

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG GIẢM ĐAU VÀ BẢO VỆ NIÊM MẠC DẠ DÀY CỦA BÀI THUỐC AN VỊ THANG TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

BS. HOÀNG VĂN NGHĨA
TS. BÙI THANH HÀ - Bệnh viện Quân y 103
BS. CAO THỊ HỒNG DINH
Bệnh viện Đa khoa Văn Đình
PGS.TS. CẦN VĂN MÃO - Học viện Quân y
Phản biện khoa học: PGS.TS. NGUYỄN MINH PHƯƠNG
Phó chủ nhiệm bộ môn Y học Quân binh chủng,
Học Viện Quân Y.

TÓM TẮT: Nghiên cứu tác dụng giảm đau và bảo vệ niêm mạc dạ dày của bài thuốc An vị thang trên chuột nhắt trắng bằng phương pháp mâm nóng và trên chuột cống trắng gây viêm dạ dày bằng Indomethacine. **Kết quả:**

- An vị thang liều 76,8g được liều/kg có tác dụng giảm đau (tăng thời gian phản ứng với kích thích đau bằng nhiệt) gần tương đương với tác dụng tiêm Morphin hydroclorid liều 10 mg/kg.

- An vị thang liều 44,8g được liều/kg có tác dụng giảm viêm loét dạ dày (giảm số ổ loét, mức độ loét, chỉ số loét và tăng tỉ lệ ức chế loét) trên chuột cống gây viêm loét dạ dày bằng Indometacin. Tác dụng giảm viêm loét dạ dày của An vị thang liều 44,8g được liều/kg tương tự như Famotidin liều 50 mg/kg.

Từ khóa: An vị thang, viêm loét dạ dày, giảm đau, bảo vệ niêm mạc dạ dày.

ABSTRACT: Study on the effect of analgesic and gastric mucosal protection of An vị thang remedy on swiss albino mice in hotplate test and in Indomethacine-induced gastritis swiss albino rats. The result indicated that:

- At dose of 76.8 g/kg of body weight, An vị thang extract has analgesic effect (increasing the reaction time with thermal pain stimulation) is nearly equivalent to effect of Morphin hydrochloride injection at dose of 10 mg/kg of body weight.

- At dose of 44.8 g/kg of body weight, An vị thang extract reduced gastric ulcer (reduce the number of ulcers, average of severity score, ulcer index and increase the percentage protective ratio) in Indomethacine-induced gastritis swiss albino rats. The effect anti-gastric ulcer of An vị thang extract at dose of 44.8 g/kg of body weight is similar to Famotidin at dose of 50 mg/kg of body weight.

Keywords: An vị thang, gastric ulceration, pain relief, anti-gastric ulcer.

Chịu trách nhiệm nội dung: PGS.TS. Cần Văn Mão, Email: canvanmao@gmail.com

Ngày nhận bài: 26/4/2014 ; mời phản biện khoa học: 10/5/2019 ; chấp nhận đăng: 30/5/2019.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ.

Trên thế giới, đã có rất nhiều nghiên cứu về nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh và điều trị bệnh loét dạ dày (DD), song đến nay, vẫn còn nhiều vấn đề chưa được làm sáng tỏ [1]. Hầu hết các nghiên cứu đều cho rằng cơ chế bệnh sinh của bệnh loét DD là do mất cân bằng giữa yếu tố gây loét và yếu tố bảo vệ (chống loét) DD [2], [3], [4]. Việt Nam là quốc gia có nền y học cổ truyền lâu đời và là một trong các nước có nguồn dược liệu phong phú. Y học cổ truyền Việt Nam có nhiều bài thuốc hay điều trị các bệnh lý DD, trong đó có các bài thuốc tác dụng chống viêm, giảm đau, bảo vệ niêm mạc DD. Song, chưa có nhiều bài thuốc được kiểm chứng khoa học trên các mô hình thực nghiệm và đánh giá kết quả có tính định lượng, chính xác.

Trên cơ sở lý luận, biện chứng luận trị của y

học cổ truyền về bệnh loét DD và những nghiên cứu cơ bản về tác dụng dược lý của các vị thuốc, chúng tôi xây dựng bài thuốc An vị thang gồm 13 vị thuốc sẵn có tại Việt Nam để điều trị loét DD. Đánh giá bước đầu cho thấy bài thuốc có kết quả khả quan trong điều trị bệnh nhân loét DD.

Để có cơ sở khoa học về tính an toàn và tác dụng của bài thuốc "An vị thang", góp phần làm phong phú thêm các phương pháp điều trị loét DD, chúng tôi thực hiện đề tài này nhằm mục đích nghiên cứu tác dụng giảm đau và bảo vệ niêm mạc dạ dày của bài thuốc An vị thang trên động vật thực nghiệm.

2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.

2.1. Đối tượng và chất liệu nghiên cứu:

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu:

- Đánh giá tác dụng giảm đau của bài thuốc An

vị thang trên 40 con chuột nhất trắng (chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con):

+ Lô 1N: cho chuột uống nước cất, liều 0,1 ml/10g chuột/ngày, trong 5 ngày.

+ Lô 2N: tiêm màng bụng chuột Morphin hydroclorid, liều 10 mg/kg mỗi lần trước khi khảo sát 30 phút.

+ Lô 3N: cho chuột uống An vị thang, liều 38,4g dược liệu/kg/ngày (tương đương liều điều trị trên người theo hệ số 12), trong 5 ngày.

+ Lô 4N: cho chuột uống An vị thang, liều 76,8g dược liệu/kg/ngày (gấp 2 lần liều điều trị trên người), trong 5 ngày.

- Đánh giá tác dụng bảo vệ niêm mạc DD của bài thuốc An vị thang trên 50 con chuột cống trắng (đánh số thứ tự và chia thành 5 lô, mỗi lô 10 con với tỉ lệ đực/cái như nhau ở mỗi lô):

+ Lô 1C (lô chứng): cho chuột uống dung dịch NaCl 0,9% (liều 1 ml/100g/ngày) trong 4 ngày.

+ Lô 2C: cho chuột uống dung dịch NaCl 0,9% (liều 1 ml/100g/ngày) trong 4 ngày; ngày thứ 4, sau uống dung dịch NaCl 30 phút, cho chuột uống tiếp Indomethacin (liều 30 mg/kg).

+ Lô 3C: cho chuột uống dung dịch NaCl 0,9% (liều 1 ml/100g/ngày) trong 3 ngày; ngày thứ 4, cho chuột uống Famotidine (liều 50 mg/kg) và sau 30 phút, cho chuột uống tiếp Indomethacin (liều 30 mg/kg).

+ Lô 4C: cho chuột uống An vị thang (liều tương đương liều điều trị trên người - tính theo hệ số 7 là 22,4g dược liệu/kg) trong 4 ngày; ngày thứ 4, sau khi uống An vị thang 30 phút, cho chuột uống tiếp Indomethacin (liều 30 mg/kg).

+ Lô 5C: cho chuột uống An vị thang (liều tương đương 2 lần liều điều trị trên người - tính theo hệ số 7 là 44,8g dược liệu/kg) trong 4 ngày; ngày thứ 4, sau khi uống An vị thang 30 phút, cho chuột uống indomethacin (liều 30mg/kg).

2.1.2. Chất liệu nghiên cứu:

- Bài thuốc An vị thang, công thức: Hoàng liên (*Rhizoma Coptidis*) 12g; Hương phụ (*Rhizoma Cyperi*) 12g; Ngò thù (*Fructus Evodiae*) 6g; Bạch truật (*Rhizoma Atractylodis Macrocephalae*) 12g; Hoàng kỳ (*Radix Astragali*) 15g; Cam thảo (*Radix Glycyrrhizae*) 8g; Huyền hồ (*Rhizoma Corydalis*) 12g; Ô tặc cốt (*Endoconcha Sepiae*) 12g; Mấu lệ (*Concha Ostreae*) 20g; Ngải tợng (*Stephania rotunda Lour*) 12g; Bạch thược (*Radix Paeoniae Alba*) 15g; Sài hồ (*Radix Bupleuri*) 12g; Nga truật (*Rhizoma Curcumae*) 12g. Các vị thuốc đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam IV; thuốc sắc dạng cao chiết, nồng độ cô đặc tối đa 4 g/ml, do Khoa Y học cổ truyền Bệnh viện Quân y 103 cung cấp.

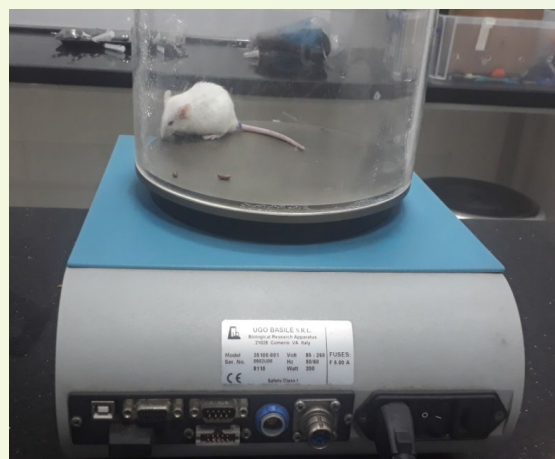
- Morphin hydroclorid ống 10 mg/ml; Famotidine 40 mg, acid acetic 1%... do Xí nghiệp Dược phẩm T.Ư cung cấp; Indomethacin viên nén 25 mg do Xí nghiệp Dược phẩm 120 cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

- Đánh giá tác dụng giảm đau của bài thuốc An vị thang trên chuột nhất trắng theo phương pháp mâm nóng:

+ Đo thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột: đặt chuột lên mâm nóng (hot plate) ở nhiệt độ ổn định 56°C. Thời gian chuột phản ứng với kích thích nhiệt được tính từ lúc đặt chuột lên mâm nóng đến khi chuột có phản xạ liếm chân sau. Loại bỏ những chuột có phản ứng quá nhanh (trước 8 giây) hoặc quá chậm (sau 30 giây).

+ Đo thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột trước và sau khi uống thuốc lần cuối cùng 1 giờ hoặc sau khi tiêm morphin hydroclorid 30 phút. So sánh thời gian phản ứng với kích thích nhiệt trước và sau khi uống thuốc thử và với tiêm màng bụng Morphin hydroclorid.



Hình ảnh chuột trên mâm nóng.

- Đánh giá tác dụng bảo vệ niêm mạc DD của bài thuốc An vị thang trên chuột cống trắng:

+ Phẫu thuật bộc lộ và cô lập DD chuột: sau 6 giờ kể từ khi uống Indomethacin, tất cả chuột được gây mê sâu bằng thiopental để phẫu thuật. Đặt chuột nằm ngửa trên bàn mổ; mở khoang bụng bằng 1 vết cắt hình chữ V qua thành bụng (từ điểm giữa trên xương mu theo đường chéo về mép lưng của ngực mỗi bên). Lật vạt da lên phía ngực, cắt rời DD - tá tràng ra (đầu trên sát tâm vị, đầu dưới sát hồng tràng). Bộc lộ DD dọc theo đường cong lớn, mở rộng DD sang hai bên theo trục bờ cong nhỏ. Rửa sạch DD bằng nước muối sinh lí, thấm bề mặt DD bằng Fomaldehyd 5%, cố định DD - tá tràng trên tấm xốp bằng ghim. Quan sát tổn thương qua kính hiển vi độ phóng đại 10 lần và chụp ảnh bằng kính hiển vi độ phóng đại 25 lần để đánh giá đại thể về số ổ loét và mức độ loét (bình thường: 0 điểm; xung huyết - red coloration: 0,5 điểm; chấm loét - spot ulcer: 1

điểm; vết xuất huyết - hemorrhagic streak: 1,5 điểm; loét sâu - deep ulcers: 2 điểm; thủng - perforation: 3 điểm).

+ Đánh giá chỉ số ổ loét của từng con chuột theo công thức: $UI = UN + US + UP \times 10 - 1$. Trong đó: UI (ulcer index) là chỉ số loét; UN (ulcer number) là số ổ loét trung bình của chuột; US (ulcer score) là mức độ loét trung bình của chuột; UP (ulcer percentage) là tỉ lệ % số chuột có loét trong cả lô chuột.

+ Đánh giá tỉ lệ ức chế loét theo công thức:

$$100 \times \frac{(UI \text{ lô mô hình} - UI \text{ lô uống thuốc})}{UI \text{ lô mô hình}}$$

- Phương pháp xử lí số liệu: số liệu được xử lí theo các phương pháp thống kê y sinh học, so sánh bằng anova test với phần mềm SPSS 22.0. Số liệu được biểu diễn dưới dạng số trung bình $\pm$ SD; sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.

3.1. Tác dụng giảm đau của An vị thang:

Bảng 1. Thời gian phản ứng với nhiệt của chuột nhắt trắng (giây).

Chuột	Trước uống	Sau uống	p
Lô 1N	13,51 $\pm$ 1,31	14,27 $\pm$ 1,50	> 0,05
Lô 2N	14,69 $\pm$ 1,71	26,12 $\pm$ 1,74	< 0,05
Lô 3N	13,50 $\pm$ 2,03	18,65 $\pm$ 2,33	< 0,05
Lô 4N	15,20 $\pm$ 1,74	23,56 $\pm$ 1,91	< 0,05
p	> 0,05	$p_{1-2,3}; p_{2-3,4}; p_{3-4} < 0,05$	

Ở thời điểm trước uống thuốc, thời gian đáp ứng với nhiệt của chuột ở tất cả các lô tương đương nhau ($p > 0,05$). Ở thời điểm sau uống thuốc, chuột ở các lô uống An vị thang (lô 3N, 4N) và lô tiêm màng bụng Morphin hydroclorid (lô 2N) có thời gian đáp ứng với nhiệt cao hơn so với lô chứng uống nước cất (lô 1N) ($p < 0,05$). Chuột ở lô uống An vị thang có thời gian đáp ứng với nhiệt dài hơn so với lô chứng nhưng ngắn hơn so với chuột tiêm màng bụng Morphin hydroclorid.

3.2. Tác dụng chống viêm, bảo vệ niêm mạc DD của An vị thang:

Bảng 2. Kết quả tác dụng bảo vệ niêm mạc DD.

Chuột	Số ổ loét	Mức độ loét	Tỉ lệ có loét
Lô 1C	0	0	0,00
Lô 2C	4,10 $\pm$ 2,38	1,70 $\pm$ 0,54	0,80
Lô 3C	0,30 $\pm$ 0,67	0,55 $\pm$ 0,44	0,20
Lô 4C	2,60 $\pm$ 2,41	1,40 $\pm$ 0,61	0,60
Lô 5C	0,60 $\pm$ 1,07	0,75 $\pm$ 0,49	0,30
p	$p_{1-2,4}; p_{2-3,5}; p_{3-4} < 0,05$	$p_{1-2,4,5}; p_{2-3,5}; p_{3-4}; p_{4-5} < 0,05$	$p_{1-2,4}; p_{2-3}; p_{3-4} < 0,05$

Chuột ở lô dùng An vị thang và lô dùng Famotidin có số ổ loét và mức độ loét thấp hơn so với lô chứng (uống Indomethacin). Chuột ở lô chứng (uống dung dịch NaCl 0,9%) không có biểu hiện bị viêm loét DD. Chuột ở lô uống An vị thang có số ổ loét và mức độ loét thấp hơn so với lô chứng, nhưng còn kém hơn so với chuột ở lô uống Famotidine (liều 50 mg/kg). Điều này cho thấy An vị thang có xu hướng làm giảm số ổ loét và mức độ loét DD trên chuột cống gây loét DD bằng uống Indomethacin (liều 30 mg/kg), nhưng chưa đạt được hiệu quả như khi sử dụng Famotidine (liều 50 mg/kg).

Bảng 3. Chỉ số ổ loét và tỉ lệ ức chế loét.

Chuột	Chỉ số ổ loét (UI)	Tỉ lệ ức chế loét
Lô 1C	0	100,00%
Lô 2C	5,07 $\pm$ 2,43	0,00
Lô 3C	0,56 $\pm$ 0,71	89,05%
Lô 4C	3,34 $\pm$ 2,47	34,12%
Lô 5C	0,98 $\pm$ 1,12	80,77%
p	$p_{1-2,4}; p_{2-3,5}; p_{4-5} < 0,05$	$p_{1-2,4}; p_{2-3,5}; p_{3-4} < 0,05$

Chuột ở lô dùng An vị thang và lô dùng Famotidin có chỉ số ổ loét (UI) và tỉ lệ ức chế loét thấp hơn so với lô chứng (uống Indomethacin). Chuột ở lô chứng (uống dung dịch NaCl 0,9%) không có biểu hiện bị viêm loét (chỉ số loét UI = 0, tỉ lệ ức chế loét là 100%). Chuột ở lô uống An vị thang có chỉ số ổ loét (UI) và tỉ lệ ức chế loét thấp hơn so với lô chứng, nhưng còn kém hơn so với chuột ở lô uống Famotidine (liều 50 mg/kg). Điều này cho thấy An vị thang có xu hướng giảm chỉ số ổ loét (UI) và tăng tỉ lệ ức chế loét trên chuột cống gây loét bằng uống Indomethacin (liều 30 mg/kg), nhưng chưa đạt được hiệu quả như khi sử dụng Famotidine (liều 50 mg/kg).

Hình ảnh tổn thương đại thể:

Soi trên kính hiển vi độ phóng đại 10X, thấy niêm mạc DD các chuột uống dung dịch NaCl 0,9% có màu hồng đỏ, không có các chấm, vết xuất huyết hoặc loét. Ngược lại, ở các chuột uống Indomethacin (liều 30 mg/kg), thấy niêm mạc DD có nhiều vết loét, xuất huyết và loét sâu, nhưng không thấy thủng. Chuột ở lô uống An vị thang và Famotidine thấy niêm mạc DD ít bị viêm, xuất huyết hơn (tỉ lệ có hình ảnh viêm, xuất huyết giảm; đặc biệt là không có các loét sâu). Chuột ở lô uống An vị thang (liều 44,8g được liều/kg) và Famotidine chủ yếu chỉ có hình ảnh xung huyết và chấm loét nhỏ trong niêm mạc DD.

4. BÀN LUẬN.

4.1. Về tác dụng giảm đau:

Trong nghiên cứu này, tác dụng giảm đau của các chất được thử trên chuột theo phương pháp

mâm nóng. Đây là phương pháp kinh điển đánh giá tác dụng giảm đau của các thuốc có cơ chế tác dụng trung ương như nhóm opioid. Nguyên tắc dùng tác nhân nhiệt để gây đau, cảm giác đau từ thụ cảm thể ngoại vi truyền về trung khu thần kinh trung ương ở não; tại đây sẽ tạo ra phản ứng tương ứng cơ thể để giảm đau [3], [4].

Chúng tôi dùng Morphin hydrocoride làm thuốc đối chứng dương, để so sánh với tác dụng của An vị thang trên mô hình mâm nóng. Các kết quả cho thấy An vị thang có tác dụng làm tăng thời gian phản xạ với kích gây đau bằng nhiệt so với nhóm chứng (uống dung dịch NaCl 0,9%) và An vị thang (liều 76,8g dược liệu/kg) làm tăng thông số này gần tương đương với khi tiêm Morphin hydrocoride (liều 100 mg/kg). Như vậy, An vị thang có tác dụng giảm đau trên mô hình mâm nóng và đây là tác dụng giảm đau theo cơ chế trung ương. Kết quả này tương tự như một số nghiên cứu trước đây về cao chiết của một số dược liệu (như *Antidesma menasu*, *Antidesma acidum*, *Papaver libanoticum*...) có tác dụng giảm đau trong bài test mâm nóng [3], [4].

Có thể kết luận An vị thang có xu hướng tăng thời gian đáp ứng với nhiệt trên chuột cống khi tiếp xúc với mâm nhiệt và với liều 76,8g dược liệu/kg, An vị thang có thời gian đáp ứng với nhiệt gần tương đương như khi tiêm màng bụng Morphin hydroclorid (liều 10 mg/kg).

4.2. Về tác dụng bảo vệ niêm mạc DD:

Mô hình gây loét DD trên thực nghiệm là mô hình tiến hành theo phương pháp nghiên cứu của A.G.R Alkushi và cộng sự (2016), có sửa đổi cho phù hợp với ý định nghiên cứu (bằng cách cho uống Indomethacin liều duy nhất 30 mg/kg). Đây cũng là mô hình gây loét DD đã được một số tác giả sử dụng đánh giá tác dụng bảo vệ niêm mạc DD của một số dược liệu [5], [7]. Famotidin có công thức tương tự histamin, nên các thuốc kháng H2-histamin tranh chấp với histamin tại vị trí receptor H2 ở tế bào thành DD, làm giảm bài tiết acid dịch vị; mà acid này được kích thích tăng tiết bởi histamin, gastrin, thuốc cường phó giao cảm và kích thích dây thần kinh số X.

Kết quả nghiên cứu cho thấy chỉ số ổ loét ở chuột thuộc lô gây loét DD cao hơn rõ rệt so với ở lô chứng. Trong khi chỉ số này ở chuột uống An vị thang (liều 22,4g dược liệu/kg và 44,8g dược liệu/kg) và Famotidin (liều 50 mg/kg) thì giảm hơn so với chuột ở lô gây viêm loét. Ngược lại, tỉ lệ ức chế loét ở chuột lô uống An vị thang và Famotidin cao hơn so với chuột ở lô gây viêm loét. Điều đó chứng tỏ bài thuốc An vị thang có tác dụng làm ức chế quá trình viêm loét DD trên chuột gây loét DD bằng uống Indometacin. Kết quả nghiên cứu này cũng tương tự một số nghiên cứu trước đây

về tác dụng của các dược liệu Quercetin, Obestatin, Cordia Myxa L trong chống loét DD trên chuột bị gây loét DD bằng Indometacin [5], [6], [7].

5. KẾT LUẬN.

An vị thang liều 76,8g dược liệu/kg uống trong thời gian 5 ngày liên tục có tác dụng giảm đau trong bài tập mâm nóng 56°C trên chuột nhắt trắng và liều 44,8g có tác dụng bảo vệ niêm mạc DD trên chuột cống trắng bị gây loét DD bằng Indometacin (liều 30 mg/kg). An vị thang (liều 76,8g dược liệu/kg) có tác dụng giảm đau gần tương đương với tiêm Morphin hydroclorid (liều duy nhất 10 mg/kg) trên chuột nhắt trắng trong bài tập mâm nóng và liều 44,8g có tác dụng bảo vệ niêm mạc DD gần tương đương với Famotidin (liều 50 mg/kg) trên chuột cống trắng gây loét DD bằng sử dụng Indometacin.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Trần Quốc Bảo, Trần Quốc Bình (2011), *Thuốc Y học cổ truyền và ứng dụng lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 70-201.
2. Châu Ngọc Hoa (2012), "Điều trị loét DD - tá tràng", *Điều trị học nội khoa*, Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, tr. 209-232.
3. Arun Prabhakar Sithara, Ravi M, Suma Mallya, Sudhakara, Sridhar Bairy, Srikanth P, Ravishankar (2013), "Experimental evaluation of analgesic and anti-inflammatory potential of leaves of *Antidesma menasu* on wistar albino rats", *International Journal of Pharmacology and Clinical Sciences*, December 2013, Vol. 2, Issue 4, pp. 105-112.
4. Arathi Krishnan, Ravi Mundugaru, Suma Mallya, Sridhar Bairy, Ravishankar B (2014), "Experimental evaluation of analgesic and anti-inflammatory potential of leaves of *antidesma acidum* on wistar albino rats", *Journal of Biological & Scientific Opinion*, Volume 2 (1), pp. 1-2.
5. A.G.R Alkushi, N.A.M Elsayy (2017), "Quercetin attenuates, indomethacin-induced acute gastric ulcer in rats", *Folia Morphol*, Vol. 76, No. 2, pp. 252-261.
6. Reham M Ibrahim, Mona M Allam, Ola A El-Gohary, Alaa E.A El-Talees, Mohamed S El-Hamady (2018), "Protective effect of obestatin on indomethacin-induced acute gastric ulcer in rats: role of VEGF and TNF- α ", *Benha Medical Journal*, 2018, 35: pp. 369-377.
7. Inas, Z.A Abdallah, Hala A.H Khattaba, Gehan H Heeba (2011), "Gastroprotective Effect of Cordia Myxa L. Fruit Extract against Indomethacin-Induced Gastric Ulceration in Rats", *Life Science Journal*, 8(3), pp. 433-445. □