác dụng làm giảm nồng độ IgG, IgG1 và IgG2b. Dịch chiết nước Hy thiêm có tác dụng chống dị ứng do ức chế sản xuất IgE từ lympho B, ức chế giải phóng histamin từ tế bào mast và kháng histamin. Hy thiêm có tác dụng đối với chuyển hóa lipid ở động vật thí nghiệm đã được nghiên cứu. Dược liệu gây giảm cả 3 chỉ số cholesterol máu, tỷ số β/α lipoprotein máu và mức lipid toàn phần trong máu động vật thí nghiệm. Hy thiêm cũng được chứng minh có tác dụng hạ huyết áp, hạ đường huyết, kháng acetylcholin, và rút ngắn thời gian tiêu fibrin.

***1.3.2.4.* Ngưu tất**

*Tên khoa học: Achyranthes bidentata* Blume. Thuộc họ Dền Amaranthaceae.

*Tên gọi khác:* Hoài Ngưu tất, Xuyên Ngưu tất.

*Bộ phận dùng*: Rễ.

*Tính vị quy kinh:* Đắng chua, bình vào kinh can thận.

*Công dụng*: Có tác dụng hoạt huyết, hành ứ, bổ can thận, mạnh gân cốt dùng trong bệnh viêm khớp, đau bụng, kinh nguyệt không đều.

*Thành phần hoá học*: Saponin triterpenic toàn phần, axit oleanic, ecdysteron, inokosteron, polysaccharid và muối kali.

*Tác dụng dược lý*: Có tác dụng chống viêm rõ rệt đối với giai đoạn viêm cấp và giai đoạn viêm mạn tính của phản ứng viêm trên thực nghiệm, gây thu teo tuyến ức chuột cống đực non. Rễ Ngưu tất có tác dụng làm giảm cholesterol máu ở thỏ đã gây tăng cholesterol máu thực nghiệm do ức chế hấp thu cholesterol từ ngoài vào và ức chế sự tổng hợp cholesterol trong cơ thể thỏ, gây hạ huyết áp rõ rệt trên mèo mức độ hạ từ từ, thời gian tác dụng kéo dài. Các chế phẩm Solamin và ngưu linh thiên trong có Ngưu tất và một số dược liệu khác được áp dụng để điều trị thấp khớp có tác dụng chống viêm giảm đau rõ rệt trên lâm sàng. Kết quả tốt nhất và tương đối nhanh đối với đau lưng cấp do lạnh và sang chấn, đối với viêm khớp dạng thấp chưa có biến dạng về khớp và đối với chứng đau nhức đơn thuần thì có tác dụng điều trị tương đối tốt, khi có biến dạng về xương cơ khớp kết quả kém [10], [11], [12], [19], [20], [28], [47].

***1.3.2.5.* Dây đau xương**

*Tên khoa học:* *Tinospora sinensis* Merr. (*Tinospora tomentosa* Miers*, Timospora malabarica* Miers*, Menispermun malabarilum* Lamk). Thuộc họ Tiết dê Menispermaceae.

*Tên gọi khác:* Khoan cân đằng, Tục cốt đằng.

Bộ phận dùng: Toàn thân cả lá.

Tính vị quy kinh: Đắng, lương vào kinh can.

Công dụng: Có tác dụng khu phong trừ thấp, thư cân hoạt lạc.

Thành phần hoá học: Alcaloid, glucosid phenolic, dinorditerpenglucosid.

Tác dụng dược lý: Nghiên cứu trên thực nghiệm cho thấy Dây đau xương có tác dụng ức chế hoạt tính gây co thắt cơ trơn của histamin và acetylcholin trong ruột cô lập. Dây đau xương có ảnh hưởng trên huyết áp động vật thí nghiệm, có tác dụng ức chế hệ thần kinh trung ương biểu hiện trên các hiện tượng quan sát bên ngoài của động vật, có tác dụng hiệp đồng với thuốc ngủ, tác dụng an thần và lợi tiểu. Bài thuốc chữa viêm khớp gồm có 5 vị trong đó có Dây đau xương trên thử nghiệm dược lý và dược lâm sàng được xác minh hiệu lực chống viêm [10], [11], [12], [20], [21], [28], [43].

**CHƯƠNG 2**

**ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

**2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU**

**2.1.1. Thuốc nghiên cứu**

Cao nước chiết xuất từ bài thuốc Thiên cốt đan theo tỷ lệ 1:1 (1ml dịch chiết tương đương 1g dược liệu của bài thuốc).

**Thành phần 01 thang thuốc Thiên cốt đan gồm:**

Dóng xanh *(Justicia ventricosa)* 30gam

Hy thiêm (*Siegesbeckia orientalis)* 20gam

Thổ phục linh (*Smilax glabra)* 20gam

Ngưu tất (*Achyranthes bidentata)* 16gam

Dây đau xương (*Tinospora sinensis)* 12gam

Các nguyên liệu Thổ Phục linh, Dây đau xương, Ngưu tất và Hy thiêm do Bệnh viện YHCT Tuệ Tĩnh cung cấp, đạt tiêu chuẩn trong Dược điển Việt Nam IV [8].

Cành, lá cây Dóng xanh *Justica ventricosa* Wall, họ Ô rô (Acanthaceae) do Viện Nghiên cứu Y Dược cổ truyền cung cấp, được thu hái tại Phú Xuyên - Hà Nội. Sau khi thu hái tiến hành rửa bằng nước, thái nhỏ, phơi hoặc sấy ở nhiệt độ 600C đến khô. Sao qua để dùng [7].

Cao nước chiết xuất từ bài thuốc Thiên cốt đan có tỷ lệ 1:1 (1ml dịch chiết tương đương 1g dược liệu của bài thuốc), được đựng trong chai nhựa nút kín. Quá trình chiết xuất được thực hiện bằng máy tự động tại khoa Dược - Bệnh viện YHCT Tuệ Tĩnh.

Cao lỏng dùng trong nghiên cứu thực nghiệm là cao nước chiết xuất từ bài thuốc Thiên cốt đan có tỷ lệ 1:1 được cô quay chân không đến độ đậm đặc nhất có thể được cao đặc có tỷ lệ 5:1 (5g dược liệu/1ml cao), cho chuột uống được bằng kim đầu tù chuyên dụng. Cao đặc này được pha loãng trong nước cất thành các dung dịch có nồng độ khác nhau tùy theo mức liều sử dụng cho chuột uống, dùng để đánh giá tính an toàn và tác dụng dược lý trên động vật thực nghiệm.

Trong các thí nghiệm, pha loãng cao lỏng Thiên cốt đan với nước cất thành các nồng độ khác nhau để cho động vật uống. Liều dùng tính theo số gam dược liệu khô. Bài thuốc Thiên cốt đan có tổng số gam dược liệu khô là 98g, dự kiến sử dụng cho 1 người (50kg) uống trong 1 ngày, tương đương 1,96g/kg/ngày. Qui đổi ra liều dự kiến có tác dụng: Ở chuột nhắt trắng là 1,96 x 12 = 23,52g/kg/ngày; ở chuột cống trắng là 1,96 x 7 = 13,72g/kg/ngày; ở chuột cống non là 1,96 x 8 = 15,68g/kg/ngày [16].

**2.1.2. Thuốc đối chứng và hóa chất dùng trong nghiên cứu**

- Prednisolon viên nén hàm lượng 5mg (Hà Nội Pharma JSC).

- Diclofenac sodium viên nén 50mg (công ty cổ phần dược phẩm Trung ương 2 - Dopharma.JSC).

- Carrageenin và một số hóa chất khác của hãng Sigma - Hoa Kỳ.

**2.1.3. Phương tiện và trang thiết bị dùng trong nghiên cứu:**

- Máy đo thể tích bàn chân chuột (Plethysmometer, Cat. No 7140, Ugo Basile - Italy).

- Máy đo giảm đau áp lực bàn chân chuột (Paw Pressure Analgesy Meter, Cat. No 37215, Ugo Basile - Italy).

- Hot Cold Plate, Cat. No 35100, Ugo Basile - Italy.

- Cân phân tích 10-4, model CP224S (Sartorius - Đức).

- Bộ dụng cụ mổ động vật cỡ nhỏ.

- Đồng hồ bấm giây.

- Kim cho chuột uống và các dụng cụ thí nghiệm khác.

**2.1.4. Động vật sử dụng trong nghiên cứu**

- Chuột nhắt trắng trưởng thành dòng Swiss, không phân biệt giống, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, cân nặng mỗi con 18 - 22g.

- Chuột cống trắng trưởng thành dòng Wistar, không phân biệt giống, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, cân nặng mỗi con 160 - 180g.

- Chuột cống trắng non, dòng Wistar, giống đực, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, cân nặng mỗi con 80 - 120g.

- Động vật thí nghiệm do Ban chăn nuôi động vật thí nghiệm - Học viện Quân Y cung cấp, nuôi dưỡng trong phòng nuôi động vật thí nghiệm đảm bảo đáp ứng nhu cầu của thí nghiệm (ít nhất một tuần) trước khi tiến hành thí nghiệm. Động vật ăn thức ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu, nước sạch đun sôi để nguội uống tự do. Hàng ngày quan sát, theo dõi ghi chép diễn biến kết quả thí nghiệm.

- Số lượng động vật mỗi loại được nêu cụ thể ở phần phương pháp nghiên cứu.

**2.2. ĐỊA ĐIỂM VÀ THỜI GIAN NGHIÊN CỨU:**

**2.2.1. Địa điểm nghiên cứu:**

Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam, Bộ môn Dược lý Học viện Quân Y.

**2.2.2. Thời gian nghiên cứu:**

Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 3/2017 đến tháng 9/2017.

**2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU :**

***2.3.1. Nghiên cứu độc tính cấp***

Nghiên cứu độc tính cấp của cao lỏng Thiên cốt đan trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo phư­ơng pháp Litchfield - Wilcoxon [15], hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới [57], [58], quy chế đánh giá tính an toàn và hiệu lực thuốc Cổ truyền của Bộ Y tế [6].

Tiến hành lựa chọn để đưa vào nghiên cứu. Chỉ những chuột có cân nặng từ 18 - 22g mới đưa vào thí nghiệm, ưu tiên lựa chọn những chuột có trọng lượng 20g. Lựa chọn cả chuột đực và chuột cái. Các chuột khỏe mạnh lông mượt, mắt trong, hậu môn khô, hoạt động, vận động bình thường, ăn uống bình thường, chất thải bình thường. Nuôi dưỡng các chuột trong điều kiện nuôi động vật thí nghiệm trong 5 - 7 ngày, tiếp tục theo dõi các chuột trong thời gian này để kịp thời loại bỏ các chuột có biểu hiện bất thường.

Tr­ước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhịn ăn 16 giờ, nước uống tự do. Sau 16 giờ, chuột được chia ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 08 con. Các lô thử được cho uống thuốc với thể tích 0,2 ml/10g/lần, 3 lần/24 giờ, mỗi lần cách nhau 3 giờ. Mức liều cho uống ở mỗi lô tăng dần.

\*Theo dõi, đánh giá tình trạng chung của chuột ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau khi cho chuột uống thuốc lần cuối. Tình trạng chung của chuột được đánh giá thông qua các chỉ tiêu sau:

- Theo dõi, đánh giá tình trạng hoạt động, vận động của chuột: Quan sát từng chuột có biểu hiện của trạng thái kích thích thần kinh hay không (như tăng hoạt động, dễ bị kích thích bởi các tác nhân ánh sáng, tiếng động...); có biểu hiện của trạng thái ức chế thần kinh hay không (giảm hoạt động, lờ đờ, hay nằm nhiều...); có biểu hiện về tổn thương thần kinh vận động hay không (dáng đi lảo đảo, bị run các chi, nặng có thể bị co giật hay yếu cơ đi lại khó khăn...).

- Theo dõi, đánh giá tình trạng ảnh hưởng tới thần kinh thực vật: Quan sát từng chuột tình trạng ra mồ hôi (biểu hiện lông bị ướt, bệt, dính hay lông khô) hoặc biến đổi sắc tố da (bị khô da, đỏ da, tím tái da hay không); đồng tử mắt có biểu hiện bị co, giãn hay không...

- Theo dõi, đánh giá tình trạng hô hấp:

+ Quan sát từng chuột có biểu hiện bị khó thở không, khi khó thở chuột sẽ có biểu hiện co rút các cơ thở vùng cổ, ngực và có biểu hiện tím tái môi miệng các chi do thiếu oxy. Dựa vào sự co rút các cơ thở đánh giá biểu hiện khó thở dạng nhanh nông hay có biểu hiện ức chế làm chậm nhịp thở...

+ Quan sát từng chuột chuột có biểu hiện của ho không: Khi ho chuột rùn người lại, cơn ho gây vận động đột ngột của cùng đầu và cổ.

- Theo dõi, đánh giá tình trạng ăn uống của chuột: Quan sát từng chuột ngày đầu tiên do đưa lượng thuốc nhiều vào dạ dày, việc theo dõi đánh giá chỉ mang tính tham khảo. Từ ngày thứ 2 trở đi, quan sát đánh giá sự ảnh hưởng của thuốc đến hoạt động ăn uống của chuột, lượng thức ăn và nước uống mà chuột tiêu thụ…

- Theo dõi, đánh giá tình trạng chất thải của chuột: Quan sát từng chuột có biểu hiện của đi ngoài phân nát hay lỏng nước không, xuất hiện ở những mức liều nào, sau dùng thuốc bao lâu, sau bao lâu thì hồi phục. Quan sát hậu môn các chuột. Những chuột không bị đi ngoài thì hậu môn khô. Các chuột có biểu hiện đi ngoài hậu môn ướt, dính phân, có thể có viêm tấy đỏ…

- Theo dõi, quan sát, đánh giá những biểu hiện bât thường khác như bị đau quặn bụng biểu hiện thóp bụng, áp bụng xuống sàn, duỗi dài hai chân sau, bị ngứa đưa chân lên gãi…

\*Theo dõi, đánh giá số chuột chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau khi cho chuột uống thuốc lần cuối. Với mỗi chuột bị chết, ghi chép đầy đủ các biểu hiện của chuột trước khi chết, thời điểm xuất hiện các biểu hiện đó, thời gian kéo dài của các biểu hiện đó và thời điểm khi chuột chết.

Tiến hành phẫu tích quan sát tình trạng các tạng ngay sau khi có chuột chết (nếu có) để xác định nguyên nhân gây độc.

\* Tính toán LD50 được thực hiện dựa trên các số liệu về khoảng cách giữa mức liều cao nhất chưa gây chết một con chuột nào và mức liều thấp nhất gây chết 100% số chuột, cùng số chuột chết ở các lô trung gian trong thời gian 72 giờ sau uống thuốc.

\* Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng chung của chuột và số chuột chết ở mỗi lô (nếu có) cho đến hết 7 ngày sau khi uống thuốc. Các dấu hiệu bất thường của chuột cũng như số chuột chết trong thời gian sau 72 giờ cho đến hết 7 ngày sau khi uống thuốc được dùng để xem xét đánh giá về khả năng gây độc muộn của chế phẩm nghiên cứu.

***2.3.2.Nghiên cứu tác dụng chống viêm, giảm đau.***

***2.3.2.1.Nghiên cứu tác dụng chống viêm.***

***a. Nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp.***

***- Nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột bằng Carrageenin.***

Tác dụng chống viêm cấp được đánh giá trên mô hình gây phù chân chuột bằng Carrageenin, theo phương pháp của Winter và CS, 1968 [57].

Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên làm 4 lô, mỗi lô 08 con.

+ Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất.

+ Lô 2 (lô tham chiếu): Uống Diclofenac sodium liều 15mg/kg/ngày.

+ Lô 3 (lô trị 1): Uống cao lỏng Thiên cốt đan liều 13,72g/kg/ngày (liều dự kiến có tác dụng).

+ Lô 4 (lô trị 2): Uống cao lỏng Thiên cốt đan liều 27,44g/kg/ngày (gấp đôi liều 1).

Chuột được uống thuốc thử hoặc nước cất 5 ngày liên tục trước khi gây viêm. Ngày thứ 5, sau khi uống thuốc thử 1 giờ, gây viêm bằng cách tiêm carrageenin 1% (pha trong nước muối sinh lý, ngay trước khi tiêm) 0,1 ml/chuột vào gan bàn chân sau, bên phải của chuột. Chuột được nhịn đói qua đêm, nước uống tự do.

Đo thể tích chân chuột (đến khớp cổ chân) bằng Máy đo thể tích bàn chân chuột (Plethysmometer) vào các thời điểm: Trước khi gây viêm (V0); sau khi gây viêm 2 giờ (V2), 4 giờ (V4) và 6 giờ (V6) và 24 giờ (V24).

 Mức độ tăng thể tích chân chuột được tính theo công thức:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| X% = | Vt – V0 | x 100 |
| V0 |

Trong đó:

+ X% là tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột.

+ V0 là thể tích bàn chân chuột ngay sau khi tiêm Carrageenin.

+ Vt là V2, V4, V6 và V24 (thể tích bàn chân chuột ở các thời điểm sau 2, 4, 6 và 24 giờ sau khi tiêm Carrageenin).

Tác dụng ức chế phù được biểu thị bằng % giảm mức độ tăng thể tích bàn chân chuột của lô dùng thuốc nghiên cứu so với mức độ tăng của lô chứng sinh lý và được tính theo công thức:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Y% = | Mc – Mt | x 100 |
| Mc |

Trong đó:

Y% là tỷ lệ % giảm mức độ phù bàn chân chuột.

Mc là tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột lô đối chứng và Mt là tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở lô dùng thuốc nghiên cứu.

- ***Nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây viêm màng bụng chuột cống trắng.***

Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên làm 4 lô, mỗi lô 08 con.

+ Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất.

+ Lô 2 (lô tham chiếu): Uống Diclofenac sodium liều 15mg/kg/ngày.

+ Lô 3 (lô trị 1): Uống cao lỏng Thiên cốt đan liều 13,72g/kg/ngày (liều dự kiến có tác dụng).

+ Lô 4 (lô trị 2): Uống cao lỏng Thiên cốt đan liều 27,44g/kg/ngày (liều cao gấp đôi liều 1).

      Chuột được uống thuốc thử hoặc nước cất 5 ngày liên tục trước khi gây viêm. Ngày thứ 5, sau khi uống thuốc thử 1 giờ, gây viêm màng bụng cấp bằng dung dịch carrageenin 0,05g + formaldehyd 1,4 ml pha trong 100 ml nước muối sinh lý vừa đủ, với thể tích 1ml/100g chuột vào khoang màng bụng cho mỗi chuột.

       Sau 24 giờ gây viêm, mổ ổ bụng chuột hút dịch rỉ viêm. Đo thể tích và đếm số lượng bạch cầu/ml và định lượng protein trong dịch rỉ viêm [24].

***b. Nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn.***

- ***Nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn theo mô hình gây u hạt trên chuột nhắt trắng.***

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên làm 4 lô, mỗi lô 10 con.

+ Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất.

+ Lô 2 (lô tham chiếu): Uống Prednisolon liều 5mg/kg/ngày.

+ Lô 3 (lô trị 1): Uống cao lỏng Thiên cốt đan liều 23,52g/kg/ngày (liều dự kiến có tác dụng).

+ Lô 4 (lô trị 2): Uống cao lỏng Thiên cốt đan liều 47,04g/kg/ngày (gấp đôi liều 1).

Gây viêm mạn bằng cách cấy hạt amiant trọng lượng 6mg đã tiệt trùng (sấy 1200C trong 1 giờ) và đã được tẩm carrageenin 1% vào da gáy của mỗi chuột.

Sau khi cấy u hạt, các chuột được uống nước cất hoặc thuốc thử liên tục trong 6 ngày. Ngày thứ 7 tiến hành giết chuột bằng cloroform, bóc tách khối u hạt, sấy khô ở nhiệt độ 560C trong 18 giờ. Cân trọng lượng u hạt sau khi đã được sấy khô.

- ***Nghiên cứu tác dụng chống viêm thông qua tuyến ức.***

Chuột cống đực còn non, trọng lượng trung bình 100 ± 20 gam, được chia ngẫu nhiên làm 4 lô, mỗi lô 10 con.

+ Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất.

+ Lô 2 (lô tham chiếu): Uống Prednisolon liều 6 mg/kg/ngày.

+ Lô 3 (lô trị 1): Uống cao lỏng Thiên cốt đan liều 15,68g/kg/ngày (liều dự kiến có tác dụng).

+ Lô 4 (lô trị 2): Uống cao lỏng Thiên cốt đan liều 31,36g/kg/ngày (gấp đôi liều 1).

Chuột được uống thuốc thử trong 3 ngày (vào 8h30 sáng). Chiều ngày thứ 3, giết chuột, bóc tách tuyến ức đem cân ngay. So sánh trọng lượng tuyến ức giữa lô thử và lô chứng.

***2.3.2.2. Nghiên cứu tác dụng giảm đau.***

**a. *Nghiên cứu tác dụng giảm đau trung ương.***

- **N*ghiên cứu tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau bởi phiến nóng (Hotplate).***

Dựa theo phương pháp nghiên cứu được mô tả bởi Baker và cs, (2002) [48].

Chuột nhắt trắng chia ngẫu nhiên làm 4 lô, mỗi lô 10 con.

+ Lô 1 (chứng sinh lý): Uống nước cất, thể tích 10ml/kg.

+ Lô 2 (thuốc tham chiếu): Tiêm dưới da cổ Morphin liều 10 mg/kg - 0,1ml/10g chuột.

+ Lô 3 (lô trị 1): Uống cao lỏng Thiên cốt đan liều 23,52g/kg/ngày (liều dự kiến có tác dụng).

+ Lô 4 (lô trị 2): Uống cao lỏng Thiên cốt đan liều 47,04g/kg/ngày (gấp đôi liều 1).

Thí nghiệm được tiến hành tại hai thời điểm: Trước khi cho chuột uống thuốc thử và sau khi cho chuột uống thuốc thử 5 ngày. Vào ngày thứ 5, sau khi chuột uống thuốc 1 giờ, đặt chuột lên mâm nóng có nhiệt độ ổn định ở 560C của Máy đo đau bản nóng, lạnh. Tính thời gian từ lúc đặt chuột vào mâm nóng đến khi chuột liếm chân sau. Thời gian chịu đau của chuột được tính từ lúc chuột đặt chân vào mâm nóng đến khi chuột liếm chân sau.

Đánh giá tác dụng giảm đau thông qua chỉ tiêu mức tăng thời gian chịu đau của chuột. So sánh giữa các lô với nhau, tính phần trăm kéo dài thời gian đáp ứng. Khi tiến hành tại thời điểm trước khi uống thuốc, loại bỏ những chuột phản ứng trước 8 giây và sau 30 giây.

**b*. Nghiên cứu tác dụng giảm ngoại biên.***

- ***Nghiên cứu tác dụng giảm đau tại tổ chức viêm (Randall - Selitto Test).***

Dựa theo phương pháp nghiên cứu của Randall và Selitto có sửa đổi bởi Winter và cs (1962), được trình bày trong tài liệu “Drug discovery and evaluation Pharmacological assays” của nhà xuất bản Springer [52].

Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 08 con.

+ Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất.

+ Lô 2 (lô tham chiếu): Uống Diclofenac sodium liều 15mg/kg .

+ Lô 3 (lô trị 1): Uống cao lỏng Thiên cốt đan liều 13,72g/kg/ngày (liều dự kiến có tác dụng).

+ Lô 4 (lô trị 2): Uống cao lỏng Thiên cốt đan liều 27,44g/kg/ngày (gấp đôi liều 1).

Chuột được uống thuốc thử hoặc nước cất 5 ngày liên tục trước khi gây viêm. Ngày thứ 5, tiến hành gây phù viêm cấp bằng cách tiêm hỗn dịch Carrageenin 1% (được pha chế ngay trước khi tiêm) liều 0,1 ml/con vào dưới da gan bàn chân chuột. Sau 3 giờ kể từ khi tiêm Carrageenin, cho chuột uống thuốc thử hoặc nước cất với cùng thể tích 5 ml/kg cân nặng.

Đo ngưỡng đau bàn chân gây phù viêm của chuột bằng máy đo giảm đau áp lực bàn chân chuột (Paw Pressure Analgesy Meter) tại các thời điểm sau 30 phút, 60 phút, 90 phút và 120 phút sau dùng thuốc.

So sánh ngưỡng đau bàn chân chuột giữa các lô với nhau.

- ***Nghiên cứu tác dụng giảm đau theo mô hình gây đau quặn (Writhing Tests) sử dụng acid acetic.***

Theo phương pháp nghiên cứu của Koster và cs (1959) [57].

Chuột nhắt trắng chia ngẫu nhiên làm 4 lô, mỗi lô 08 con.

+ Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất.

+ Lô 2 (lô tham chiếu): Diclofenac sodium liều 20 mg/kg.

+ Lô 3 (lô trị 1): Uống cao lỏng Thiên cốt đan liều 23,52g/kg/ngày (liều dự kiến có tác dụng).

+ Lô 4 (lô trị 2): Uống cao lỏng Thiên cốt đan liều 47,04g/kg/ngày (gấp đôi liều 1).

Chuột được uống thuốc thử hoặc nước cất 5 ngày liên tục. Ngày thứ 5, sau khi dùng thuốc 60 phút, tiến hành gây đau quặn bằng cách tiêm phúc mạc bằng dung dịch acid acetic 0,6% liều 0,1 ml/10g thể trọng. Sau khi tiêm acid acetic vào ổ bụng, ở tất cả các chuột đều có những cơn đau quặn với biểu hiện thóp bụng lại, áp bụng xuống sàn, duỗi dài thân và chân sau. Thời gian xuất hiện đau (tính từ lúc tiêm acid acetic đến khi có cơn đau quặn đầu tiên) và đếm số cơn đau quặn trong từng khoảng thời gian 5 phút cho đến kết thúc 20 phút sau tiêm acid acetic được ghi lại đối với từng chuột trong mỗi lô. So sánh kết quả giữa các lô nghiên cứu, tính % ức chế đau quặn theo công thức:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| A% = | Dc – Dt | x 100 |
| Dc |

Trong đó: A% là tỷ lệ giảm số cơn đau quặn của lô thử thuốc; Dc là số cơn đau quặn của lô chứng sinh lý; Dt là số cơn đau quặn của lô thử thuốc.

**2.4. Kỹ thuật phân tích số liệu:**

Các số liệu được xử lý theo các phương pháp thống kê y sinh học, so sánh bằng anova test sử dụng phần mềm SPSS 16.0. Số liệu đư­ợc biểu diễn d­ưới dạng ± SD. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi p < 0,05.

**SƠ ĐỒ NGHIÊN CỨU**

Các vị thuốc/bài thuốc cân theo công thức

Chiết bằng nước theo phương pháp sắc, lọc

Điều chỉnh để có dịch chiết 1:1 (1g/1ml)

Tác dụng Dược lý

Xác định độc tính cấp

Nghiên cứu tác dụng chống viêm

Nghiên cứu tác dụng giảm đau

Giảm đau ngoại biên

Tác dụng chống viêm cấp

Tác dụng chống viêm mạn

Giảm đau trung ương

Mô hình gây viêm tuyến ức

Mô hình gây viêm màng bụng

Mô hình giảm đau bằng phiến nóng

Mô hình giảm đau quặn

Mô hình giảm đau tại tổ chức viêmTác dụng chống viêm cấp

Mô hình gây u hạt

Mô hình gây phù chân chuột

Sử lý số liệu bằng toán thống kê y học

**CHƯƠNG 3**

Kết luận

Tác dụng chống viêm, giảm đau

LD50

Xác định liều dùng điều thuận lợi trong khi dùng

**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**

**3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp.**

***3.1.1. Kết quả theo dõi, đánh giá tình trạng chung của chuột trong vòng 72 giờ sau uống thuốc.***

- *Kết quả về tình trạng hoạt động, vận động của chuột:* Các chuột ở tất cả các lô hoạt động, vận động bình thường, không có chuột nào có biểu hiện của các trạng thái kích thích hoặc ức chế thần kinh; không có chuột nào có biểu hiện về tổn thương thần kinh vận động.

- *Kết quả về ảnh hưởng tới thần kinh thực vật:* Các chuột ở tất cả các lôđều không thấy có biểu hiện về ảnh hưởng của cao lỏng Thiên cốt đan lên tình trạng thần kinh thực vật; khôngcó chuột nào có tình trạng ướt lông, bệt lông, không có chuột nào biến đổ sắc tố da; đồng tử mắt của các chuột bình thường, không có chuột nào có biểu hiện bị co, giãn đồng tử.

- *Kết quả về ảnh hưởng tới* *tình trạng hô hấp:* Các chuột ở tất cả các lô đều có tình trạng hô hấp bình thường. Chuột không có biểu hiện gì của khó thở, không thấy có tím tái, không có ho.

*- Kết quả về tình trạng ăn uống của chuột:* Từ ngày thứ 2 trở đi các chuột ở tất cả các lô đã ăn uống bình thường, không có biểu hiện của việc bỏ ăn cũng như không có biểu hiện của việc ăn uống tăng lên.

*- Kết quả về tình trạng chất thải của chuột:* Các chuột không có biểu hiện đi ngoài phân nát. Kiểm tra hậu môn của các chuột hậu môn khô.

*- Kết quả về đánh giá những biểu hiện bât thường khác:* Các chuột ở tất cả các lô đều không có biểu hiện bất thường gì khác (không có chuột nào thóp bụng, áp bụng xuống sàn, duỗi dài hai chân sau, không bị ngứa đưa chân lên gãi…).

***3.1.2. Kết quả theo dõi, đánh giá số chuột chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau uống thuốc.***

Kết quả nghiên cứu được trình bày ở bảng 3.1.

***Bảng 3.1: Kết quả đánh giá số chuột chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau uống cao lỏng Thiên cốt đan.***

Bảng 3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cao lỏng Thiên cốt đan.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Lô chuột | Số chuột thí nghiệm | Liều dùng (g dược liệu khô/kgTTCT) | Thể tích cho uống | Số chuột sống/chết sau 72 giờ |
| Lô 1 | 08 | 150,0 | 0,2 mL/10g x 3 lần (cao 2,5:1) | 08/0 |
| Lô 2 | 08 | 180,0 | 0,2 mL/10g x 3 lần (cao 3:1) | 08/0 |
| Lô 3 | 08 | 210,0 | 0,2 mL/10g x 3 lần (cao 3,5:1) | 08/0 |
| Lô 4 | 08 | 240,0 | 0,2 mL/10g x 3 lần (cao 4:1) | 08/0 |
| Lô 5 | 08 | 270,0 | 0,2 mL/10g x 3 lần (cao 4,5:1) | 08/0 |
| Lô 6 | 08 | 300,0 | 0,2 mL/10g x 3 lần (cao 5:1) | 08/0 |

Kết quả bảng 3.1 cho thấy:

Chuột nhắt trắng được uống thuốc thử với các mức liều khác nhau từ liều thấp nhất là 150,0g dược liệu khô/kg thể trọng cơ thể đến liều cao nhất là 300,0g dược liệu/kg TTCT, 0,2mL/10g, 3 lần trong 24 giờ. Chuột đã uống đến liều 300,0g dược liệu khô/kg TTCT là liều tối đa có thể dùng được bằng đường uống để đánh giá độc tính cấp của thuốc thử nhưng không có chuột nào chết, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống thuốc lần cuối và trong suốt 7 ngày sau uống thuốc.

***3.1.3. Kết quả theo dõi, đánh giá tình trạng chung và số chuột chết ở mỗi lô trong thời gian sau 72 giờ cho đến hết 7 ngày sau uống cao lỏng Thiên cốt đan***

*3.1.3.1. Kết quả theo dõi, đánh giá tình trạng chung của chuột ở mỗi lô trong thời gian sau 72 giờ cho đến hết 7 ngày sau uống cao lỏng Thiên cốt đan*

- *Kết quả về tình trạng hoạt động, vận động của chuột:* Các chuột ở tất cả các lô hoạt động, vận động bình thường, không có chuột nào có biểu hiện của các trạng thái kích thích hoặc ức chế thần kinh; không có chuột nào có biểu hiện về tổn thương thần kinh vận động.

- *Kết quả về ảnh hưởng tới thần kinh thực vật:* Các chuột ở tất cả các lôđều không thấy có biểu hiện về ảnh hưởng của thuốc lên tình trạng thần kinh thực vật; khôngcó chuột nào có tình trạng bị ướt lông, bệt lông, không có chuột nào biến đổ sắc tố da; đồng tử mắt của các chuột bình thường, không có chuột nào có biểu hiện bị co, giãn đồng tử.

- *Kết quả về ảnh hưởng tới* *tình trạng hô hấp:* Các chuột ở tất cả các lô đều có tình trạng hô hấp bình thường. Chuột không có biểu hiện gì của khó thở, không thấy có tím tái môi và đầu chi, không có ho.

- *Kết quả về tình trạng ăn uống của chuột:* Các chuột ở tất cả các lô đã ăn uống bình thường, không có biểu hiện của việc bỏ ăn cũng như không có biểu hiện của việc ăn uống tăng lên.

- *Kết quả về tình trạng chất thải của chuột:* Các chuột ở tất cả các lô đi ngoài bình thường, phân khuôn, hậu môn khô.

- *Kết quả về đánh giá những biểu hiện bât thường khác*: Các chuột ở tất cả các lô đều không có biểu hiện bất thường gì khác (không có chuột nào thóp bụng, áp bụng xuống sàn, duỗi dài hai chân sau, không bị ngứa đưa chân lên gãi)

*3.1.3.2. Kết quả theo dõi, đánh giá số chuột chết ở mỗi lô trong thời gian sau 72 giờ cho đến hết 7 ngày sau uống cao lỏng Thiên cốt đan*

Trong thời gian sau 72 giờ cho đến hết 7 ngày sau uống thuốc, không có chuột nào bị chết.

Kết luận: Chưa tìm thấy LD50 của cao lỏng Thiên cốt đan theo đường uống trên chuột nhắt trắng. với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24 giờ là 300,0g dược liệu khô/kg thể trọng không xuất hiện độc tính cấp.

**3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm, giảm đau.**

***3.2.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm.***

***3.2.1.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp.***

*a. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm trên mô hình gây phù chân chuột bằng Carrageenin.*

\* Kết quả đánh giá tại thời điểm 2 giờ sau gây viêm được trình bày ở bảng 3.2

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của cao lỏng Thiên cốt đan tới trung bình tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở thời điểm 2 giờ sau gây viêm (n = 8, Mean ± SD).

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Các lô thí nghiệm | n | Trung bình tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở thời điểm 2 giờ sau gây viêm | Giá trị p |
| Chứng (1) | 8 | 73,85± 20,97 | p2,3,4-1 < 0,01  p3,4-2 > 0,05  p3-4 > 0,05 |
| Tham chiếu (2)  (Diclofenac) | 8 | 41,07 ± 6,26 |
| Cao lỏng Thiên cốt đan liều 1 (3) | 8 | 42,62 ± 9,83 |
| Cao lỏng Thiên cốt đan liều 2 (4) | 8 | 41,91 ± 8,96 |

Kết quả bảng 3.2 cho thấy:

- Tại thời điểm 2 giờ sau tiêm carrageenin, tất cả các chuột đều đã xuất hiện phù bàn chân rõ. Trung bình tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột tại thời điểm 2 giờ sau gây viêm ở lô chứng là 73,85%.

- Tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột tại thời điểm 2 giờ sau tiêm carragenin ở các lô dùng Diclofenac, lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan liều 1 và lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan liều 2 lần lượt là 41,07%, 42,62% và 41,91%, giảm rõ so với lô chứng với p < 0,01.

- So sánh giữa 2 lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan, tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột tại thời điểm 2 giờ sau tiêm carrageenin ở lô dùng liều cao nhỏ hơn so với ở lô dùng liều thấp, cho thấy thuốc có xu hướng đáp ứng theo mức liều, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

- So với lô tham chiếu dùng Diclofenac liều 15mg/kg, độ tăng thể tích bàn chân chuột tại thời điểm 2 giờ sau tiêm carrageenin ở các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05). Cao lỏng thiên cốt đan dùng liều 13,72g/kg/ngày cũng như liều 27,44g/kg/ngày trên chuột cống trắng có tác dụng ức chế phù viêm, làm giảm sự tăng thể tích phù bàn chân chuột tại thời điểm 2 giờ sau gây viêm tương đương so với khi dùng Diclofenac liều 15mg/kg/ngày.

\* Kết quả đánh giá tại thời điểm 4 giờ sau gây viêm được trình bày ở bảng 3.3.

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của cao lỏng Thiên cốt đan tới trung bình tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở thời điểm 4 giờ sau gây viêm (n = 8, Mean ± SD).

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Các lô thí nghiệm | n | Trung bình tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở thời điểm 4 giờ sau gây viêm | p |
| Chứng (1) | 8 | 74,94 ± 20,97 | p2,3,4-1 < 0,01  p3,4-2 > 0,05  p3-4 > 0,05 |
| Tham chiếu (2)  (Diclofenac) | 8 | 42,44 ± 8,88 |
| Cao lỏng Thiên cốt đan liều 1 (3) | 8 | 43,77 ± 10,03 |
| Cao lỏng Thiên cốt đan liều 2 (4) | 8 | 43,01± 8,87 |

Kết quả bảng 3.3 cho thấy:

- Tại thời điểm 4 giờ sau tiêm carrageenin, trung bình tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở lô chứng là 74,94%, cao hơn so với tại thời điểm 2 giờ sau gây viêm, chứng tỏ quá trình phù viêm vẫn đang tiếp diễn, chưa giảm đi một cách tự nhiên.

- Tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột tại thời điểm 4 giờ sau tiêm carragenin ở các lô dùng Diclofenac, lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan liều 1 và lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan liều 2 lần lượt là 42,44%, 43,77% và 43,01%, giảm rõ so với lô chứng với p < 0,01.

- So sánh giữa 2 lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan, tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột tại thời điểm 4 giờ sau tiêm carrageenin ở lô dùng liều cao nhỏ hơn so với ở lô dùng liều thấp, cho thấy thuốc có xu hướng đáp ứng theo mức liều, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

- So với lô tham chiếu dùng Diclofenac liều 15mg/kg, độ tăng thể tích bàn chân chuột tại thời điểm 4 giờ sau tiêm carrageenin ở các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05). Cao lỏng Thiên cốt đan dùng liều 13,72g/kg/ngày cũng như liều 27,44g/kg/ngày trên chuột cống trắng có tác dụng ức chế phù viêm, làm giảm sự tăng thể tích phù bàn chân chuột tại thời điểm 4 giờ sau gây viêm tương đương so với khi dùng Diclofenac liều 15mg/kg/ngày.

\* Kết quả đánh giá tại thời điểm 6 giờ sau gây viêm được trình bày ở bảng 3.4.

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của cao lỏng Thiên cốt đan tới trung bình tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở thời điểm 6 giờ sau gây viêm (n = 8, Mean ± SD).

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Các lô thí nghiệm | n | Trung bình tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở thời điểm 6 giờ sau gây viêm | p |
| Chứng (1) | 8 | 65,42 ± 19,95 | p2,3,4-1 < 0,01  p3,4-2 > 0,05  p3-4 > 0,05 |
| Tham chiếu (2)  (Diclofenac) | 8 | 35,48 ± 8,15 |
| Cao lỏng Thiên cốt đan liều 1 (3) | 8 | 37,09 ± 16,09 |
| Cao lỏng Thiên cốt đan liều 2 (4) | 8 | 36,53 ± 10,01 |

Kết quả bảng 3.4 cho thấy:

- Tại thời điểm 6 giờ sau tiêm carrageenin, trung bình tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở lô chứng là 65,42%, nhỏ hơn so với tại thời điểm 2 giờ và 4 giờ sau gây viêm. Ở thời điểm này quá trình phù viêm bắt đầu giảm dần một cách tự nhiên.

- Tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột tại thời điểm 6 giờ sau tiêm carragenin ở các lô dùng Diclofenac, lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan liều 1 và lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan liều 2 lần lượt là 35,48%, 37,09% và 36,53%, giảm rõ so với lô chứng với p < 0,01.

- So sánh giữa 2 lô dùng cao lỏng thiên cốt đan, tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột tại thời điểm 6 giờ sau tiêm carrageenin ở lô dùng liều cao nhỏ hơn so với ở lô dùng liều thấp, cho thấy thuốc có xu hướng đáp ứng theo mức liều, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

- So với lô tham chiếu dùng Diclofenac liều 15mg/kg, độ tăng thể tích bàn chân chuột tại thời điểm 6 giờ sau tiêm carrageenin ở các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05). Cao lỏng Thiên cốt đan dùng liều 13,72g/kg/ngày cũng như liều 27,44g/kg/ngày trên chuột cống trắng có tác dụng ức chế phù viêm, làm giảm sự tăng thể tích phù bàn chân chuột tại thời điểm 6 giờ sau gây viêm tương đương so với khi dùng Diclofenac liều 15mg/kg/ngày.

\* Kết quả đánh giá tại thời điểm 24 giờ sau gây viêm được trình bày ở bảng 3.5.

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của cao lỏng Thiên cốt đan tới trung bình tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở thời điểm 24 giờ sau gây viêm (n = 8, Mean ± SD).

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Các lô thí nghiệm | n | Trung bình tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở thời điểm 24 giờ sau gây viêm | p |
| Chứng (1) | 8 | 9,84 ± 3,75 | p2,3,4-1 < 0,05  p3,4-2 > 0,05  p3-4 > 0,05 |
| Tham chiếu (2)  (Diclofenac) | 8 | 4,81 ± 3,66 |
| Cao lỏng Thiên cốt đan liều 1 (3) | 8 | 5,22 ± 4,73 |
| Cao lỏng Thiên cốt đan liều 2 (4) | 8 | 4,99 ± 3,43 |

Kết quả bảng 3.5 cho thấy:

- Tại thời điểm 24 giờ sau tiêm carrageenin, trung bình tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở lô chứng sinh lý là 9,84%. Ở thời điểm này quá trình phù viêm đã giảm rõ rệt một cách tự nhiên.

- Tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột tại thời điểm 24 giờ sau tiêm carrageenin ở các lô dùng Diclofenac, lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan liều 1 và lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan liều 2 lần lượt là 4,81%, 5,22% và 4,99%, giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng với p < 0,05.

- So sánh giữa 2 lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan, tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột tại thời điểm 24 giờ sau tiêm carrageenin ở lô dùng liều cao nhỏ hơn so với ở lô dùng liều thấp, cho thấy thuốc có xu hướng đáp ứng theo mức liều, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

- So với lô tham chiếu dùng Diclofenac liều 15mg/kg, độ tăng thể tích bàn chân chuột tại thời điểm 6 giờ sau tiêm carrageenin ở các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05). Cao lỏng Thiên cốt đan dùng liều 13,72g/kg/ngày cũng như liều 27,44g/kg/ngày trên chuột cống trắng có tác dụng ức chế phù viêm, làm giảm sự tăng thể tích phù bàn chân chuột tại thời điểm 24 giờ sau gây viêm tương đương so với khi dùng Diclofenac liều 15mg/kg/ngày.

Như vậy, ở tất cả các thời điểm đo sau gây viêm, tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở các lô dùng cao lỏng thiên cốt đan liều 1 cũng như liều 2 đều giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (p < 0,01 tại thời điểm 2, 4 và 6 giờ sau tiêm carrageenin và p < 0,05 tại thời điểm 24 giờ sau tiêm carrageenin), chứng tỏ cao lỏng Thiên cốt đan có tác dụng tốt làm ức chế phù viêm cấp bàn chân chuột tại tất cả các thời điểm đo. Tác dụng ức chế phù viêm cấp bàn chân chuột của cao lỏng Thiên cốt đan có xu hướng đáp ứng theo liều, tại tất cả các thời điểm đo đều cho kết quả liều cao làm giảm phù viêm tốt hơn liều thấp (mặc dù khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê). Tác dụng ức chế phù viêm cấp bàn chân chuột, làm giảm sự tăng thể tích phù bàn chân chuột của cao lỏng Thiên cốt đan liều 13,72g/kg/ngày cũng như liều 27,44g/kg/ngày, tại tất cả các thời điểm đo (2, 4, 6 và 24 giờ sau gây viêm) đều tương đương so với khi dùng Diclofenac liều 15mg/kg/ngày.

Kết quả tổng hợp về mức độ ức chế phù viêm cấp bàn chân chuột (I%) tại các thời điểm đo được trình bày tại bảng 3.6.

Bảng 3.6. Mức độ ức chế phù viêm cấp bàn chân chuột (n = 8, Mean ± SD).

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Mức độ ức chế phù viêm cấp bàn chân chuột (I%) | | | | |
| Thời điểm sau gây phù | Sử dụng cao lỏng Thiên cốt đan liều 1 | Sử dụng cao lỏng Thiên cốt đan liều 2 | Sử dụng lô Diclofenac | p |
| Sau 2 giờ | 42,28 | 44,39 | 43,25 | > 0,05 |
| Sau 4 giờ | 41,59 | 43,38 | 42,61 |
| Sau 6 giờ | 43,30 | 45,76 | 44,15 |
| Sau 24 giờ | 37,98 | 42,79 | 40,74 |
| Mean ± SD | 41,29 ± 2,31 | 44,08 ± 1,30 | 42,69 ± 1,44 |

Kết quả bảng 3.6 cho thấy:

- Tại các thời điểm đo sau gây phù viêm, các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan cũng như lô dùng thuốc tham chiếu Diclofenac đều thể hiện tác dụng ức chế phù viêm. Tác dụng này thể hiện rõ nhất ở thời điểm sau gây phù viêm 2 giờ và 6 giờ.

- Các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan liều 13,72g/kg/ngày và liều 27,44 g/kg/ngày có tác dụng ức chế phù bàn chân chuột tương đương nhau và tương đương với lô dùng Diclofenac liều 15mg/kg thể trọng (p > 0,05).

*b. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây viêm màng bụng chuột cống trắng.*

*\**Kết quả đánh giá tác dụng lên thể tích dịch rỉ viêm được trình bày ở bảng 3.7.

Bảng 3. 7. Tác dụng của cao lỏng Thiên cốt đan lên thể tích dịch rỉ viêm.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Lô chuột nghiên cứu | n | Lượng dịch rỉ viêm (ml) ± SD) | Giá trị p |
| Chứng sinh lý (1) | 8 | 2,91 ± 0,69 | p2,3,4-1 < 0,05  p3,4-2 > 0,05  p3-4 > 0,05 |
| Tham chiếu  (Diclofenac) (2) | 8 | 1,86 ± 0,76 |
| Cao lỏng Thiên  cốt đan liều 1 (3) | 8 | 2,20 ± 0,62 |
| Cao lỏng Thiên  cốt đan liều 2 (4) | 8 | 2,01 ± 0,83 |

Kết quả bảng 3.7 cho thấy:

- So với lô chứng sinh lý, thể tích dịch rỉ viêm ở 2 lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan và lô dùng Diclofenac giảm có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).

- Sự giảm thể tích dịch rỉ viêm ở lô dùng Diclofenac giảm hơn so với 2 lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

- So sánh giữa 2 lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan, lô dùng liều cao có thể tích dịch rỉ viêm nhỏ hơn so với lô dùng liều thấp, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

*\**Kết quả đánh giá tác dụng lên hàm lượng protein dịch rỉ viêm được trình bày ở bảng 3.8.

Bảng 3.8. Tác dụng của cao lỏng Thiên cốt đan lên hàm lượng protein trong dịch rỉ viêm.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Lô chuột nghiên cứu | n | Hàm lượng protein (mg/dl)  ± SD) | p  (so với lô 1) | p  (so với lô 2) |
| Chứng sinh lý (1) | 8 | 37,23 ± 3,60 |  |  |
| Tham chiếu  (Diclofenac) (2) | 8 | 31,95 ± 3,51 | < 0,05 |  |
| Cao lỏng Thiên  cốt đan liều 1 (3) | 8 | 32,71 ± 4,60 | < 0,05 | > 0,05 |
| Cao lỏng Thiên  cốt đan liều 2 (4) | 8 | 32,33 ± 4,43 | < 0,05 | > 0,05 |

Kết quả bảng 3.8 cho thấy:

- So với lô chứng sinh lý, hàm lượng protein trong dịch rỉ viêm ở 2 lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan và lô dùng Diclofenac giảm có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).

- Sự giảm hàm lượng protein trong dịch rỉ viêm ở lô dùng Diclofenac giảm hơn so với 2 lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

- So sánh giữa 2 lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan, lô dùng liều cao có hàm lượng protein trong dịch rỉ viêm nhỏ hơn so với lô dùng liều thấp, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

*\** Kết quả đánh giá tác dụng lên số lượng bạch cầu trong dịch rỉ viêm được trình bày ở bảng 3.9.

Bảng 3.9. Tác dụng của cao lỏng Thiên cốt đan lên số lượng bạch cầu trong dịch rỉ viêm.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Lô chuột nghiên cứu | n | Số lượng bạch cầu (G/l) | p  (so với lô 1) | p  (so với lô 2) |
| Chứng sinh lý (1) | 8 | 12,75 ± 3,75 |  |  |
| Tham chiếu  (Diclofenac) (2) | 8 | 9,06 ± 2,81 | < 0,05 |  |
| Cao lỏng Thiên  cốt đan liều 1 (3) | 8 | 10,24 ± 2,18 | < 0,05 | > 0,05 |
| Cao lỏng Thiên  cốt đan liều 2 (4) | 8 | 9,52 ± 1,91 | < 0,05 | > 0,05 |

Kết quả bảng 3.9 cho thấy:

- So với lô chứng sinh lý, số lượng bạch cầu trong dịch rỉ viêm ở 2 lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan và lô dùng Diclofenac giảm có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).

- Sự giảm số lượng bạch cầu trong dịch rỉ viêm ở lô dùng Diclofenac giảm hơn so với 2 lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

- So sánh giữa 2 lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan, lô dùng liều cao có số lượng bạch cầu trong dịch rỉ viêm nhỏ hơn so với lô dùng liều thấp, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

***3.2.1.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn.***

*- Kết quả tác dụng chống viêm mạn tính của cao lỏng Thiên cốt đan.*

Bảng 3.10. Tác dụng giảm khối lượng u hạt của cao lỏng Thiên cốt đan.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Lô | Khối lượng trung bình u hạt  (mg/100g TTCT) | Tỷ lệ giảm trọng lượng u hạt (%) | p |
| Chứng sinh lý (1) | 29,80 ± 4,59 | 0 % | p2,3,4-1 < 0,01  p3,4-2 > 0,05  p3-4 > 0,05 |
| Tham chiếu  (Prednisolon) (2) | 22,50 ± 3,37 | 24,50 % |
| Cao lỏng Thiên  cốt đan liều 1 (3) | 23,40 ± 2,50 | 21,48 % |
| Cao lỏng Thiên  cốt đanliều 2 (4) | 22,90 ± 3,68 | 23,15 % |

Kết quả bảng 3.10 cho thấy:

- Cả Prednisolon và cao lỏng Thiên cốt đan ở 2 mức liều đều làm giảm khối lượng u hạt khi so với lô chứng sinh lý (p < 0,01).

- Trọng lượng trung bình u hạt ở lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan liều 2 dường như giảm hơn so với ở lô dùng liều 1, tuy nhiên sự khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

- So với lô dùng Prednisolon, tác dụng làm giảm khối lượng u hạt của các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

- *Kết quả tác dụng chống viêm thông qua khối lượng tuyến ức.*

Kết quả đánh giá tác dụng chống viêm thông qua tuyến ức của cao lỏng Thiên cốt đan được thể hiện ở bảng 3.11.

Bảng 3.11. Tác dụng chống viêm thông qua khối lượng tuyến ức của cao lỏng Thiên cốt đan.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Lô chuột nghiên cứu | n | Khối lượng tuyến ức trung bình (mg) | Tỷ lệ giảm trọng lượng tuyến ức so với lô chứng (%) | p |
| Chứng sinh lý (1) | 10 | 0,24 ± 0,05 | 0 % | p2,3,4-1 < 0,05  p3,4-2 > 0,05  p3-4 > 0,05 |
| Tham chiếu (2)  (Prednisolon) | 10 | 0,16 ± 0,06 | 31,67 % |
| Cao lỏng Thiên  cốt đan liều 1 (3) | 10 | 0,19 ± 0,05 | 22,08 % |
| Cao lỏngThiên  cốt đan liều 2 (4) | 10 | 0,18 ± 0,06 | 26,25 % |

Kết quả bảng 3.11 cho thấy:

- Cả Prednisolon và cao lỏng Thiên cốt đan ở 2 mức liều đều làm giảm khối lượng tuyến ức khi so với lô chứng sinh lý (p < 0,05).

- So với lô dùng Prednisolon, tác dụng làm giảm khối lượng tuyến ức của các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

- Khối lượng trung bình tuyến ức ở lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan liều 2 dường như giảm hơn so với ở lô dùng liều 1, tuy nhiên sự khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

**3.2.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau.**

***3.2.2.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau trung ương trên mô hình gây đau bằng phiến nóng.***

Kết quả đ­ược trình bày ở Bảng 3.12.

Bảng 3.12: Ảnh h­ưởng của cao lỏng Thiên cốt đan tới thời gian đáp ứng đau của chuột nhắt trắng (n = 10, mean ± SD).

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Lô nghiên cứu | | Thời gian đáp ứng đau (giây) | | pso sánh trước sau (pb-a) |
| Trước dùng thuốc (a) | Sau dùng thuốc (b) |
| Chứng sinh lý | (1) | 14,23 ±3,30 | 13,56 ± 2,66 | > 0,05 |
| Tham chiếu (Morphin) | (2) | 14,03± 2,07 | 29,05 ± 4,69 | < 0,01 |
| Thiên cốt đan liều 1 | (3) | 13,94 ±3,00 | 16,82 ± 2,89 | < 0,05 |
| Thiên cốt đan liều 2 | (4) | 14,76 ± 2,16 | 18,68 ± 5,48 | < 0,05 |
| pso sánh giữa các lô | | p > 0,05 | p2-1 < 0,01 　　　p3,4-1< 0,05  p3,4-2 < 0,01  p3-4 > 0,05 | ***-*** |

  Kết quả bảng 3.12 cho thấy:

- So sánh giữa các lô tại thời điểm trước dùng thuốc: Thời gian đáp ứng đau của chuột ở các lô nghiên cứu không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

- So sánh giữa các lô tại thời điểm sau dùng thuốc: Thời gian đáp ứng đau của chuột ở lô dùng Morphin kéo dài rõ rệt so với lô chứng sinh lý (p < 0,01). Thời gian đáp ứng đau của chuột ở các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan cũng kéo dài hơn có ý nghĩa thống kê so với ở lô chứng sinh lý với p < 0,05, tuy nhiên còn thua kém so với lô dùng Morphin (p < 0,01).

- So sánh trong từng lô tại thời điểm sau dùng thuốc so với trước dùng thuốc: Các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan có thời gian đáp ứng đau của chuột dài hơn có ý nghĩa thống kê với p < 0,05, trong khi lô dùng Morphin thời gian đáp ứng đau của chuột dài hơn có ý nghĩa thống kê với p < 0,01.

***3.2.2.2.* Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau ngoại biên.**

*a. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau trên tổ chức viêm của cao lỏng Thiên cốt đan.*

Tác dụng giảm đau trên bàn chân chuột cống trắng gây viêm phù bằng carrageenin của cao lỏng Thiên cốt đan được trình bày ở bảng 3.13.

Bảng 3.13: Ngưỡng đau của tổ chức viêm cấp bàn chân chuột (n = 8).

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Lô thử nghiệm | Ngưỡng đau tại các thời điểm sau uống thuốc | | | | | | | |
| 30 phút | | 60 phút | | 90 phút | | 120 phút | |
| **Mean *±* SD** | **% tăng** | **Mean *±* SD** | **% tăng** | **Mean *±* SD** | **% tăng** | **Mean *±* SD** | **% tăng** |
| Chứng sinh lý (1) | 119,6± 35,0 | - | 139,8± 32,1 | - | 130,4 ± 29,1 | - | 123,3 ± 29,8 | - |
| Tham chiếu (Diclofenac) (2) | 153,4± 22,9 | 28,21 | 174,9 ± 24,8 | 25,13 | 162,1 ± 21,9 | 24,35 | 151,3 ± 16,3 | 22,72 |
| Cao lỏng Thiên cốt đan liều 1 (3) | 155,6± 26,6 | 30,09 | 181,6± 30,6 | 29,96 | 169,3± 26,2 | 29,82 | 157,6 ± 24,2 | 27,89 |
| Cao lỏng Thiên cốt đan liều 2 (4) | 157,5± 27,0 | 31,66 | 182,8 ± 40,7 | 30,77 | 171,1± 38,6 | 31,26 | 158,0 ± 14,5 | 28,19 |
| p | p2,3,4-1 < 0,05; p3,4-2 > 0,05; p3-4 > 0,05 | | | | | | | |

Kết quả bảng 3.13 cho thấy:

- So với lô chứng sinh lý, tại tất cả các thời điểm đo, các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan cũng như lô dùng thuốc tham chiếu Diclofenac đều thể hiện tác dụng giảm đau, làm tăng ngưỡng đau (p < 0,05).

- Ở tất cả các thời điểm đo, giá trị của tỷ lệ % tăng ngưỡng đau ở lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan liều 2 đều cao hơn so với ở lô dùng liều 1, tuy nhiên chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

- So với lô dùng Diclofenac, ngưỡng đau của các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan không khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

*b. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quặn*

\* Kết quả đánh giá ảnh hưởng của cao lỏng Thiên cốt đan tới thời gian xuất hiện đau quặn của chuột nhắt trắng được thể hiện ở bảng 3.14.

Bảng 3.14: Ảnh hưởng của cao lỏng Thiên cốt đan tới thời gian xuất hiện số cơn đau quặn của chuột nhắt trắng.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Lô nghiên cứu | n | Thời gian xuất hiện đau (giây) | p |
| Chứng sinh lý (1) | 8 | 275,75 ± 65,09 | p2,3,4-1< 0,05  p3,4-2 > 0,05 |
| Tham chiếu (2 | 8 | 358,63 ± 86,34 |
| Cao lỏng Thiên cốt đan liều 1 (3) | 8 | 352,50 ± 54,79 |
| Cao lỏng Thiên cốt đan liều 2 (4) | 8 | 360,75 ± 84,24 |

Kết quả bảng 3.14 cho thấy:

- So với lô chứng sinh lý, các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan và lô dùng thuốc tham chiếu Diclofenac có thời gian xuất hiện đau lớn hơn có ý nghĩa thống kê (p < 0,05). Cao lỏng Thiên cốt đan và thuốc tham chiếu Diclofenac đều thể hiện tác dụng làm thời gian xuất hiện đau quặn muộn hơn so với lô chứng sinh lý.

- So với lô tham chiếu dùng Diclofenac, các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan có thời gian xuất hiện đau sau tiêm acid acetic là tương đương, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05). Với các mức liều dùng trong nghiên cứu, cao lỏng Thiên cốt đan có tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quặn tương đương với Diclofenac liều 20mg/kg cân nặng.

\* Kết quả đánh giá ảnh hưởng của cao lỏng Thiên cốt đan tới số cơn đau quặn của chuột nhắt trắng đếm được trong tổng số 20 phút sau tiêm acid acetic được thể hiện ở bảng 3.15.

Bảng 3.15: Ảnh hưởng của cao lỏng Thiên cốt đan tới số cơn đau quăn của chuột nhắt trắng trong 20 phút sau khi tiêm.

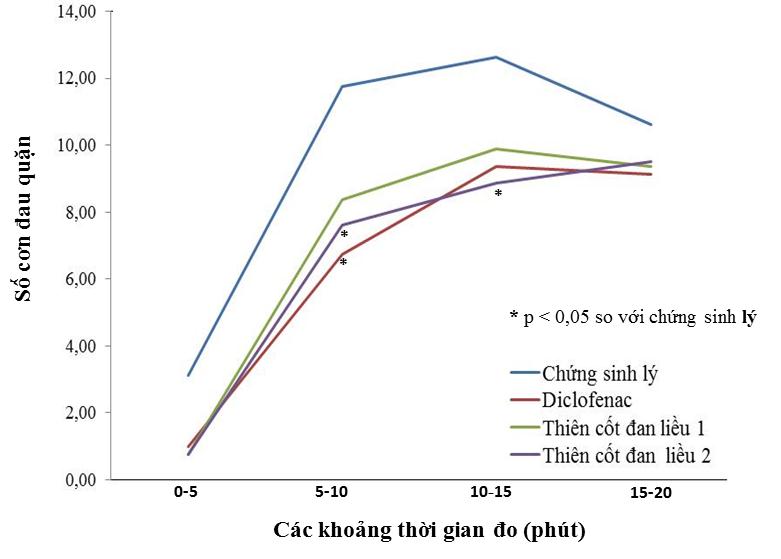
|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Lô nghiên cứu | n | Số cơn đau quặn trong 20 phút sau tiêm acid acetic | p |
| Chứng sinh lý (1) | 8 | 38,13 ± 11,09 | p2,3,4-1< 0,05  p3,4-2 > 0,05 |
| Tham chiếu (2) | 8 | 26,25 ± 6,32 |
| Cao lỏng Thiên cốt đan liều 1 (3) | 8 | 28,38 ± 6,28 |
| Cao lỏng Thiên cốt đan liều 2 (4) | 8 | 26,75 ± 3,85 |

Kết quả bảng 3.15 cho thấy:

- So với lô chứng sinh lý, các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan và lô dùng thuốc tham chiếu Diclofenac có số cơn đau quặn trong 20 phút sau tiêm acid acetic ít hơn có ý nghĩa thống kê (p < 0,05). Cao lỏng Thiên cốt đan và thuốc tham chiếu diclofenac đều thể hiện tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quặn thực nghiệm, làm số cơn đau quặn giảm hơn so với lô chứng sinh lý.

- So với lô tham chiếu dùng Diclofenac, các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan có số cơn đau quặn trong 20 phút sau tiêm acid acetic là tương đương, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05). Với các mức liều dùng trong nghiên cứu, cao lỏng Thiên cốt đan có tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quặn tương đương với Diclofenac liều 20mg/kg cân nặng.

\* Kết quả đánh giá số cơn đau quặn trong từng khoảng thời gian 5 phút sau tiêm acid acetic (0 - 5 phút, 5 - 10 phút, 10 - 15 phút và 15 - 20 phút) được trình bày ở hình 3.1.

****

Hình 3.1. Số cơn đau quặn của các lô nghiên cứu đo được ở mỗi khoảng thời gian 5 phút sau tiêm acid acetic.

Kết quả hình 3.1 cho thấy:

- Trong cả 4 khoảng thời gian đo, số cơn đau quặn ở các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan và lô tham chiếu luôn nhỏ hơn so với lô chứng sinh lý.

- Ở lô dùng thiên cốt đan liều 1, số cơn đau quặn trung bình của chuột tại các khoảng thời gian đo đều giảm hơn lô chứng sinh lý, tuy nhiên sự khác biệt này chưa đạt ý nghĩa thống kê. Ở lô dùng cao lỏng thiên cốt đan liều 2, số cơn đau quặn trung bình của chuột tại các khoảng thời gian đo đều giảm hơn lô chứng sinh lý và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê tại hai khoảng thời gian đo là 5 - 10 phút và 10 - 15 phút. Ở lô dùng Diclofenac số cơn đau quặn trung bình của chuột tại các khoảng thời gian đo đều giảm hơn lô chứng sinh lý và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê tại một khoảng thời gian đo là 5 - 10 phút.

Khi tách ra trong từng khoảng thời gian ngắn 5 phút sau tiêm acid acetic, khả năng đạt ý nghĩa thống kê khi so sánh giữa các lô sẽ khó đạt hơn do số cơn đau đếm được trên từng chuột ở mỗi khoảng thời gian ngắn này sẽ dao động nhiều hơn so với khi đếm trên cả khoảng thời gian dài 20 phút. Tuy nhiên kết quả trên cho thấy xu hướng đáp ứng theo liều dùng của cao lỏng Thiên cốt đan. Ở mức liều dùng lớn hơn, cao long Thiên cốt đan có xu hướng thể hiện tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quặn tốt hơn.

**CHƯƠNG 4**

**BÀN LUẬN**

**4.1. Về độc tính cấp của cao lỏng Thiên cốt đan.**

Kết quả nghiên cứu độc tính cấp đương uống của cao lỏng Thiên cốt đan trên chuột nhắt trắng cho thấy với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24 giờ là 300,0g dược liệu khô/kg thể trọng (chia ra thành 3 lần, mỗi lần 0,2ml) các chuột vẫn khỏe mạnh, lông mượt, mắt trong, ăn uống và hoạt động bình thường. So với liều có hiệu quả (chống viêm, giảm đau, mục 3.3, 3.5, 3.7, 3.15) trên chuột nhắt trắng là 23,52g/kg thể trọng, liều 300,0g/kg thể trọng gấp 12,76 lần. Như vậy chuột đã được cho uống mức liều gấp 12,76 lần mức liều dự kiến có hiệu quả, các chuột vẫn khỏe mạnh, lông mượt, mắt trong, ăn uống và hoạt động bình thường, không có chuột nào chết. Một chất được xem là có khoảng an toàn điều trị tốt khi LD50 lớn hơn 10 lần so với liều có tác dụng (liều điều trị). Với cao lỏng Thiên cốt đan, chuột đã uống đến mức liều gấp 12,76 lần mức liều có hiệu quả mà không phát hiện thấy biểu hiện của độc tính cấp, không có chuột nào chết, chứng tỏ cao lỏng Thiên cốt đan có tính an toàn cao.

Kết quả của chúng tôi phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả trong nước như Trương Thị Huyền, Trần Thanh Tùng, Nguyễn Tiến Phượng khi nghiên cứu độc tính của bài thuốc GT1, Cốt toái bổ, Cốt khí củ có tác dụng chống viêm giảm đau của các dược liệu [23], [33], [39].

**4.2. Về tác dụng chống viêm, giảm đau của cao lỏng Thiên cốt đan.**

***a. Về tác dụng chống viêm.***

Bài thuốc Thiên cốt đan gồm 5 dược liệu: Dóng xanh, Hy Thiêm, Thổ Phục Linh, Dây đau xương và Ngưu tất. Cả 5 dược liệu này đều đã được sử dụng nhiều trong điều trị các chứng viêm đau của bệnh viêm xương khớp, trong đó Thổ phục linh, Hy thiêm và Ngưu tất là những vị thuốc có tần suất sử dụng nhiều trong các bài thuốc chữa thấp khớp trong y học cổ truyền Việt Nam [18]. Nghiên cứu của Đoàn Thanh Hiền và Đỗ Trung Đàm năm 1996 [22] đã thống kê được 316 bài thuốc chữa thấp khớp có in trong các sách, tạp chí xuất bản ở Việt Nam, trong đó có 216 bài thuốc dùng đường uống, 38 bài thuốc xoa bóp trong y học cổ truyền Việt Nam và 62 bài thuốc trong y học cổ truyền Trung Quốc. Trong số 216 bài thuốc chữa thấp khớp dùng uống thì tần số xuất hiện của Thổ phục linh là 55, chiếm tỷ lệ 25,5%, chỉ kém cỏ xước tần số là 56, chiếm tỷ lệ 25,9%, thứ ba mới đến Hy thiêm là 50, chiếm tỷ lệ 23,1%. Tần số xuất hiện của Ngưu tất là 31, có lẽ do trước đây phải nhập Ngưu tất của Trung Quốc nên việc sử dụng có ít hơn, vì Cỏ xước và Ngưu tất được nhiều thầy thuốc cổ truyền dân tộc dùng thay thế cho nhau. Nếu tính gộp cả Cỏ xước và Ngưu tất thì tần số sẽ là 87, chiếm tỷ lệ 40,3% trong các bài thuốc. Sự phối hợp của các dược liệu này với nhau cũng được thấy ở trong nhiều bài thuốc. Điển hình là bài thuốc thấp khớp SASP - 5221 gồm Hy thiêm, Ngưu tất, Thổ phục linh và Lá lốt đã được đưa vào chương trình nghiên cứu khoa học cấp nhà nước với mã số 64 - 01 trong các năm 1982 - 1986 [17], [18]. Nghiên cứu thực nghiệm đã chứng minh có tác dụng chống viêm cấp mạnh trên mô hình gây phù bằng cao lanh ở chuột cống trắng, tác dụng chống viêm mạn khá trên mô hình gây u hạt bằng amiant ở chuột cống trắng, làm giảm hàm lượng serotonin là một chất trung gian gây viêm, làm tăng hàm lượng Dopamin và Noradrenalin là những chất điều hòa viêm. Nghiên cứu lâm sàng của Phạm Khuê và Trần Thúy đã thử nghiệm trên 242 bệnh nhân bị các thể thấp khớp khác nhau và đã thu được kết quả tới 83%, trong đó tốt có 29% và khá 54%. Bài thuốc Thiên cốt đan với sự phối hợp của các dược liệu thường dùng trong điều trị viêm đau xương khớp, trên thực tế lâm sàng bước đầu điều trị tại khoa y học cổ truyền Bệnh viện đa khoa huyện Phú Xuyên chúng tôi cũng thu nhận được những hiệu quả tốt. Trong nghiên cứu này chúng tôi tến hành đánh giá một cách tương đối đầy đủ tác dụng chống viêm của cao lỏng Thiên cốt đan trên các mô hình chống viêm cấp (mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin, mô hình gây viêm màng bụng), mô hình chống viêm mạn (ức chế sự hình thành u hạt) và đánh giá tác dụng chống viêm thông qua tuyến ức [56]. Đây là những mô hình dược lý kinh điển được các tác giả sử dụng nhiều trong đánh giá tác dụng chống viêm của các chế phẩm [13], [19], [23], [29], [33], [34], [37], [38], [39], [41], [42].

Với mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin, chất gây kích thích viêm (carrageenin) có bản chất là Polysaccharide gần giống với cấu trúc vỏ vi khuẩn, vì vậy đáp ứng miễn dịch của cơ thể chủ yếu là đáp ứng không đặc hiệu với sự tham gia chủ yếu của đại thực bào, bạch cầu đa nhân trung tính. Biểu hiện của quá trình viêm này là giãn mạch, bạch cầu xuyên mạch, tăng tiết các autacoid, như [nitric oxide](http://en.wikipedia.org/wiki/Nitric_oxide), [histamine](http://en.wikipedia.org/wiki/Histamine), [serotonin](http://en.wikipedia.org/wiki/Serotonin), kinin, các prostaglandin..., là những chất trung gian thần kinh hoặc điều hòa thần kinh. Tác dụng chống phù viêm ở giai đoạn đầu (0 - 2 giờ) được xem là tác dụng ức chế các chất trung gian amino acid (histamin, serotonin) và hoạt tính ở giai đoạn sau (4 - 24 giờ) được xem là tác dụng ức chế các dẫn xuất của acid arachidonic, chủ yếu là các prostaglandin và bradykinin [49], [56].

Tương tự mô hình gây phù chân chuột, mô hình gây viêm màng bụng cũng là mô hình đánh giá về tác dụng chống viêm cấp, tập trung đánh giá tác dụng ức chế quá trình tăng tính thấm thành mạch (làm tăng tiết dịch rỉ viêm), ức chế sự di chuyển bạch cầu tới tổ chức viêm.

Mặt khác, quá trình viêm cấp do kháng nguyên là các Polysaccharide còn có sự tham gia của đáp ứng miễn dịch dịch thể do các lympho bào B đảm nhận. Các kháng nguyên không phụ thuộc tuyến ức như Polysaccharide khi vào cơ thể sẽ được các lympho bào B nhận diện và tự sản xuất kháng thể đặc hiệu mà không cần sự trợ giúp của các lympho bào T. Diclofenac sodium là thuốc chống viêm không có nhóm steroid, tác dụng chủ yếu chống viêm cấp nên được chọn làm thuốc tham chiếu trong các mô hình viêm cấp [49].

Kết quả thực nghiệm (bảng 3.4, 3.5, 3.6) cho thấy: Cao lỏng Thiên cốt đan cả 2 liều 13,72g dược liệu/kg/ngày và 27,44g dược liệu/kg/ngày đều làm rõ rệt thể tích dịch rỉ viêm trong ổ bụng. Tác dụng của cao lỏng Thiên cốt đan liều 27,44g dược liệu/kg/ngày và Diclofenac sodium liều 15mg/kg tương đương nhau (p > 0,05). So với lô chứng sinh lý hai lô uống cao lỏng Thiên cốt đan liều 27,44g dược liệu/kg/ngày và Diclofenac sodium liều 15mg/kg đều làm giảm rõ rệt số lượng bạch cầu và hàm lượng Protein trong dịch rỉ viêm. Lô uống liều 13,72g dược liệu/kg/ngày có tác dụng làm giảm số lượng bạch cầu và hàm lượng Protein trong dịch rỉ viêm. Như vậy trên mô hình gây viêm màng bụng cao lỏng Thiên cốt đan làm ức chế rõ rệt số lượng bạch cầu trong dịch rỉ viêm, sở dĩ có tác dụng trên do có thể thuốc ức chế quá trình viêm thông qua cơ chế làm giảm tính thấm thành mạch dẫn đến giảm số lượng dịch rỉ viêm, làm giảm tính xuyên mạch của bạch cầu nên làm giảm số lượng bạch cầu.

Trên mô hình gây phù chân chuột, cao lỏng Thiên cốt đan làm giảm phù có ý nghĩa thống kê tại tất cả các thời điểm đó, chứng tỏ có tác dụng ức chế đối với nhiều loại chất trung gian autacoid. Trên mô hình gây viêm màng bụng, cao lỏng Thiên cốt đan làm giảm lượng dịch tiết, giảm hàm lượng protein và số lượng bạch cầu trong dịch chiết. Cả 2 mô hình đều cho thấy cao lỏng Thiên cốt đan liều 13,72g/kg/ngày và liều 27,44 g/kg/ngày có tác dụng ức chế phù bàn chân chuột tương đương nhau và tương đương với lô dùng Diclofenac liều 15mg/kg thể trọng (p > 0,05). Kết quả nghiên cứu phù hợp với các nghiên cứu trước đây công bố về tác dụng của những dược liệu thành phần trong bài thuốc, như tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin, tác dụng kháng histamin của Thổ phục linh, Hy Thiêm, Ngưu tất, Dây đau xương [45], [46].

Trên mô hình gây u hạt thực nghiệm, chất gây kích thích viêm là amiant, là loại kháng nguyên phụ thuộc tuyến ức. Với loại kháng nguyên này, lympho bào B cần sự hỗ trợ của các cytokin (IL - 4, 5, 6, 10) do tế bào Th (T hỗ trợ) hoạt hóa tiết ra mới có thể sản xuất kháng thể. Mặt khác khi kháng nguyên là các amiant sẽ khởi động quá trình đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào là phương thức miễn dịch thứ hai bên cạnh đáp ứng miễn dịch dịch thể nhằm loại trừ kháng nguyên nguyên lạ, do các lympho bào T phụ trách. Mô hình gây u hạt thực nghiệm được xem là một mô hình tin cậy để đánh giá tác dụng trên sự suy giảm chức năng đại thực bào và sự hình thành u hạt, dùng cho đánh giá tác dụng của thuốc ức chế chống lại sự hoạt hóa (activation), thâm nhiễm (inﬁltration) và kết tập (aggregation) của đại thực bào, chống lại quá trình hình thành các tổ chức u hạt trong viêm mạn [54]. Đây là những vấn đề có vai trò trung tâm trong việc hình thành, duy trì và phát triển u hạt trong nhiều tình trạng bệnh. Prednisolon là thuốc chống viêm steroid kinh điển, tác dụng chủ yếu chống viêm mạn tính do ức chế đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào do các lympho bào T đảm nhận, nên được dùng làm thuốc tham chiếu trên mô hình gây viêm mạn tính.

Tác dụng chống viêm thông qua giảm khối lượng tuyến ức được xem như là một mô hình mô phỏng tác dụng chống viêm theo kiểu corticoid. Corticoid là một hormon của vỏ thượng thận có tác dụng ngăn cản hình thành các tế bào miễn dịch nên có thể gây ly giải lympho bào và làm teo tuyến ức. Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.11 cho thấy prednisolon với liều 6 mg/kg đã làm giảm khối lượng tuyến ức rõ sau 3 ngày điều trị. Cao lỏng Thiên cốt đan đã thể hiện rõ tác dụng này, làm giảm khối lượng tuyến ức khi so với lô chứng sinh lý với p < 0,01. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu trước đây công bố về tác dụng làm giảm khối lượng tuyến ức của Ngưu tất, Hy thiêm, Thổ phục linh. Như vậy, cao lỏng Thiên cốt đan có tác dụng chống viêm với cả viêm cấp và viêm mạn, và có tác dụng chống viêm kiểu corticoid.

Tác dụng chống viêm của cao lỏng Thiên cốt đan là kết quả của sự phối hợp tác dụng của các dược liệu thành phần. Nghiên cứu của Đoàn Thanh Hiền và Đỗ Trung Đàm (1996) [22] đã chứng minh Thổ phục linh có cả tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây viêm màng bụng cấp và tác dụng chống viêm mạn trên mô hình gây u hạt, tuy nhiên các tác dụng này chỉ ở mức yếu. Tác giả có bàn luận việc dùng Thổ phục linh trong các bài thuốc chưa thấp khớp là dựa nhiều vào tác dụng thanh nhiệt tiêu độc, và Thổ phục linh cần được dùng cùng nhiều vị thuốc khác chứ không dùng là một vị đơn độc. Trong viêm luôn có yếu tố gây viêm, và cơ thể phải huy động mọi tiềm năng để loại trừ yếu tố gây viêm. Trong quá trình đó, có thể xảy ra tiêu hủy nhiều loại tế bào của cơ thể, nhiều mảnh tế bào, nhiều chất độc với cơ thể phát sinh ra. Tác dụng thanh nhiệt tiêu độc của Thổ phục linh giúp loại trừ chất độc ra khỏi cơ thể, được tác giả bàn luận là có vai trò trong tác dụng chống viêm giảm đau của những bài thuốc chữa thấp khớp. Các nghiên cứu của các tác giả nước ngoài cũng cho thấy vai trò của Thổ phục linh ức chế các chất tiền viêm. Chuan - li Lu và cộng sự (2014) đánh giá tác dụng chống viêm của dịch chiết cồn 70%, giàu phenol của thổ phục linh, cho thấy làm ức chế đáng kể sự tạo thành các “Mediator” tiền viêm như nitric oxide (NO), tumor necrosis factor - 𝛼 (TNF - 𝛼) và interleukin-6 (IL - 6), làm giảm nồng độ huyết thanh các cytokin TNF - α, IL - 1β và IL - 6, polyphenol trong Thổ phục linh cũng được tác giả đánh giá có hoạt tính chống oxy hóa, dọn dẹp gốc tự do. Tác dụng chống oxy hóa của Thổ phục linh được xem là một trong những cơ chế chống viêm của dược liệu này [51]. Lisha Dong và cộng sự (2017) nghiên cứu tác dụng chống viêm của Astilbin, một flavonoid chiết xuất từ Thổ phục linh cho thấy ức chế đáng kể lên biểu hiện của TNF - α, IL - 1β, và IL - 6 mRNA [53]. Việc sử dụng Thổ phục linh trong bài thuốc Thiên cốt đan bản thân nó đã tạo ra tác dụng chống viêm giảm đau (tuy không mạnh), đồng thời thông qua vai trò tiêu độc làm hỗ trợ tác dụng giảm viêm đau cho cả bài thuốc. Cao lỏng chế từ Thổ phục linh phối hợp với Ngưu tất và Hy thiêm hoặc Cà gai leo được dùng điều trị thấp khớp đã tỏ ra có tác dụng tốt đối với chứng đau nhức, nhất là với những bệnh khớp không có tiêu chuẩn chẩn đoán và kết quả tốt nhất và tương đối nhanh với đau lưng cấp do lạnh và sang chấn [10], [11], [12], [20], [30], [43].

**b*. Về tác dụng giảm đau.***

**T**ác dụng giảm đau của cao lỏng Thiên cốt đan được đánh giá trên mô hình gây đau tại tổ chức viêm (Randall - Selitto Test), mô hình gây đau quặn (Writhing Tests), và mô hình phiến nóng (Hot plate test).

***Mô hình “phiến nóng” (Hot plate test) (Giảm đau trung ương)***

Đây là mô hình dùng nhiệt tác động vào da. Kết quả nghiên cứu cho thấy:

- So sánh giữa các lô tại thời điểm trước dùng thuốc: Thời gian đáp ứng đau của chuột ở các lô nghiên cứu không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

- So sánh giữa các lô tại thời điểm sau dùng thuốc: Thời gian đáp ứng đau của chuột ở lô dùng Morphin kéo dài rõ rệt so với lô chứng sinh lý (p < 0,01). Thời gian đáp ứng đau của chuột ở các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan cũng kéo dài hơn có ý nghĩa thống kê so với ở lô chứng sinh lý với p < 0,05, tuy nhiên còn thua kém so với lô dùng Morphin (p < 0,01).

- So sánh trong từng lô tại thời điểm sau dùng thuốc so với trước dùng thuốc: Các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan có dài hơn có thời gian đáp ứng đau của chuột dài hơn có ý nghĩa thống kê với p < 0,05, trong khi lô dùng Morphin thời gian đáp ứng đau của chuột dài hơn có ý nghĩa thống kê với p < 0,01.

Như vậy, theo mô hình này cường độ kích thích gây ra cảm giác đau là dùng nhiệt tác động vào da và bộ phận nhận cảm giác đau gồm các loại thụ cảm thể nhận kích thích nhiệt. Khi kích thích bằng nhiệt, có sự dẫn truyền từ ngoại vi về tủy sống, từ tủy sống kích thích lên não, chuột có phản xạ liếm chân sau. Cao lỏng Thiên cốt đan có tác dụng ức chế phản xạ dẫn truyền thần kinh từ ngoại vi về não. Vì vậy, cao lỏng Thiên cốt đan có thể có tác dụng ức chế trung tâm nhận cảm đau theo kiểu Morphin hoặc tăng ngưỡng nhận cảm đau tại các bộ phận nhận cảm giảm đau. Hai thành phần dược liệu trong cao lỏng thiên cốt đan là Hy thiêm và Dây đau xương đã được chứng minh là có tác dụng ức chế thần kinh trung ương gây an thần [45], [46].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của tác giả Nguyễn Tiến Phượng (2000). Nghiên cứu vị thuốc Cốt khí củ liều 4g/kg thể trọng/ngày và 8g/kg thể trọng/ngày cũng cho thấy có tác dụng giảm đau theo mô hình mâm nóng [33], kết quả của chung tôi cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của tác giả Trần Thanh Tung (2003). Nghiên cứu vị thuốc Cốt toái bổ liều 4g/kg thể trọng/ngày cũng cho thấy tác dụng giảm đau theo mô hình mâm nóng [39].

***Mô hình gây đau tại tổ chức viêm (Randall - Selitto Test)***

Thí nghiệm gây đau bằng tác nhân hóa học là thí nghiệm đại diện có ý nghĩa trong việc đánh giá đau và giảm đau có tính chất ngoại vi. Trong các thí nghiệm này, pha đáp ứng đầu tiên là do sự kích thích trực tiếp lên sợi cảm giác, pha đáp ứng muộn hơn là do sự xuất hiện đáp ứng của phản ứng viêm và giải phóng ra trung gian hóa học gây đau.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy:

- So với lô chứng sinh lý, tại tất cả các thời điểm đo, các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan cũng như lô dùng thuốc tham chiếu Diclofenac đều thể hiện tác dụng giảm đau, làm tăng ngưỡng đau (p < 0,05).

- Ở tất cả các thời điểm đo, giá trị của tỷ lệ % tăng ngưỡng đau so với lô chứng sinh lý ở lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan liều 2 đều cao hơn so với ở lô dùng liều 1, tuy nhiên chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

- So với lô dùng Diclofenac, ngưỡng đau của các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan không khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

Như vậy, cao lỏng Thiên cốt đan có tác dụng giảm đau rõ rệt tương tự như Diclofenac, một thuốc giảm đau ngoại vi kinh điển. Theo các nghiên cứu về thành phần hóa học của các dược liệu cao lỏng Thiên cốt đan cho thấy thành phần chính là các flavonoid, thành phần này có tác dụng chống oxy hóa cao. Nhờ tác dụng này sẽ làm giảm gốc tự do, làm giảm sự oxy hóa lớp phospholipid màng tế bào và giảm giải phóng một số chất trung gian hóa học dẫn đến viêm và đau.

Một số tác giả khác cũng sử dụng phương pháp gây đau này để nghiên cứu tác dụng giảm đau của các thảo dược. Theo nghiên cứu của tác giả Nguyễn Trang Thúy nghiên cứu vị thuốc Chặt chìu có thể hiện tác dụng giảm đau [37]. Tác giả Nguyễn Thùy Dương, nghiên cứu vị thuốc Hy thiêm bằng phương pháp giảm đau này cho thấy, Hy thiêm cũng có tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau tại tổ chức viêm [14].

***Mô hình gây đau quặn (Writhing Tests)***

Mô hình gây đau quặn trên chuột nhắt là mô hình được dùng để đánh giá tác dụng giảm đau ngoại vi của các thuốc. Mặc dù mô hình này thiếu tính đặc hiệu nhưng nó vẫn được sử dụng một cách phổ biến do tính đơn giản của nó để sàng lọc, đánh giá tác dụng giảm đau của thuốc.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy:

- So với lô chứng sinh lý, các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan và lô dùng thuốc tham chiếu Diclofenac có thời gian xuất hiện đau lớn hơn và số cơn đau quặn trong 20 phút sau tiêm acid acetic ít hơn có ý nghĩa thống kê (p < 0,05). Cao lỏng Thiên cốt đan và thuốc tham chiếu Diclofenac đều thể hiện tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quặn thực nghiệm, làm thời gian xuất hiện đau muộn hơn và số cơn đau quặn giảm hơn so với lô chứng sinh lý.

- So với lô tham chiếu dùng Diclofenac, các lô dùng cao lỏng Thiên cốt đan có thời gian xuất hiện đau và số cơn đau quặn trong 20 phút sau tiêm acid acetic là tương đương, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05). Với các mức liều dùng trong nghiên cứu, cao lỏng Thiên cốt đan có tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quặn tương đương với Diclofenac liều 20mg/kg cân nặng.

Acid acetic là nguyên nhân gián tiếp gây giải phóng bradykinin, serotonin, histamin và các prostaglandin, chính những chất này gây ra đáp ứng đau quặn [50]. Tác dụng giảm đau quặn có thể do sự ức chế sự tổng hợp của một số chất trung gian gây viêm như TNF - α, IL - 1β, IL - 6, và PGE2. Như vậy, trên mô hình gây đau quặn bằng acid acetic để đánh giá tác dụng giảm đau ngoại vi, cao lỏng Thiên cốt đan thể hiện tác dụng khá tốt qua đó đánh giá tác dụng giảm đau.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự một số nghiên cứu về tác dụng giảm đau ngoại biên của dược liệu khác. Theo nghiên cứu của tác giả Trương Thị Huyền về nghiên cứu bài thuốc GT1, khi dùng liều tương đương với liều trên lâm sàng và liều gấp 3 liều dùng trên lâm sàng uống trong 4 tuần liên tục cũng thể hiện tác dụng giảm đau có ý nghĩa thống kê khi nghiên cứu bằng phương pháp gây đau quặn bằng acid acetic ở các thời điểm 0 - 5 phút, 10 - 15 phút, 15 - 20 phút, 20 - 25 phút so với lô chứng [23].

Cũng theo nghiên cứu tác giả Nguyễn Tiến Phượng, nghiên cứu vị thuốc Cốt khí củ bằng phương pháp giảm đau này cho thấy, Cốt khí củ cũng có tác dụng làm số cơn đau quặn của chuột nhắt trắng [33].

Như vây theo chung tôi nghĩ, cao lỏng Thiên cốt đan thể hiện rõ cả tác dụng giảm đau ngoại vi (trong thử nghiệm Randall - Selitto Test và Writhing Tests) và cả tác dụng giảm đau trung ương (trong thử nghiệm Hot plate test). Tác dụng giảm đau ngoại vi có thể do cơ chế ức chế các prostaglandin và các chất trung gian hóa học khác như histamin, bradykinin, đồng thời có vai trò của tác dụng chống viêm làm giảm phù nề, chèn ép. Tác dụng giảm đau trung ương có thể có vai trò của tác dụng an thần của Hy thiêm và Dây đau xương.

***Chống viêm, giảm đau theo Y học cổ truyền***

Bài về bài thuốc Thiên cốt đan theo đau theo y học cổ truyền

Theo y học cổ truyền viêm và đau được mô tả trong phạm vi của Chứng tý là một trong những chứng chủ yếu của y học cổ truyền. Tý đồng âm với Bí, tức bế tắc lại không thông. Không thông mới gây đau nên gọi là thống do bất thông. Không thông mới gây ra tắc khí, tắc khí mới dẫn tới ứ huyết ứ dịch gây đau vì khí huyết song hành. Khí tắc thì huyết ứ, huyết ứ dẫn tới khí tắc bế là vậy. Tý vừa được dùng để diễn tả biểu hiện của bệnh như là tình trạng đau, tê, mỏi, nặng, sưng, nhức, buốt..., ở da thịt, khớp xương, vừa được dùng để diễn tả tình trạng bệnh sinh là sự bế tắc không thông của kinh lạc, khí huyết. Vì vây khi chữa bệnh về chứng tý, các phương pháp chữa đều nhằm lưu thông khí huyết ở cân, cơ, xương, lạc để đưa tà khí (phong - hàn - thấp - nhiệt) ra ngoài, đồng thời bồi bổ khí huyết, bồi bổ can thận.

Kế thừa bài thuốc nghiệm phương của đồng bào dân tộc dao đỏ có tác dụng chữa các bệnh lý cơ, xương, khớp được áp dụng chữa bệnh cho nhân dân mang lại hiệu quả tốt dựa trên cơ sở lý luận y học cổ truyền chung tôi xây dựng bài thuốc Thiên cốt đan để điều trị chống viêm, giảm đau

Bài thuốc Thiên cốt đan gồm 5 dược liệu: Dóng xanh, Hy Thiêm, Thổ phục linh, Dây đau xương và Ngưu tất. Trong bài thuốc này

Dóng xanh vị cay, hơi chua, tính bình, có tác dụng hoạt huyết, khứ ứ, trừ phong thấp, là vị thuốc quân.

Thổ phục linh vị ngọt, nhạt, tính bình, và hai kinh can và vị có tác dụng trừ phong thấp, lợi gân cốt, chữa đau xương, giải độc, lợi thấp, làm thần.

Hy thiêm vị đắng, tính hàn, hơi có độc, qui vào hai kinh can và thận có tác dụng khu phong thấp, hoạt huyết, trừ tê, lợi gân cốt, giảm đau

Hai vị thuốc Thổ phục linh và Hy thiêm hỗ trợ cho vị thuốc Dóng xanh làm tăng tác dụng của vị thuốc Dóng xanh được dùng làm thần

Dây đau xương vị đắng, bình vào kinh can, có tác dụng khu phong trừ thấp, thư cân hoạt lạc, làm sứ.

Ngưu tất vị đắng chua, tính bình, qui hai kinh can thận, có tác dụng hoạt huyết, hành ứ, bổ can thận, mạnh gân cốt, đuổi tà phù chính, dẫn thuốc qui kinh can thận, vừa làm tá vừa làm sứ.

Cả bài thuốc bài thuốc Thiên cốt đan có công hiệu hoạt huyết, khu phong trừ thấp, mạnh gân cốt.

Các vị thuốc của bài thuốc Thiên cốt đan có ba vị tính đắng, một vị tính chua trong khi hầu hết các vị thuốc có tính bình, một vị tính hàn nên bài thuốc này khí ít vị nhiều, tính trầm giáng lớn hơn tính thăng. Điều này có nghĩa với bài thuốc tính âm nhiều hơn dương nên khả năng ức chế lớn hơn khả năng kích thích. Trong khi đó đau và viêm là hai thể dù do bế tắc nhưng bản chất là sự rối loạn chuyển hóa, tích nhiệt nên tính kích thích mạnh hơn tính ức chế. Bài thuốc Thiên cốt đan gồm 3 vị hoạt huyết là dóng xanh, hy thiêm, ngưu tất. Khi có thêm vị cay của Dóng xanh làm cho Thiên cốt đan tăng tác dụng hoạt huyết, mà huyết hành thì phong tự diệt, kèm với tính lợi thấp của Hy thiêm và Thổ phục linh làm cho tà nhiệt trong viêm đau của xương khớp bị tiêu tán.Do đó, bài thuốc Thiên cốt đan sẽ giúp cơ thể giải tỏa tính kích thích của các chứng viêm và đau. Vì vậy, trên lâm sàng bài thuốc Thiên cốt đan có tác dụng giảm đau chống viêm có hiệu quả tốt.

Mặt khác, hầu hết các vị thuốc trong Thiên cốt đan đều quy kinh can, thận. Theo y học cổ truyền can chủ cân, bài độc, thận chủ cốt tủy, tiết lợi. Do vậy, bài thuốc Thiên cốt đan rất thích hợp để thanh nhiệt, giải độc, trừ thấp, khỏe gân cốt. Nói cách khác, bài thuốc Thiên cốt đan tác dụng tốt với việc bảo vệ xương khớp, bài trừ thấp ứ (do rối loạn chuyện hóa ở khớp) ở xương khớp mạnh mẽ. Bài này chữa bệnh xương khớp đúng là theo Toàn trị pháp trong tứ thập cửu pháp.

**KẾT LUẬN**

Qua các kết quả nghiên cứu trên mô hình thực nghiệm với cao lỏng Thiên cốt đan, chúng tôi đưa ra một số kết luận sau:

**5.1. Có tính an toàn cao.**

Chưa tìm thấy LD50 của cao lỏng Thiên cốt đan theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Với liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24h là 300,0g dược liệu khô/kg thể trọng (gấp 12,76 lần mức liều có tác dụng giảm đau chống viêm trên chuột nhắt trắng) không xuất hiện độc tính cấp.

**5.2. Có tác dụng chống viêm và giảm đau của trên thực nghiệm.**

Cao lỏng Thiên cốt đan có tác dụng chống viêm cả viêm cấp, viêm mạn, đồng thời có tác dụng chống viêm kiểu corticoid và tác dụng giảm đau rõ rệt.

**5.2.1. Tác dụng chống viêm.**

***a. Tác dụng chống viêm cấp***

Ở cả 2 liều 13,72g/kg/ngày và 27,44g/kg/ngày trên chuột cống trắng có tác dụng trên cả mô hình gây phù chân chuột (làm giảm thể tích chân phù) và mô hình viêm màng bụng (làm giảm thể tích dịch rỉ viêm, giảm hàm lượng protein và số lượng bạch cầu trong dịch rỉ viêm), tương đương với Diclofenac sodium liều 15mg/kg.

***b. Tác dụng chống viêm mạn***

Ở cả 2 liều 23,52g/kg/ngày và 47,04g/kg/ngày có tác dụng làm giảm khối lượng u hạt so với chứng (p < 0,01) trên mô hình gây u hạt bằng amiant ở chuột nhắt trắng, tương đương với Prednisolon 5mg/kg/ngày.

Ở cả 2 liều 15,68g/kg/ngày và 31,36g/kg/ngày có tác dụng làm teo tuyến ức so với chứng (p < 0,05) ở chuột cống đực non, tương đương với Prednisolon 6mg/kg/ngày.

**5.2.2. Tác dụng giảm đau**

Có tác dụng giảm đau cả ngoại vi và trung ương, cụ thể:

+ Ở liều 13,72g/kg/ngày và 27,44g/kg/ngày trên chuột cống trắng có tác dụng giảm đau trong thử nghiệm Randall - Selitto Test, làm tăng ngưỡng đau, tương đương với Diclofenac sodium liều 15mg/kg.

**+** Ở liều 23,52g/kg/ngày và 47,04g/kg/ngày trên chuột nhắt trắng có tác dụng giảm đau trong thử nghiệm gây đau quặn (Writhing Tests), làm trễ thời gian xuất hiện đau và giảm số cơn đau, tương đương với Diclofenac sodium liều 20 mg/kg.

**+** Ở liều 23,52g/kg/ngày và 47,04g/kg/ngày trên chuột nhắt trắng có tác dụng giảm đau trong thử nghiệm phiến nóng (Hotplate Tests), làm tăng thời gian đáp ứng (là thời gian từ khi đặt chuột lên phiến nóng đến khi chuột liếm chân sau).

**KIẾN NGHỊ VÀ ĐỀ XUẤT**

Qua nghiên cứu trên thực nghiệm cho thấy đây là bài thuốc có tính an toàn cao và có tác dụng giảm đau chống viêm tốt trên thực nghiệm.

- Tiếp tục nghiên cứu độc tính bán trường diễn.

- Tiếp tục nghiên cứu cơ chế tác dụng dọn gốc tự do và mô hình cắt thượng thận.

- Tiếp tục nghiên cứu tác dụng của bài thuốc Thiên cốt đan theo quy định trên tiền lâm sang và bước đầu trên lâm sàng để đáp ứng yêu cầu điều trị bệnh xương khớp.

- Tiếp tục nghiên cứu tác dụng của bài thuốc Thiên cốt đan trên các dạng bào chế khác nhau mà tiện lợi hơn khi sử dụng cho người bệnh và có thể thương mại sản phẩm.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

**TÀI LIỆU TIẾNG VIỆT**

1. **Bộ môn Miễm dịch - Sinh lý bệnh - Trường Đại học Y Hà Nội** (2013), “*Sinh lý bệnh quá trình viêm*”, Sinh lý bệnh học, NXB Y học, tr 19 - 29.
2. **Bộ môn Sinh lý học - Học viện Quân Y** (2007), *Sinh lý học*, tập I, Nhà xuất bản Quân đội nhân dân, tr 87 - 90.
3. **Bộ môn sinh lý học - Trường Đai học Y Hà Nội** (1996), “*Sinh lý đau*”, Chuyên đề sinh lý học tập 1, Nhà xuất bản Y học, tr 138 - 152.
4. **Bộ Y tế** (2016), *Dược lý học*, Nhà xuất bản giáo dục, tr 128 - 162.
5. **Bộ Y tế** (2012), *Dược lý học tập II*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr 264 - 277.
6. **Bộ Y tế** (2007), *Quyết định số 01/QĐ-BYT* về việc ban hành “quy định về thuốc thử trên lâm sàng”.
7. **Bộ Y tế** (2006), *Dược học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
8. **Bộ Y tế** (2010), *Dược điển Việt Nam IV*, NXB Y học.
9. **Bộ Y tế** (2015), *Sinh lý bệnh và miễn dịch*, Nhà xuất bản Y học, tr 129 - 142, 393 - 404.
10. **Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam** (2006), Tập I, II, Nhà xuất bản khoa học kỹ thuật, tr 430 - 434, 636 - 638, 883 - 886, 1036 - 1039.
11. **Tào Duy Cần** (2007), *Cây thuốc vị thuốc bài thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Hà Nội, 115 - 116, 159 - 160, 215 - 216, 494 - 495.
12. **Võ Văn Chi** (2012), *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Tập I, II, Nhà xuất bản y học, Hà Nội, tr 332 - 333,738 - 739, 900 - 901, 1180 - 1182.
13. **Bùi Thùy Dương** (2003), *Nghiên cứu một số tác dụng dược lý và độc tính cấp của hoa kim ngân*, Luận văn tốt nghiệp Bác sỹ Y khoa, Trường Đại học Y Hà Nội.
14. **Nguyễn Thuỳ Dương** (2012), *Nghiên cứu tác dụng trên bệnh gút thực nghiệm của cây hy thiêm*, Luận án tiến sỹ Dược học, viện Dược liệu.
15. **Đỗ Trung Đàm** (2014), *Phương pháp xác định độc tính của thuốc*. Nhà xuất bản y học.
16. **Đỗ Trung Đàm** (2001), “*Phương pháp ngoại suy liều có hiệu quả tương đương giữa người và động vật thí nghiệm*”, Tạp chí Dược, số 2/2001.
17. **Đỗ Trung Đàm** (1993), “*Tác dụng của SASP -5221 trên hàm lượng serotomin ở não chuột cống trắng*”, Tạp chí Dược học số 1/1993, tr 21 - 23.
18. **Đỗ Trung Đàm** (1996), “*Tác dụng của bài thuốc chữa thấp khớp SASP-5221 trên hàm lượng Dopamin ở não chuột cống trắng*”, Tạp chí Dược học số 7/1996, tr 4 - 9.
19. **Vũ Văn Điền và các cộng sự** (2009), “*Nghiên cứu tác dụng chống viêm đa khớp của vị thuốc ngưu tất*”, Tạp chí Dược liệu số 3/2009 tr 166 - 169.
20. **Nguyễn Trung Hòa** (2012), *Đông Y toàn tập*, Nhà xuất bản Thuận Hòa, tr 980, 1022, 1073 - 1074.
21. **Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam**, (2015), Bài giảng 100 tính vị cơ bản thuốc ta của lương y Nguyễn Kiều, Nhà xuất bản Y học, tr 36.
22. **Đoàn Thanh Hiền, Đỗ Trung Đàm** (1996), *Nghiên cứu vai trò của Thổ phục linh trong các bài thuốc chữa thấp khớp*, Tạp chí Dược học - số 8/1996 tr 15 - 18.
23. **Trương Thị Huyền** (2011), *Nghiên cứu tính an toàn và tác dụng giảm đau, chống viêm của bài thuốc GT1 trên thực nghiệm*, Luân văn thạc sỹ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
24. **Nguyễn Thế Khánh, Phạm Tử Dương (2001),** *Xét nghiệm sử dụng trong lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học.
25. **Khoa Y học cổ truyền - Trường đại học Y Hà Nội** (2011), *Bài giảng YHCT tập II*, Nhà xuất bản Y học, tr 160 - 164.
26. **Khoa Y học cổ truyền - Trường Đại học Y Hà Nội** (2006), *chuyên đề nội khoa Y học cổ truyền,* Nhà xuất bản Y học, tr 478 - 485.
27. **Nguyễn Nhược Kim** (2015), *Vai trò của Y học cổ truyên và kết hợp Y học hiện đại trong điều trị một số bệnh xương khớp mạn tính*, Nhà xuất bản Y học, tr 22 - 54.
28. **Trần Văn Kỳ** (2015), *Dược học cổ truyền toàn tập,* Nhà xuất bản Đà Nẵng, tr 148 - 149, 230 - 233, 442 - 444.
29. **Lương Trần Khuê, Đào văn Phan** (1998), “*Đánh giá tác dụng của bài thuốc chữa trĩ hòe hoa tán trên thực nghiệm*”, Tạp chí nghiên cứu Y học Trường Đại học Y Hà Nội số 4/1998, tr 39 - 44.
30. **Đỗ Tất Lợi** (2016), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Thời Đại.
31. **Đào Văn Phan** (2012), *Các thuốc giảm đau - chống viêm*, Nhà xuất bản Y học.
32. **Đào Văn Phan, Nguyễn Gia Chấn và các cộng sự** (1978), *Nghiên cứu chiết xuất và thử tác dụng chống viêm của tomatin lấy từ cây cà chua ở Việt Nam*, Tạp chí Dược học 1978, tr 3 - 9.
33. **Nguyễn Tiến Phượng** (2000), *Nghiên cứu tác dụng chống viêm, giảm đau của Cốt khí củ trên thực nghiệm*, Luận văn thạc sỹ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
34. **Trần Thị Hồng Phương** và cộng sự (2009), *Nghiên cứu tác dụng giảm đau và chống viêm của Chè tan bổ trung ích khí gia vị trên thực nghiệm*, Tạp chí Y học thực hành - số 3/2009, tr 17 - 20.
35. **Hải Thượng Lãn Ông Lê Hữu Trác** (2014), *Lĩnh nam bản thảo,* Hải thượng y tông tâm lĩnh tập II, tr 510.
36. **Tuệ Tĩnh** (2014), *Tuệ Tĩnh toàn tập*, Nhà xuất bản Y học, tr 23.
37. **Nguyễn Trang Thuý** (2016), “*Nghiên cứu tác dụng và cơ chế chống viêm giảm đau trên thực nghiệm của cây chặt chìu*” Luận án tiến sỹ Dược, viện Dược liệu.
38. **Đào Diệu Thúy** (2005), *Nghiên cứu tác dụng chống viêm, chống oxy hóa của cây thuốc Dây đau xương trên chuột được gây viêm bằng carrageenin*, Luận văn thạc sỹ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
39. **Trần Thanh Tùng** (2003), *Nghiên cứu tác dụng chống viêm, giảm đau và độc tính cấp của Cốt toái bổ*, Luận văn tốt nghiệp Bác sỹ Y khoa, Trường Đại học Y Hà Nội.
40. **Băng Tuyế**t (1976), “*Solamin - thuốc chữa thấp khớp*” Thông tin YHCT số 1/1976, tr 35.
41. **Nguyễn Thế Siển** (2006), “*Nghiên cứu ảnh hưởng của cao quả nhàu lên hoạt động một số enzym chống oxy hóa và trạng thái chống oxy hóa toàn phần trong máu thỏ bị chiếu xạ thực nghiệm*”, Tạp chí Dược học 2/2006.
42. **Nguyễn Quang Vinh, Đỗ Trung Đàm, Nguyễn Thị Dung** (1999), *Nghiên cứu tác dụng giảm đau của Cao thấp khớp II trên mô Hình gây đau thực nghiệm bằng acid acetic*, Luận văn thạc sỹ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
43. **Viện Dược liệu** (1993), *Tài nguyên cây thuốc*, Nhà xuất bản Y học, tr 332 - 335, 574 - 580.
44. **Viện Dược liệu** (2006), *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo*, Nhà xuất bản khoa học kỹ thuật, tr 49 - 63, 139 - 149.
45. **Viện Dược liệu** (1986),**“***công trình nghiên cứu khoa học 1972 - 1986*”, Nhà xuất bản Y học, tr 145 - 154.
46. **Viện Dược liệu** (2001), “*công trình nghiên cứu khoa học 1987 - 2000*”, Nhà xuất bản khoa học kỹ thuật, tr 668 - 671.
47. **Viện Y học cổ truyền Việt Nam** (2000), *Phương pháp bào chế và sử dụng đông dược*, Nhà xuất bản Y học, tr 245 - 246.

**TÀI LIỆU NƯỚC NGOÀI**

1. **Baker, A. K., V. L. H. Hoffmann, & T. F. Meert.** (2002),Dextromehorphan and ketamine potentiate the antinociceptive effects of m - but nor delta - or kappa - opioid agonists in a mouse model of acute pain. Pharmacol., Biochem. Behav. 2002, 74, 73 - 86.
2. **Behrens EM**. (2008), Macrophage activation syndrome in rheumatic disease: What is the role of the antigen presenting cell? Autoimmun Rev, 7 : 305-8.
3. **Bendtzen, K, Hansen, MB, C,** et al (1995), *Cytokines and autoantibodies to cytokimes.* Stem cells, 13, 206.
4. **Chuan - Li Lu, Wei Zhu, Min wang, Xiao-Jie Xu and Chuan - Jian Lu (**2014), *Antioxidant and anti - inflammatory activities of Phenolic-Enriched extracts of Smilac glabra*, Hindawi, volume, Article ID 910438, page 1 - 7.
5. **H.Gerhard Vogel** (2008), (*Drug Discovery and Evaluation*): Pharmacological Assays. Springer.
6. **Lisha Dong, Jinqiu Zhu, Hongzhi Du, Heng Nong, Xicheng He, and Xiaoyu Chen** (2017*), Astilbin from Smilax glabra Roxb. Attenuates inflammatory Response in Complete Freund’s Adjuvant -Induced Arthiritis Rats*, Hindawi, volume, Article ID 8246420, page 1- 9.
7. **Meier R, Schuler W, Desaulles P**. (2008), *On the mechanism of cortisone inhibition of connective tissue proliferation*. Autoimmun Rev; 7: 305 - 8.
8. **Turner A**. (1965), Screening methods in pharmacology, Academic Press, New York and London, pp 60-68.
9. **Vinegar R, Schreiber W, Hugo R**. (1950), *Biphasic development of carrageenin edema in rats*. J Pharmacol Exp Ther 1969; 166: 96 - 103. Experientia 1950;6: 469 - 71.
10. **World Health Organization (2000),** *Working group on the safety and efficacy of herbal medicine*, Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization.
11. **WHO** (1993), Research Guidelines For Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicines, ROWP, Manila, Philippines.

**PHỤ LỤC**

**PHỤ LỤC 1**

Các nguyên liệu trong bài thuốc được dùng dưới dạng nguyên liệu khô và đạt tiêu chuẩn trong Dược điển Việt Nam IV. Bài thuốc được bào chế dưới dạng cao lỏng toàn phần trong nước, 100g dược liệu/100ml cao lỏng (1:1).

***Quy trình bào chế:***

- *Kiểm tra chất lượng*

*-Đổ ngập nước sạch*

*-Đun sôi 1h*

*-Lọc*

Cân theo tỉ lệ bài thuốc 98g

Dược liệu sau chiết 1

Dịch chiết (sắc) lần 1

Dịch chiết lần 2

*-Đổ ngập nước*

*-Đun sôi trong 1h*

*-Lọc*

Tổng số dịch sắc

**Cao lỏng** (1:1) 98ml

*- Cô chân không*

**Dược liệu khô**

(Chế biến theo YHCT)

Dược liệu sau chiết 2

Dịch chiết lần 3

Bã dược liệu (bỏ)

*-Đổ ngập nước*

*-Đun sôi 1h*

*-Lọc*

**PHỤ LỤC 2**

**Các thể lâm sàng và điều trị**

* **Thể phong thấp tý**

\* Triệu chứng lâm sàng: Các khớp và cơ nhục đau mỏi, co duỗi khó khăn, cảm giác nặng nề. Đau có tính chất di chuyển và thường xảy ra ở các khớp nhỏ và nhỡ. Trong đợt bệnh tiến triển các khớp sưng đau, bì phù có cảm giác tê bì. Thời kỳ đầu có biểu hiện sợ gió, phát sốt. Chất lưỡi nhợt, rêu lưỡi mỏng trắng hay nhờn dính. Mạch phù hoãn hoặc nhu hoãn.

\* Pháp điều trị: Khu phong, trừ thấp, thông lạc, chỉ thống.

\* Phương dược: Bài Quyên tý thang (Y học tâm ngộ) gia giảm: tang chi 40g, tần giao 12g, độc hoạt 12g, khương hoạt 12g, đương quy 12g, hải 18 phong đằng 40g, bắc mộc hương 6g, quế chi 10g, xuyên khung 10g, nhũ hương 6g, cam thảo 6g. Tất cả làm thang, sắc uống ngày 01 thang chia 2 lần. Một liệu trình điều trị từ 15 - 30 ngày.

* **Thể hàn thấp tý**

\* Triệu chứng lâm sàng: Các khớp ở chi trên và chi dưới có cảm giác đau, lạnh và nặng nề. Tính chất đau thường cố định, ít di chuyển. Ngày đau nhẹ, về đêm đau nặng, thời tiết lạnh, ẩm đau tăng lên, chườm nóng đỡ đau. Chỗ đau ít sưng nề, tại khớp tổn thương thường không nóng đỏ, co duỗi khó khăn. Chất lưỡi nhợt, rêu lưỡi trắng nhờn, mạch huyền khẩn hay huyền hoãn.

\* Pháp điều trị: Ôn kinh, tán hàn, trừ thấp, thông lạc.

\* Phương dược: Bài thuốc Ô đầu thang (Kim quỹ yếu lược) gia vị: chế xuyên ô 12g, bạch thược 12g, bạch truật 12g, thương truật 16g, ma hoàng 12g, hoàng kỳ 12g, chích cam thảo 12g, đương quy 12g, khương hoàng 12g

* **Thể hàn nhiệt thác tạp**

\* Triệu chứng lâm sàng: Các khớp và cơ nhục sưng, đau. Người cảm giác nóng nhưng tại chỗ khớp đau không nóng. Bệnh nhân cảm thấy sốt, nhưng đo nhiệt độ không cao. Các khớp co duỗi khó khăn, chườm ấm có cảm giác dễ chịu. Các khớp có thể cứng, biến dạng. Thân nhiệt về đêm có thể tăng, miệng khát, nhưng không thích uống nước. Lưỡi đỏ, rêu lưỡi trắng hay lưỡi nhợt, rêu lưỡi vàng. Mạch huyền sác hoặc huyền khẩn.

\* Pháp điều trị: Ôn kinh, tán hàn, thanh nhiệt, trừ thấp.

\* Phương dược: Bài Quế chi thược dược tri mẫu thang (Kim quỹ yếu lược): quế chi 8g, bạch thược 12g, chích cam thảo 8g, ma hoàng 8g, phụ tử chế 8g, bạch truật 12g, tri mẫu 12g, phòng phong 12g, sinh khương 3g.

* **Thế thấp nhiệt tý**

\* Triệu chứng lâm sàng: Các khớp sưng, nóng, đỏ, đau. Người bệnh có cảm giác nặng nề, phát sốt. Miệng khát, nhưng không thích uống nước, phiền táo, bất an. Các khớp co duỗi khó khăn, vận động, đi lại khó. Đại tiện thường táo, đôi khi có thể nát, nước tiểu vàng. Chất lưỡi đỏ, rêu lưỡi vàng nhờn. Mạch nhu sác, hay hoạt sác.

\* Pháp điều trị: thanh nhiệt, trừ thấp, tuyên tý, thông lạc.

\* Phương dược: “Quyên tý thang” ( Y học tâm ngộ) hợp với “Đương quy chỉ thống thang” (Kim Qũy yếu lược) gia giảm: phòng kỷ 12g, xích tiểu đậu 12g, ý dĩ 16g, liên kiều 12g, hoàng cầm 10g, khổ sâm 12g, chi tử 10g, nhân trần 12g, hoạt thạch 12g, đương quy 12g, tần giao 10g, tri mẫu 10g, khương hoạt 16g.

* **Thể nhiệt độc tý**

\* Triệu chứng lâm sàng: Các khớp sưng, nóng, đỏ và đau dữ dội khi thăm khám. Toàn thân phát sốt, thích uống nước mát, chườm lạnh các khớp có cảm giác dễ chịu. Các khớp co duỗi khó khăn, khó vận động. Toàn thân sắc mặt đỏ, nước tiểu đỏ, đại tiện táo. Lưỡi đỏ, rêu lưỡi vàng hay vàng nhờn. mạch hoạt sác hay huyền sác.

\* Pháp điều trị: Thanh nhiệt giải độc, lương huyết, thông lạc.

\* Phương dược: Bài thuốc “Tê giác địa hoàng thang” (Thiên kim phương) gia giảm: thủy ngưu giác 16g, liên kiều 12g, hoàng liên 10g, sinh địa 16g, nhân trần 16g, chi tử 12g, thăng ma 8g, phòng kỷ 16g, kim ngân hoa 16g. Tất cả làm thang, sắc uống ngày 01 thang, chia 2 lần.

* **Thể huyết ứ**

\* Triệu chứng lâm sàng: Các khớp đau nhiều, chỗ đau thường không di chuyển, đau kéo dài, dai dẳng, chỗ đau cự án, tại chỗ sưng. Sắc mặt thường xạm đen, bì phu khô. Miệng khô, không muốn uống nước. Mạch trầm, huyền hay tế sác.

\* Pháp điều trị: Hoạt huyết, hóa ứ, dưỡng cân, thông lạc.

\* Phương dược: Bài thuốc “Thân thống trục ứ thang” (Y lâm cải Thác) hợp với bài “Hoạt lạc giao linh đan” (Thiên kim phương) gia giảm: đào nhân 10g, hương phụ chế 8g, ngũ linh chi 16g, tần giao 10g, đương quy 12g, địa long 5g, một dược 8g, cam thảo 6g, ngưu tất 12g, bạch thược 12g, hồng hoa 10g, mộc qua 16g, đan sâm 16g, kê huyết đằng 16g, xuyên khung 8g. Tất cả làm thang, sắc uống ngày 01 thang chia 2 lần. Liệu trình điều trị từ 7 - 10 ngày.

* **Thể đàm trọc**

\* Triệu chứng lâm sàng: Các khớp sưng, tê, đau. Người bệnh thường hoa mắt, chóng mặt, buồn nôn, khạc ra đờm dãi trong, đầu mặt có cảm giác nặng sưng phù. Ngực và bụng luôn có cảm giác đầy chướng, ăn kém, tâm phiền. Mạch trầm, huyền, hoạt.

\* Pháp điều trị: Hóa đàm, hành khí, thông lạc, quyên tý.

\* Phương dược: “Bán hạ bạch truật thiên ma thang” (Hòa tễ cục phương) phối ngũ với bài “Dương hòa thang” (Ngoại khoa toàn sinh tập) gia giảm: bán hạ chế 12g, bào khương 4g, cam thảo 6g, lộc giác giao 16g, thục địa 12g, bạch giới tử 12g, ma hoàng 8g, phục linh 16g, quất hồng 8g, ý dĩ 16g, đại táo 12g. Tất cả là thang sắc uống ngày 01 thang chia 2 lần. Liệu trình điều trị từ 10 - 15 ngày.

* **Thể đàm ứ**

\* Triệu chứng lâm sàng: Thể này thường thấy ở người bệnh đã mắc bệnh lâu ngày, cơ nhục và các khớp đau mỏi. Chỗ đau cố định không di chuyển. Các khớp sưng nề, teo cơ và cứng khớp, biến dạng khớp. Tay và chân có cảm giác tê bì và nặng nề. Sắc mặt sạm đen và có thể sưng nề. Ngực đầy tức, chất lưỡi tím sẫm, rêu lưỡi trắng nhờn, mạch huyền sác.

\* Pháp điều trị: Hoạt huyết, hành ứ, hóa đàm, thông lạc.

\* Phương dược: Bài thuốc “Song hợp tán” (Y Phương khảo) gia giảm: đào nhân 12g, đương quy 10g, bạch giới tử 16g, bán hạ chế 12g, trúc lịch 8g, xuyên khung 10g, hồng hoa 12g, trần bì 10g, bạch thược 10g, phục linh 16g. Tất cả làm thang, sắc uống, ngày 01 chia 2 lần.

* **Thể khí âm lưỡng hư**

\* Triệu chứng lâm sàng: Các khớp đau, sưng nề, co duỗi khó khăn, biến dạng. Người gầy, sốt nhẹ, khí đoản, tâm phiền, dễ ra mồ hôi, cơ nhục đau mỏi, sau khi vận động thì đau tăng lên. Kèm theo: hoa mắt, chóng mặt, ăn ít, đại tiện nát. Miệng khô nhưng không muốn uống nước. Lưỡi bệu nhờn, chất lưỡi đỏ hoặc có những vết nứt. Rêu lưỡi trắng nhờn hay ít rêu. Mạch trầm tế hoặc tế nhược vô lực.

\* Pháp điều trị: Ích khí dưỡng âm, hoạt huyết thông lạc.

\* Phương dược: Bài thuốc “ Sinh mạch tán” (Nội ngoại thương biện hắc luận) hợp phương với bài thuốc “ Hoàng kỳ quế chi ngũ vật thang” (Kim quỹ yếu lược) gia giảm: nhân sâm 10g, đương quy 12g, cam thảo 6g, mạch môn 10g, hoàng kỳ 16g, ngũ vị tử 12g, quế chi 8g, đại táo 12g, bạch thược 12g. Tất cả làm thang, sắc uống, ngày 01 thang, chia 2 lần. Liệu trình điều trị 7 - 10 ngày.

* **Thể can thận lưỡng hư**

\* Triệu chứng lâm sàng: Chứng Tý kéo dài, bệnh lâu không khỏi. Cân cốt, cơ nhục và các khớp đau, sưng nề. Các khớp vận động khó khăn do cứng khớp, đặc biệt cứng khớp buổi sáng, biến dạng kết hợp với teo cơ. Người bệnh thích nghỉ ngơi, ngại vận động, tay chân không ấm, đau mỏi lưng, gối. Hoặc có cảm giác nóng trong xương, đạo hãn, tự hãn, miêng khát không thích uống nước. Chất lưỡi đỏ hoặc nhợt. Rêu lưỡi mỏng. Mạch trầm tế nhược, hoặc tế sác.

\* Pháp điều trị: Tư bổ can thận

\* Phương dược: Bài thuốc “ Độc hoạt tang ký sinh thang” (Thiên kim phương) gia giảm: độc hoạt 12g, bạch thược 12g, phòng phong 12g, phục linh 12g, quế chi 8g, tần giao 10g, sinh địa 12g, ngưu tất 16g, đảng sâm 12g, đương quy 12g, tang ký sinh 16g, xuyên khung 8g, đỗ trọng 16g, cam thảo 6g, tế tân 6g. Tất cả làm thang, sắc uống, ngày 01 thang, chia 2 lần. Liệu trình điều trị 30 ngày.

**PHỤ LỤC 3**

**ẢNH CÁC VỊ THUỐC**

**Hy thiêm**

**Dóng xanh**



**Thổ phục linh**

**Ngưu tất**



****

**Dây đau xương**

CÁC HÌNH ẢNH NGHIÊN CỨU



Chăm sóc chuột thí nghiệm tại phòng nuôi động vật thực nghiệm, Bộ môn Dược lý, Học viện Quân y



Cho chuột uống thuốc bằng kim cong đầu tù chuyên dụng



Theo dõi thời gian đáp ứng với đau của chuột, là thời gian từ khi đưa chuột lên bản nóng đến khi chuột đưa chân sau lên liếm (Hotplate test)

Theo dõi cơn đau quặn (chuột oằn người, hóp bụng, ép bụng xuống sàn, duỗi 2 chân sau) của chuột nhắt trắng trong thử nghiệm Writhing test



Chuột nhắt trắng sử dụng trong nghiên cứu

Chuột cống trắng sử dụng trong nghiên cứu



Hình ảnh u hạt trong nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn

****

Đo phù chân chuột nghiên cứu tác dụng ức chế viêm cấp

****

Đo ngưỡng đau trong thử nghiệm Randall-Selitto Test