

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO **BỘ Y TẾ**
HỌC VIỆN Y – DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



NGUYỄN THU HẰNG

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM, GIẢM
ĐAU VÀ HẠ ACID URIC MÁU CỦA VIÊN NANG
ĐTG TRÊN THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

HÀ NỘI – 2024

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
HỌC VIỆN Y – DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM

BỘ Y TẾ



NGUYỄN THU HẰNG

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM, GIẢM
ĐAU VÀ HẠ ACID URIC MÁU CỦA VIÊN NANG
ĐTĐG TRÊN THỰC NGHIỆM**

Chuyên ngành: Y học cổ truyền

Mã số: 8720115

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

- 1. PGS.TS. Vũ Nam**
- 2. TS. Trần Minh Hiếu**

HÀ NỘI – 2024

LỜI CẢM ƠN

Hoàn thành luận văn này, với tất cả lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc, tôi xin được gửi lời cảm ơn đến Đảng ủy, Ban Giám hiệu Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam, Phòng Đào tạo sau Đại học và các Thầy Cô trong Học viện đã tạo điều kiện và tận tình giúp đỡ tôi trong quá trình học tập, nghiên cứu để hoàn thành luận văn.

Tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới PGS.TS. Vũ Nam , TS. Trần Minh Hiếu là những người Thầy hướng dẫn trực tiếp luôn theo sát, thường xuyên giúp đỡ, cho tôi nhiều ý kiến quý báu, sát thực trong quá trình học tập và nghiên cứu để hoàn thành luận văn này.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn tới các Thầy cô trong Hội đồng thông qua đề cương, Hội đồng chấm luận văn thạc sĩ Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam đã đóng góp cho tôi nhiều ý kiến quý báu để tôi hoàn thiện luận văn.

Tôi cũng xin bày tỏ lòng biết ơn tới toàn thể thầy cô, các anh chị kỹ thuật viên đang nghiên cứu khoa học tại bộ môn Dược Lý Học viện Quân Y đã luôn bên tôi, giúp đỡ tôi trong quá trình tôi thực hiện và nghiên cứu.

Cuối cùng tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành nhất tới gia đình, bạn bè, các anh chị trong tập thể lớp Cao học khóa 14 đã luôn đồng hành, động viên chia sẻ và giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Xin trân trọng cảm ơn!

Hà Nội, ngày 10 tháng 6 năm 2024

Nguyễn Thu Hằng

LỜI CAM ĐOAN

Tên tôi là: Nguyễn Thu Hằng, học viên cao học khóa 14 (2021-2023)
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 PGS.TS.Vũ Nam và TS. Trần Minh Hiếu.

2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã
công bố tại Việt Nam.

3. Các số liệu 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 10 tháng 6 năm 2024

Người viết cam đoan

Nguyễn Thu Hằng

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. QUAN ĐIỂM CỦA Y HỌC HIỆN ĐẠI VỀ BỆNH GÚT.....	3
1.1.1. Đại cương về bệnh Gút.....	3
1.1.2. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh.....	3
1.1.3. Chẩn đoán bệnh Gút.....	5
1.1.4. Điều trị bệnh Gút.....	7
1.2. QUAN ĐIỂM CỦA Y HỌC CỔ TRUYỀN VỀ BỆNH GÚT	9
1.2.1. Bệnh danh.....	9
1.2.2. Bệnh nguyên và cơ chế bệnh sinh.....	9
1.2.3. Chẩn đoán và điều trị theo thể bệnh Y học cổ truyền.....	10
1.3. TỔNG QUAN VỀ VIÊN NANG ĐTG TRONG NGHIÊN CỨU.....	14
1.3.1. Thành phần Viên nang ĐTG trong nghiên cứu.....	14
1.3.2. Các vị thuốc trong Viên nang ĐTG	15
1.4. TỔNG QUAN VỀ CÁC MÔ HÌNH NGHIÊN CỨU	20
1.4.1. Mô hình gây viêm khớp Gout do tinh thể MSU gây ra.....	20
1.4.2. Mô hình gây đau quặn (Writhing Tests)	21
1.4.3. Mô hình tăng axit uric máu do Kali oxonate.....	21
1.4.4. Mô hình đánh giá tác dụng ức chế enzym xanthin oxidase in vitro.....	22
CHƯƠNG 2. CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	24
2.1. CHẤT LIỆU NGHIÊN CỨU.....	24
2.1.1. Thuốc nghiên cứu.....	24
2.1.2. Hóa chất dùng trong nghiên cứu	25
2.1.3. Máy móc và dụng cụ phục vụ nghiên cứu.....	25
2.2. ĐỘNG VẬT NGHIÊN CỨU.....	25
2.3. THỜI GIAN VÀ ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU	26

2.4. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	26
2.4.1. Đánh giá tác dụng chống viêm, giảm đau	26
2.4.2. Đánh giá tác dụng hạ acid uric máu của Viên nang ĐTG trên thực nghiệm	28
2.5. ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU	30
2.6. PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ SỐ LIỆU	30
2.7. SAI SỐ VÀ BIỆN PHÁP KHỔNG CHẾ SAI SỐ.....	31
chương 3. kết quả NGHIÊN CỨU	33
3.1. KẾT QUẢ CHỐNG VIÊM, GIẢM ĐAU	33
3.1.1. Tác dụng chống viêm trên chuột cống gây viêm khớp gút	33
3.1.2. Kết quả giảm đau trên mô hình gây đau quặn ở chuột nhắt trắng	36
3.2. KẾT QUẢ HẠ ACID URIC MÁU CỦA VIÊN NANG ĐTG TRÊN THỰC NGHIỆM.....	40
3.2.1. Kết quả ức chế enzym xanthin oxidase in vitro.....	40
3.2.2. Kết quả hạ acid uric trên chuột nhắt gây tăng acid uric trong nhiều ngày.....	41
CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN.....	46
4.1. BÀN LUẬN VỀ TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM, GIẢM ĐAU CỦA VIÊN NANG ĐTG TRÊN MÔ HÌNH THỰC NGHIỆM.....	46
4.1.1. Tác dụng giảm đau của Viên nang ĐTG trên mô hình gây đau quặn Writhing Tests	46
4.1.2. Tác dụng chống viêm của Viên nang ĐTG trên thực nghiệm	48
4.2. BÀN LUẬN VỀ TÁC DỤNG TĂNG THẢI ACID URIC CỦA VIÊN NANG ĐTG TRÊN MÔ HÌNH GÂY TĂNG ACID URIC BẰNG KALI OXONAT.....	51
KẾT LUẬN	57
KIẾN NGHỊ.....	58
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CHỮ CÁI VIẾT TẮT

AU	: Acid Uric
CIA	: Collagen-induced arthritis
CXCR 4	: C-X-C chemokine receptor type 4
IL	: Interleukin
LPS	: Lipopolysaccharide
MAPK/AKT	: Mitogen - activated protein kinase signaling pathway
MSU	: Monosodium urate
NC	: Nghiên cứu
NSAID	: Non-Steroidal Anti-Inflamatoy Drug
PGE2	: Protasglandin E2
SDF-1	: Stromal cell-derived factor 1
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor Alpha
URAT	: Urate transporter
XO	: Xathine Oxidase
YHCT	: Y học cổ truyền
YHHD	: Y học hiện đại

DANH MỤC BẢNG BIỂU

Bảng 1.1.	So sánh Allopurinol và Febuxostat (Uloric).....	7
Bảng 1.2.	Thành phần bài thuốc trong nghiên cứu.....	14
Bảng 2.1.	Thành phần bài thuốc dùng trong bào chế “ Viên nang ĐTG”	24
Bảng 2.2.	Số lượng động vật thực nghiệm	26
Bảng 3.1.	Ảnh hưởng của viên nang ĐTG tới tỷ lệ phù viêm khớp cổ chân phải của chuột ở các thời điểm sau gây viêm.....	33
Bảng 3.2.	Ảnh hưởng của viên nang ĐTG tới nồng độ cytokine TNF- α máu chuột	34
Bảng 3.3.	Ảnh hưởng của viên nang ĐTG tới thời gian xuất hiện đau quận	36
Bảng 3.4.	Ảnh hưởng của viên nang ĐTG lên số cơn quận đau của chuột nhất trắng.....	37
Bảng 3.5.	Ảnh hưởng của viên nang ĐTG tới tổng số cơn đau quận trong 20 phút sau tiêm acid acetic.....	38
Bảng 3.6.	Phần trăm ức chế enzym Xanthin oxidase ở các nồng độ khác nhau ...	40
Bảng 3.7.	Nồng độ ức chế 50% hoạt độ xanthin oxidase (IC50) và khoảng tin cậy 95% (95% CI) của mẫu thử.....	40
Bảng 3.8.	Ảnh hưởng của viên nang ĐTG tới nồng độ acid uric niệu của chuột..	41
Bảng 3.9.	Ảnh hưởng của viên nang ĐTG tới nồng độ creatinin niệu của chuột ..	42
Bảng 3.10.	Ảnh hưởng của viên nang ĐTG tới nồng độ acid uric máu chuột	43
Bảng 3.11.	Ảnh hưởng của viên nang ĐTG tới nồng độ creatinin máu chuột	44
Bảng 3.12.	Ảnh hưởng của viên nang ĐTG tới phân suất bài tiết acid uric (FEUA) của chuột.....	45
Bảng 4.1.	So sánh mức độ % giảm nồng độ acid uric máu của một số thuốc YHCT trên mô hình thực nghiệm.....	53

DANH MỤC HÌNH

Hình 3.1. Kết quả mô học khớp cổ chân phải chuột cống trắng	35
Hình 3.2. Hình ảnh chuột nhắt trắng chủng Swiss xảy ra phản ứng cơn đau quặn trong mô hình gây đau quặn Writhing Test.....	39

DANH MỤC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 2.1. Sơ đồ nghiên cứu	32
-----------------------------------	----

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Gút là một bệnh do rối loạn chuyển hóa các nhân purin có đặc điểm chính là tăng acid uric máu. Khi acid uric bị bão hòa ở ngoài màng tế bào sẽ gây lắng đọng các tinh thể monosodium urat ở các mô. Tùy theo vị tinh thể urat bị tích lũy ở mô nào mà bệnh biểu hiện bởi một hoặc nhiều triệu chứng lâm sàng như viêm khớp và cạnh khớp và/hoặc mạn tính, thường được gọi là viêm khớp do gút [1].

Cùng với sự phát triển kinh tế- xã hội ngày nay, sự thay đổi thói quen ăn uống, dinh dưỡng và sinh hoạt làm cho tỉ lệ mắc bệnh gout ngày càng có xu hướng tăng. Tỷ lệ mắc <1% đến 6,8% và tỷ lệ mắc 0,58-2,89 trên 1.000 người/năm và có xu hướng tăng ngày càng tăng [2]. Riêng tại Việt Nam theo thống kê tại khoa Cơ xương Khớp bệnh viện Bạch Mai có đến 10,6% Bệnh nhân đến điều trị bệnh Gút [3]. Bệnh gút gây ra các cơn đau dài, khó chịu, làm ảnh hưởng tới sức khỏe và sinh hoạt hàng ngày của bệnh nhân và là gánh nặng cho gia đình và xã hội.

Theo Y học hiện đại điều trị gút gồm 2 mục tiêu chính: Điều trị chống viêm giảm đau trong đợt cấp và điều trị cơ bản bằng biện pháp hạ acid uric (AU) máu. Các thuốc thuốc chữa gút cấp là thuốc kháng viêm giảm đau, trong đó Colchicine được coi là đặc hiệu, ngoài ra còn có thuốc ức chế quá trình tổng hợp AU, tăng đào thải và hòa tan AU trong máu. Tại Việt Nam thuốc Allopurinol là thuốc hạ AU phổ biến nhất hiện nay, thuốc có tác dụng hạ AU tốt nhưng đồng thời cũng gây ra tỉ lệ phản ứng dị ứng cao cho người châu Á [4], các thuốc chống viêm giảm đau gây kích ứng dạ dày [1], thuốc colchicine gây tiêu chảy và rối loạn tiêu hóa [5]. Chính bởi đây là một bệnh mạn tính nên khi dùng lâu dài thường dẫn tới các tác dụng không mong muốn nhưng trên, bên cạnh đó một số loại thuốc có giá thành cao cũng là một hạn chế cho việc điều trị duy trì cho bệnh nhân.

Việc nghiên cứu tìm ra một loại thuốc điều trị bệnh Gút có nguồn gốc từ thiên nhiên hạn chế những tác dụng phụ không mong muốn lại có giá thành rẻ là một việc làm có ý nghĩa thực tiễn khoa học và cấp thiết.

Trên cơ sở kế thừa và kết hợp giữa Y học cổ truyền và Y học hiện đại Bệnh viện Y học cổ truyền Trung Ương đã ứng dụng các vị dược liệu cùng với công nghệ bào chế, sản xuất tiên tiến tạo thành “Viên nang ĐTG”. “Viên nang ĐTG” có nguồn gốc thảo dược với 12 vị thuốc, trong đó có các vị thuốc có tác dụng chống viêm, hạ AU đã được nghiên cứu trên thực nghiệm như: Dây đau xương [6], Thiên Niên Kiện[7], Cây dây gắm [8]. Để đảm bảo tính y đức và có căn cứ khoa học trước khi triển khai nghiên cứu trên người chúng tôi tiến hành nghiên cứu trên thực nghiệm đề tài: **“Nghiên cứu tác dụng chống viêm, giảm đau và hạ acid uric máu của Viên nang ĐTG trên mô hình thực nghiệm”** với 2 mục tiêu sau:

1. *Đánh giá tác dụng chống viêm, giảm đau của “Viên nang ĐTG” trên thực nghiệm*
2. *Đánh giá tác dụng hạ acid uric máu của “Viên nang ĐTG” trên thực nghiệm*

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. QUAN ĐIỂM CỦA Y HỌC HIỆN ĐẠI VỀ BỆNH GÚT

1.1.1. Đại cương về bệnh Gút

1.1.1.1. Định nghĩa

Bệnh Gút là bệnh viêm khớp do vi tinh thể, đặc trưng bởi những đợt viêm khớp cấp tái phát, có lắng đọng tinh thể muối urat natri trong các mô, gây ra do tăng acid uric trong máu. Đây là bệnh do rối loạn chuyển hóa nhân purin, thuộc nhóm bệnh rối loạn chuyển hóa [9].

1.1.1.2. Dịch tễ học bệnh Gút tại Việt Nam

Bệnh Gút thường gặp ở các nước phát triển, chiếm khoảng 0,02-0,2% dân số, với 95% là nam giới, trung niên (30-40 tuổi). Nữ giới thường gặp ở lứa tuổi 60-70 [10]. Tại Việt Nam theo thống kê tại khoa Cơ xương Khớp bệnh viện Bạch Mai có đến 10,6% Bệnh nhân đến điều trị bệnh Gút, đứng thứ 4 trong 15 bệnh nội trú thường gặp nhất [3].

1.1.2. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh

1.1.2.1 Nguyên nhân:

Theo các nghiên cứu dịch tễ cho thấy các yếu tố chế độ ăn uống (giàu purin, rượu và fructose) béo phì, hội chứng chuyển hóa, tăng huyết áp, sử dụng thuốc lợi tiểu và bệnh thận mãn tính là các yếu tố nguy cơ liên quan đến lâm sàng đối với chứng tăng axit uric máu và bệnh gút [11].

Tùy theo nguyên nhân gây bệnh mà chia ra nguyên nhân nguyên phát và thứ phát.

•Nguyên phát:

Chưa rõ nguyên nhân, chế độ ăn thực phẩm có chứa nhiều purin như: gan, thận, tôm, cua, lòng đỏ trứng, nấm....được cho là làm nặng thêm bệnh. Gặp 95% ở nam giới, độ tuổi thường gặp là 30-60.

•Thứ phát:

Một số hiếm do các rối loạn về gen (nguyên nhân di truyền). Ngoài ra có thể do tăng sản xuất acid uric hoặc giảm đào thải acid uric hoặc cả hai, cụ thể:

- Suy thận nói riêng và các bệnh lý làm giảm độ thanh lọc acid uric của cầu thận nói chung.

- Các bệnh về máu: bệnh bạch cầu cấp.

- Dùng thuốc lợi tiểu như Furosemid, Thiazide, Acetazolamid...

- Sử dụng các thuốc ức chế tế bào để điều trị các bệnh ác tính, thuốc chống lao (ethambutol, pyrazinamid,...)

- Các yếu tố nguy cơ của bệnh là tăng huyết áp, béo phì và hội chứng chuyển hóa tăng insulin máu và sự đề kháng insulin, uống nhiều rượu bia [9].

1.1.2.2. Cơ chế bệnh sinh

Vai trò gây bệnh của AU

Nguyên nhân chính gây ra bệnh Gút là tăng AU trong máu [3]. Tăng AU máu trong một thời gian dài sẽ làm cho cơ thể có hàng loạt các phản ứng thích nghi, điều hòa nhằm làm giảm AU máu: tăng bài tiết qua thận, lắng đọng muối Urat trong các tổ chức như: màng hoạt dịch, da, kẽ thận, gan.... Dẫn đến sự biến đổi về hình thái học của tổ chức.

Sự lắng đọng của tinh thể AU hay muối Urat monosodium ở xung quanh khớp, màng hoạt dịch, sụn, da....tạo thành những hạt urat kết tinh ở trong mô, dưới da, gọi là hạt tophi. Các tinh thể urat này lắng đọng lâu ngày dẫn tới gút.

Lắng đọng các tinh thể ở thận gây tổn thương thận, viêm thận kẽ, xơ hóa cầu thận, xâm nhập tới xương dưới sụn, gây phá hủy xương dạng ổ khuyết, xương hình cầu...

Cơ chế bệnh sinh của Gút:

- Quá trình lắng đọng tinh thể urat và hình thành viêm do tinh thể:

- Cơ chế bệnh sinh chính của bệnh gút là sự tích lũy acid uric ở mô không có mạch máu, đặc biệt là sụn khớp, tạo thành các microtophus. Khi microtophus ở khớp bị vỡ ra, tinh thể urat tiếp xúc với mạch máu màng hoạt dịch làm khởi động quá trình viêm [10].

- Phản ứng viêm của màng hoạt dịch sẽ làm tăng chuyển hóa, sinh nhiều acid lactic tại chỗ làm giảm độ pH. Môi trường càng toan thì urat càng lắng đọng nhiều và phản ứng viêm cũng trở thành một vòng xoắn bệnh lý kéo dài liên tục. Sự tự giới hạn của phản ứng viêm cấp do đại thực bào thoái triển, bạch cầu đa nhân trung tính, hoại tử và quá trình chết theo chương trình (apoptosis), Tiếp theo đó là sự thuyên giảm phản ứng viêm của màng hoạt dịch và có thể bình thường hóa hoàn toàn.

- Cơ chế viêm tại khớp do Gút mạn tính:

- Viêm khớp mạn tính do Gút thường xuất hiện sau khi bệnh nhân bị Gút nhiều năm. Hậu quả là tình trạng viêm hoạt dịch mạn tính, mất sụn và mòn xương. Kể cả khi đã điều trị cơn Gút cấp ổn định, tình trạng viêm hoạt dịch khớp vẫn diễn ra với sự góp mặt của các cytokin, chemokin, protease và các chất liên quan đến quá trình viêm cấp do tinh thể urat. Các hạt tophi trên bề mặt sụn có thể thấy hủy cả sụn, lâu dần dẫn đến phá hủy xương.

1.1.3. Chẩn đoán bệnh Gút

Các phương pháp mới trong chẩn đoán Gút

Tiêu chuẩn vàng: xác định được tinh thể urat trong dịch khớp và/hoặc hạt tophi

1. Phân tích dịch khớp hay hạt tophi bằng kính hiển vi phân cực hay hiển vi phân cực số hóa.
2. Siêu âm quy ước hay Siêu âm Doppler
3. Nội soi khớp
4. CT Scanner năng lượng kép (DECT)
5. MRI: Bảo mòn xương, viêm màng hoạt dịch, hạt tophi (giảm tín hiệu trên T1, T2, ngấm thuốc đối quang tử).

❖ CHẨN ĐOÁN

Có nhiều tiêu chuẩn chẩn đoán bệnh gút như tiêu chuẩn Rome 1963, Bennet - Wood 1968, ACR 1977, Mexico 2010, ACR/EULAR 2015. Tiêu chuẩn EULAR /ACR 2015 ứng dụng các kỹ thuật chẩn đoán hình ảnh hiện đại để phát hiện sớm sự lắng đọng acid uric máu với độ nhạy và độ đặc hiệu cao. Trên thực tế lâm sàng thì tiêu chuẩn chẩn đoán Bennet - Wood 1968 vẫn là tiêu chuẩn chẩn đoán đơn giản, tốt được áp dụng phổ biến ở Việt Nam hiện nay.

➤ **Tiêu chuẩn chẩn đoán của Bennett và Wood 1968**

- a. Hoặc tìm thấy tinh thể AU trong dịch khớp hay trong các hạt tophi.
- b. Hoặc tối thiểu có trên 2 trong các tiêu chuẩn sau đây:
 - Tiền sử hoặc hiện tại có tối thiểu 2 đợt sưng đau của một khớp với tính chất khởi phát đột ngột, sưng đau dữ dội, và khởi hoàn toàn trong vòng hai tuần.
 - Tiền sử hoặc hiện tại có 1 đợt sưng đau khớp bàn ngón chân cái với các tính chất như trên.
 - Có hạt tophi.
 - Đáp ứng tốt với colchicin (giảm viêm, giảm đau trong vòng 48h) trong tiền sử hoặc hiện tại.

Chẩn đoán xác định khi có tiêu chuẩn a hoặc 2 yếu tố của tiêu chuẩn b

❖ **Chẩn đoán phân biệt**

- Viêm khớp nhiễm khuẩn

Do tổn thương một khớp, bệnh nhân có thể sốt, đôi khi kèm rét run, dịch khớp có thể có bạch cầu đa nhân trung tính thoái hoá nên có thể nhầm. Song nếu tìm thấy tinh thể urat trong bạch cầu đa nhân thì rất có giá trị chẩn đoán gút. Nói chung nên soi cấy dịch khớp nhằm phát hiện một viêm khớp nhiễm khuẩn có thể kết hợp với gút.

- *Viêm khớp dạng thấp*

Thề gút mạn tính có biểu hiện đa khớp: có các tổn thương tại các khớp nhỏ bàn ngón tay có thể nhầm với viêm khớp dạng thấp.

Chẩn đoán phân biệt dựa vào:

- Giới, tuổi.
- Tính chất các đợt viêm khớp cấp tính giai đoạn đầu.
- Thường có các hạt tophi ở vành tai, ở bàn tay hoặc các vị trí khác.
- AU máu, hình ảnh X-quang.
- *Phân biệt với một số bệnh khớp khác*

Bệnh cảnh ngón chi hình khúc dồi trong bệnh lý cột sống, đặc biệt trong viêm khớp vẩy nến, có thể nhầm với cơn gút cấp.

1.1.4. Điều trị bệnh Gút

- ❖ Nguyên tắc điều trị
 - Điều trị các đợt cấp
 - Dự phòng cơn gút cấp
 - Giảm nồng độ acid uric máu, ngăn chặn đợt cấp và lắng đọng tinh thể urat
 - Phẫu thuật cắt bỏ hạt tôphi
 - Giáo dục bệnh nhân về phòng và quản lý bệnh.

1.1.4.1. Điều trị gút cấp tính

- Gút cấp cần được điều trị ngay trong vòng 24 giờ khởi phát
- Thuốc hạ AU đang dùng thì cần được dùng tiếp trong cơn gút cấp
- NSAIDS, corticoid hoặc colchicin phù hợp cho lựa chọn đầu tiên trong gút cấp và phối hợp thuốc cho những trường hợp nặng và khó chữa
- Phương pháp điều trị kết hợp được chấp nhận bao gồm:
 - + Colchicin và NSAIDS
 - + Steroid đường uống (khi không đáp ứng NSAIDS) và colchicine
 - + Steroid trong tiêm với tất cả các phương thức khác [12] [13].

1.1.4.2. Điều trị gút mạn tính

Mục đích: tránh các cơn gút cấp, tránh tổn thương các tạng. Thường phải hạ acid uric máu dưới 60 mg/l (360 μ mol/l). Để đạt được mục tiêu cần thực hiện tốt chế độ ăn và chế độ dùng thuốc [14]

- ❖ Thuốc ức chế tổng hợp acid uric

Hiện nay, có hai thuốc ức chế tổng hợp acid uric được sử dụng trong điều trị bệnh gút là Allopuriol và Febuxostat [13].

Bảng 1. 1 So sánh Allopurinol và Febuxostat (Uloric)

Allopurinol	Febuxostat (Uloric)
FDA công nhận năm 1966	FDA công nhận năm 2009
Ức chế xanthin oxydase (XO) có purin	Ức chế xanthin oxydase (XO) không có purin
Giảm sản xuất acid uric	Giảm sản xuất acid uric
Chuyển hóa qua thận	Chuyển hóa qua gan

❖ Các thuốc tăng thải acid uric

Probenecid (Benemid), Sulfinpyrazon (Auturan), Benzbromaron, Lesinurad

Cơ chế: các thuốc nhóm này có tác dụng ức chế tái hấp thu acid uric ở ống thận, tăng thải AU qua thận, tăng AU niệu, làm giảm AU máu [10]. Các thuốc nhóm này làm tăng bài tiết acid uric trong thận bằng cách ức chế quá trình tái hấp thu urat của enzym URAT 1 tại thận [15]. Việc tái hấp thu acid uric bị ức chế bởi cơ chế cạnh tranh của thuốc tăng thải acid uric với urat do có cấu trúc tương đồng.

Chỉ định: các trường hợp không dung nạp với các thuốc ức chế tổng hợp AU.

Chống chỉ định: gút có tổn thương thận hoặc tăng AU niệu, sỏi thận [10], [16].

❖ Các thuốc tiêu acid uric: Uricase, Pegloticase

Uricase là enzym tiêu urat, chuyển acid uric thành allatoine dễ hòa tan [17], [18]. Pegloticase là chất giống uricase, được sử dụng tại Mỹ từ 4/2010 [10]. Thuốc đã được chứng minh có khả năng làm giảm kích thước hạt tôphi trên bệnh nhân gút mạn tính [19]. Do các uricase có tính kháng nguyên nên có thể xuất hiện các kháng thể kháng lại thuốc, làm giảm tác dụng thuốc và các phản ứng do tiêm truyền khá thường gặp, bao gồm cả shock phản vệ [10].

❖ Kiểm hóa nước tiểu

Kiểm hóa niệu bằng các loại nước khoáng có kiềm hoặc nước kiềm natri bicarbonat 1,4 %: uống khoảng 250 – 500 ml mỗi ngày [10].

1.1.4.3. Các phương pháp điều trị khác

❖ Phục hồi chức năng

Trong cơn gút cấp tính, điều trị phục hồi bằng nhiệt lạnh trị liệu, điện phân trị liệu, siêu âm trị liệu, bất động khớp nhằm giảm đau, chống viêm.

Trong giai đoạn gút mạn tính thì vận động khớp nhẹ nhàng, giảm đau bằng dòng điện xoay chiều, xoa bóp các khớp, cơ [28].

❖ Chế độ dinh dưỡng và vận động

- Hạn chế thực phẩm giàu purine, phủ tạng động vật, cá hồi, sò điệp, thịt cừu, bê, dê, thịt hun khói.

- Tránh bia và rượu mạnh, lượng rượu vừa phải không liên quan với một đợt gút cấp.

- Chế độ ăn giảm béo, giảm các đồ uống có nhiều đường fructose để ngăn ngừa xơ vữa động mạch, giảm cân.

- Ăn nhiều rau xanh, uống nhiều nước và không nên ăn chay.

- Tránh các stress [20].

- ❖ Điều trị ngoại khoa

Phẫu thuật cắt bỏ hạt tôphi được chỉ định trong trường hợp gút kèm biến chứng loét, bội nhiễm hạt tôphi hoặc hạt tôphi kích thước lớn, ảnh hưởng đến vận động hoặc vì lý do thẩm mỹ. Khi phẫu thuật lưu ý cho dùng colchicin nhằm tránh khởi phát cơn gút cấp [4].

1.2. QUAN ĐIỂM CỦA Y HỌC CỔ TRUYỀN VỀ BỆNH GÚT

1.2.1. Bệnh danh

Y học cổ truyền cho rằng bệnh Gút thuộc phạm vi chứng Thống phong. Chứng Thống phong được mô tả lần đầu tiên trong sách Đan Khê Tâm Pháp, ngoài ra còn được gọi là Lịch Tiết Phong, Bạch Hổ Phong, Bạch Hổ Lịch Tiết [20].

1.2.2. Bệnh nguyên và cơ chế bệnh sinh

1.2.2.1 Bệnh nguyên

Trong chương “Tê thấp” sách Nam Dược thần hiệu, Tuệ Tĩnh đã viết “Nguyên nhân gây bệnh là do nguyên khí hư yếu; phong, hàn và thấp, ba khí xâm nhập vào mà sinh bệnh. Nếu phong thắng thì đau chạy khắp, gọi là phong tý hay hành tý. Hàn khí thắng thì đau nhức dữ dội, gọi là hàn tý hay thống tý. Thấp khí thắng thì đau nhức cố định một chỗ, tê dại, cẩu không biết đau, gọi là thấp tý hay trước tý”[21].

Nguyên nhân còn do ngoại tà xâm phạm vào cơ thể làm bế tắc kinh lạc, khí huyết ứ trệ tại các khớp gây sưng, đau, co duỗi vận động khó. Lúc đầu bệnh còn ở bì phu kinh lạc, lâu ngày tà khí vào gân xương, tạng phủ khí huyết, tân dịch ứ trệ lâu này hóa đàm, đàm uất kết thành u cục quanh khớp, dưới da. Bệnh biểu hiện nhiều năm, đôi khi xuất hiện đợt cấp làm tổn thương Can, Thận, làm biến dạng các khớp [22]

1.2.2.2. Cơ chế bệnh sinh: [20]

Đàm thấp trở trệ, khớp xương không thông:

Ăn nhiều cao lương mĩ vị, tổn thương tỳ vị, tỳ mất kiện vận, thấp uất lâu ngày tích tụ lại thành đàm, uẩn trở ở khớp xương, bất thông tắc thống.

Chu Đan Khê thời Kim nguyên viết: người béo khớp chi đau đa phần là do phong thấp và đàm ẩm, lưu trú tại kinh lạc mà gây đau.

Nội thương tình chí, huyết mạch ứ trở:

Hỉ nộ bất tiết, ưu tư không ngừng, lâu ngày khí uất, khí cơ nghịch loạn, khí loạn huyết trệ, bế trở kinh lạc, tổn thương xương khớp, dẫn đến thống phong.

Ngoại cảm tà độc, huyết nhiệt:

Do sinh hoạt hàng ngày không điều độ dẫn đến khí uất, khí uất thành nhiệt, hoặc thấp uất hóa tảo dẫn đến huyết nhiệt, lại cảm phải phong hàn thấp, nhiệt tà độc lập đi lập lại, gây ra huyết nhiệt rục cháy bên trong. Hai yếu tố này tấn công vào khớp mà hình thành thống phong.

Bất nội ngoại nhân

Đây là thói quen sinh hoạt như uống nhiều rượu bia, hút thuốc lá, ăn uống không vệ sinh, không điều độ; chế độ làm việc – nghỉ ngơi không hợp lý, trong đó chế độ ăn uống đóng một vai trò rất quan trọng đối với nguyên nhân gây bệnh thống phong.

1.2.3. Chẩn đoán và điều trị theo thể bệnh Y học cổ truyền: [20]

1.2.3.1. Đàm thấp

Chủ chứng:

Khớp ngón chân, khớp ngón tay đau kịch liệt, khớp xương biến dạng, hoạt động hạn chế, ngực phiền tức, tiêu hóa kém, toàn thân, đầu mặt nặng nề. Mạch hoạt hoặc huyền, hoặc trầm, lưỡi giáng, rêu trắng hoặc khô.

Biện chứng luận trị:

Do đàm thấp uẩn kết ở các khớp, ất hoạt động trở ngại, khớp biến dạng. Đàm thấp khốn tỳ, tỳ mất kiện vận ất ngực bụng đầy chướng, tiêu hóa kém. Thấp tà dính bản, thịnh lên ất toàn thân, đầu nặng nề.

Pháp điều trị:

Trừ thấp hóa đàm, lợi niệu.

Phương thuốc:

Tỳ giải phân thanh ẩm (Đan Khê tâm pháp):

Tỳ Giải	08g	Phục Linh	04g
Bạch Truật	04g	Đan Sâm	06g
Xa Tiên Tử	06g	Liên Tử	03g
Hoàng Bá	06g	Thạch Xương Bò	02g

Sắc uống ngày 01 thang.

Phương huyết:

Tiền đình, Nội quan, Hợp cốc, Trung quản, Túc tam lý, Phong long, Công tôn.

Hoặc châm Bách hội, Tâm du, Thận du, Ủy trung, Côn Lôn, Âm lăng tuyền.

1.2.3.2. Thấp nhiệt**Chủ chứng:**

Khớp ngón chân ngón tay đau, bên ngoài sưng đỏ, sờ vào đau tăng, đa phần do ăn nhiều cao lương mĩ vị, uống nhiều rượu mà phát. Thích mát lạnh mà ghét ấm nóng, người nóng phiền táo, miệng đắng họng khô, đại tiểu tiện bất lợi. Mạch nhu hoawjc sắc, khẩn hoặc trầm huyền. Chất lưỡi giáng, rêu lưỡi vàng bẩn.

Biện chứng:

Do thấp nhiệt uẩn kết mà dẫn đến, thấp nhiệt lưu lại ở khớp ắt sinh ra đau khớp. Khi gặp phải nhiệt tà, ắt đau thậm chí sưng đỏ. Nhiệt gặp lạnh ắt tán, vì thế các khớp gặp lạnh thì đau giảm. Nhiệt tà có tính đi lên, làm tổn hại đến thần minh mà toàn thân phiền táo. Nhiệt tà thương tân ắt họng khô miệng đắng, thấp khốn tỳ vị mà sinh ra đại tiểu tiện bất lợi. Thấp nhiệt uẩn kết mà sinh ra mạch và lưỡi như trên.

Pháp điều trị:

Thanh nhiệt trừ thấp, thư cân.

Phương thuốc:

Gia bị tam diệu ẩm.

Tam nhân thang (Ôn bệnh điều biện) gia Hoàng bá, Thương truật, Thổ phục linh:

Hạnh nhân	12g	Bạch đậu khấu	08g
Hoạt thạch phi	24g	Ý dĩ nhân	24g
Thông thảo	08g	Bán hạ chế	12g
Hoàng bá	08g	Thương truật	08g
Thổ phục linh	12g		

Sắc uống ngày 01 thang

Phương huyết:

Khúc trì, Hợp cốc, Thủy đạo, Thủy phần, Phong long hoặc Tỳ du, Trật biên, Bàng quang du, Hoàn khiêu.

1.2.3.3. Thể huyết ứ

Chủ chứng:

Khớp đau, đau kịch liệt hoặc không ngừng, sắc tím tối, đau tăng về đêm. Đầu đau, phiền cáu, bên ngoài khớp trở nên cứng, vận động hạn chế. Miệng khô nóng, tâm quý. Mạch huyền khẩn, lưỡi đỏ giáng, có điểm ứ, rêu trắng hoặc khô.

Biện chứng:

Do huyết ứ trở trệ ở khớp mà dẫn đến. Huyết ứ lâu ngày hóa nhiệt bốc lên, tổn thương đầu não, ất đau phiền cáu. Ứ nhiệt thương tân ất miệng khô nóng. Huyết ứ lâu ngày, huyết không dưỡng tân, ất thấy triệu chứng tâm quý. Khớp không đau di chuyển, hoạt động trở ngại là do huyết ứ ở khớp, đọng lại mà thành, trở ngại sự vận động của khớp. Ban đêm âm khí nhiều, huyết ngưng càng nhiều ất đau tăng.

Pháp điều trị:

Hoạt huyết trục ứ, thông lạc.

Phương thuốc:

Bổ dương hoàn ngũ thang (Y lâm cải thác)

Đương quy	08g	Xuyên khung	04g
Đào nhân	04g	Hồng hoa	04g
Địa long	04g	Xích thược	06g
Hoàng kỳ	120g		

Sắc uống ngày 01 thang

Phương huyết:

Hợp cốc, Trung quản, Dương trì, Huyết hải, Thái Xung hoặc châm Cách du, Chí thương, Ủy trung, Thân mạch, a thị.

1.2.3.4. Thể Âm hư

Chủ chứng:

Đau khớp, bên ngoài nóng, miệng họng khi táo, tâm quý, lòng bàn chân, bàn tay nóng, mắt ngủ mơ nhiều, tinh thần bất an, tiểu ít đại tiện bí. Dễ nôn nóng haowjc ngực đau tức. Mạch tế sắc, hoặc tế huyền hoặc trầm huyền. Lưỡi giáng, rêu trắng hoặc khô.

Biện chứng:

Âm hư là do tâm hỏa căng thịnh dẫn đến. Âm hư nội nhiệt, nội nhiệt thương tân ất miệng khô họng táo, tiểu ít, đại tiện bí kết. Âm hư không chế được dương làm dương khang thịnh, tâm hỏa thượng viêm ất tâm quý. Tâm hỏa thiêu đốt huyết mạch ất ngực đau tức, lòng bàn tay caahn nóng. Hư hỏa thượng viêm, đầu não do hư hỏa khuấy động mà dẫn đến dễ nôn nóng, tinh thần bất an. Mạch và lưỡi là do âm hư bất túc, tâm hỏa trọc khang mà dẫn đến.

Pháp trị:

Tư âm thanh nhiệt, dưỡng tâm.

Phương thuốc:

Tam giáp dưỡng tâm thang

Mẫu lệ	20g	Miết giáp	32g
Quy bản	40g	Mạch đông	20g
Tang kí sinh	16g	Đan sâm	20g
Bách hợp	12g	Trúc nhự	08g
Toan táo nhân	12g	Quế nhục	08g

Sắc uống ngày 01 thang

Bát tiên trường thọ thang gia Bách hợp, Thăng ma, Tam thất, Nữ trinh tử, Bạch thực.

Phương huyết:

Thần môn, Nội quan, Cự khuỷết, Huyết hải, Phong thị, Dương lăng tuyền, Thái Khê, Thái Xung hoặc châm Bách lao, Cách du, Cao hoang, Thừa phù, Côn Lôn, Thân mạch.

1.3. TỔNG QUAN VỀ VIÊN NANG ĐTG TRONG NGHIÊN CỨU**1.3.1. Thành phần Viên nang ĐTG trong nghiên cứu****1.3.1.1. Thành phần**

- Gồm 12 vị thuốc: Thổ Phục Linh, Quy Vĩ, Thiên Niên Kiện, Ngưu Tất, Ý Dĩ, Dây Đau Xương, Kê Huyết Đằng, Tỳ Giải, Uy Linh Tiên, Hy Thiêm, Cốt Khí Củ, Dây Gắm.

- Các vị thuốc được sử dụng trong nghiên cứu được bào chế theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V.

Bảng 1.2. Thành phần Viên nang ĐTG trong nghiên cứu

STT	Tên vị thuốc	Tên La tinh	Hàm lượng
1	Thổ Phục Linh	<i>Rhizoma Smilacis glabrae</i>	16g
2	Quy Vĩ	<i>Radix Angelicae sinensis</i>	12g
3	Thiên Niên Kiện	<i>Rhizoma Homalomenae occulta</i>	08g
4	Ngưu Tất	<i>Radix Achyranthis bidentatae</i>	12g
5	Ý Dĩ	<i>Semen coicis</i>	16g
6	Dây Đau Xương	<i>Caulis Tinosporae sinensis</i>	12g
7	Kê Huyết Đằng	<i>Caulis Spatholobi suberecti</i>	16g
8	Tỳ Giải	<i>Rhizoma Dioscorae</i>	12g
9	Uy Linh Tiên	<i>Radix et rhizoma Clematidis</i>	08g
10	Hy Thiêm	<i>Herba Siegesbeckiae</i>	16g
11	Cốt Khí Củ	<i>Radix Polygoni cuspidati</i>	12g
12	Dây Gắm	<i>Radix et Caulis Gneti</i>	16g

- Chủ trị: Dùng trong các trường hợp Gout cấp, Gout mạn, đợt cấp của Gout mạn tính và viêm khớp do Gout.

- Tác dụng: Thanh nhiệt, trừ thấp, khử ứ thông lạc, cường gân cốt.

1.3.1.2. Nguồn gốc bài thuốc

- Dựa vào Bài thuốc kinh nghiệm của Bệnh viện Y Học Cổ truyền Trung Ương.

- Sản xuất tại Khoa dược Bệnh viện YHCT TW.

- Viên nén đạt tiêu chuẩn cơ sở.

1.3.2. Các vị thuốc trong Viên nang DTG

Thổ phục linh (*Rhizoma Smilacis glabrae*)

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Thổ phục linh, còn có tên gọi là Khúc Khắc (*Smilax glabra* Roxb), họ Khúc Khắc (*Smilacaceae*).

- Tính vị quy kinh: Cam, đạm, bình. Vào các kinh Can, Vị.

- Công năng, chủ trị:

Trừ thấp, giải độc, lợi niệu, thông lợi các khớp.

Chủ trị: tràng nhạc, lở ngứa, giang mai, tiêu đục, xích bạch đới, đau nhức xương khớp, trúng độc thủy ngân.

- Cách dùng, liều lượng:

Ngày dùng từ 12g-30g, dạng thuốc sắc, cao thuốc hoặc hoàn tán.

Kiêng kỵ: không nên uống nước chè khi dùng thuốc, không dùng cho người có can thận âm hư [23].

Quy vĩ (*Radix Angelicae sinensis*)

Rễ củ đã phơi hay sấy khô của cây Đương quy di thực từ Nhật Bản [*Angelica acutiloba* (Sieb. et Zucc.) Kitagawa], họ Hoa tán (*Apiaceae*).

- Tính vị, quy kinh Cam, tân, ôn. Vào các kinh can, tâm, ty.

- Công năng, chủ trị :

Bổ huyết, hành huyết, hoạt huyết, điều kinh, nhuận tràng, thông đại tiện.

Chủ trị: Kinh nguyệt không đều, đau bụng khi thấy kinh, thắt lưng đau, băng lậu, đại tiện khô táo, đi lỵ đau bụng.

- Cách dùng, liều lượng Ngày dùng từ 6 g đến 15 g, dạng thuốc sắc[23].

Thiên niên kiện (*Rhizoma Homalomenae occulta*)

Thiên niên kiện là thân rễ cây Thiên niên kiện còn gọi là củ (*Homalomena occulta* (Lour) Schott.), họ Ráy (*Araceae*).

- Tính vị, qui kinh:
- Vị đắng, hơi ngọt, tính nóng. Qui vào kinh can, thận.
- Tác dụng: Trừ phong thấp, bổ thận.
- Ứng dụng: dùng chữa đau khớp, làm khỏe mạnh gân, xương.
- Liều lượng: 6 – 12g/ngày.
- Tác dụng dược lý:

Tăng cường miễn dịch của cơ thể

Kháng viêm cả đối với viêm cấp và mạn tính

Tác dụng an thần

Tác dụng giãn mạch, làm tăng lưu lượng máu động mạch vành và hạ huyết áp [24]

Theo nghiên cứu của tác giả Hoàng Thị Thanh Thảo (2013), Thiên niên kiện là một trong bốn dược liệu tiềm năng nhất có tác dụng hạ acid uric máu thông qua cơ chế ức chế enzym Xanthin Oxydase [25]

Ngưu Tất (*Radix Achyranthis bidentatae*)

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Ngưu tất (*Achyranthes bidentata* Blume), họ Rau Dền (*Amaranthaceae*).

Ngưu tất là rễ phơi khô của cây Ngưu tất (*Achyranthes bidentatae* Blume), họ Dền (*Amaranthaceae*).

- Tính vị quy kinh: Vị đắng chua, tính bình, quy vào kinh can thận.
- Tác dụng: Hoạt huyết, bổ can thận, mạnh gân cốt
- Ứng dụng lâm sàng:
- Hoạt huyết thông kinh, thư cân mạnh gân cốt, lợi niệu thông lâm
- Liều: 6 – 12g/ngày.
- Tác dụng dược lý:

Ngưu tất có tác dụng chống viêm, giảm đau. Dịch chiết cồn với liều 5g/kg chuột uống 5 ngày liền, có tác dụng chống viêm khớp thực nghiệm.

Saponin chiết từ ngưu tất cũng có tác dụng đó.

Ngưu tất có tác dụng hạ áp, hạ đường huyết, hạ cholesterol máu, lợi mật.

Tác dụng lợi niệu, kích thích tăng co bóp tử cung của chó và thỏ [24].

Ý dĩ (Semen Coicis)

Hạt của quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Ý dĩ (*Coix lacrymajobi* var. *mayuen* (Rom.Caill.) Stapf), họ Lúa (*Poaceae*).

- Tính vị, quy kinh:

Cam, hàn. Quy vào kinh tỳ, phế.

- Công năng, chủ trị:

Kiên tỳ, bổ phế, thân nhiệt, chỉ tả, bài nùng, lợi thấp.

Chủ trị: Phù thũng, tê thấp chân tay co rút, ỉa chảy do tỳ hư, phế ung, trường ung, cước khí, bí tiểu.

- Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 10 g đến 30 g [23].

Dây đau xương (*Caulis Tinosporae sinensis*)

Thân đã thái phiến phơi hay sấy khô của cây Dây đau xương [*Tinospora sinensis* (Lour.) Merr.], họ Tiết dê (*Menispermaceae*).

- Tính vị, quy kinh

Dây đau xương Khô, lương. Quy vào kinh can.

- Công năng, chủ trị

Dây đau xương Khu phong trừ thấp, thư cân hoạt lạc.

Chủ trị: Phong thấp tê bại, đau nhức cơ khớp. Dùng ngoài chữa đẹn dật, sang chấn, rắn cắn.

- Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 12 g đến 20 g, dạng thuốc sắc hay ngâm rượu để uống hay dùng ngoài [23].

Theo nghiên cứu của Xiong H, Ding X, Jiang H và cộng sự thì Dây đau xương có tác dụng chống viêm khớp do tác dụng ức chế sản xuất cytokine tiền viêm và điều chỉnh giảm con đường tín hiệu MAPK [6].

Kê huyết đằng (*Caulis Spatholobi suberecti*)

Thân đã thái thành phiến phơi hay sấy khô của cây Kê huyết đằng (*Spatholobus suberectus* Dunn), họ Đậu (Fabaceae).

• Tính vị, quy kinh

Khô, cam, ôn. Vào các kinh can, thận.

• Công năng, chủ trị

Hoạt huyết thông lạc, bổ huyết.

Chủ trị:

Chứng huyết hư gây huyết ứ trệ, bế thống kinh, chấn thương tụ huyết, phong thấp đau lưng, đau xương khớp.

• Cách dùng, liều lượng:

Ngày dùng từ 10 g đến 16 g, dạng thuốc sắc.

Dùng ngoài: Lượng thích hợp. [23]

Tỳ giải (*Rhizoma Dioscoreae*)

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Tỳ giải (*Dioscorea septemloba* Thunb hoặc *Dioscorea futschauensis* Uline ex R. Kunth), họ Củ nâu (Dioscoreaceae).

• Tính vị, quy kinh

Khô, bình. Vào các kinh can thận, vị, bàng quang.

• Công năng, chủ trị

Phân thanh trừ trọc, khu phong trừ thấp.

Chủ trị: Cao lâm (đái đục), bạch đới quá nhiều; sang độc do thấp nhiệt, đau lưng đầu gối.

• Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, dạng thuốc sắc, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ Không dùng cho người âm hư hỏa vượng, đau lưng do thận hư. [23]

Uuy linh tiên (*Clematis chinensis*)

Rễ và thân đã phơi khô của cây Uy Linh Tiên (*Clematis chinensis* Osbeck) và một loài khác cùng chi (*Clematis Haxapetala* Pall., *Clematis manshurica* Rupr), họ Hoàng liên (*Ranunculaceae*)

- Tính vị, quy kinh của uy linh tiên :

Tân, hàn, ôn. Vào kinh bàng quang.

- Công năng, chủ trị của uy linh tiên

Khu phong, trừ thấp, thông kinh lạc, chỉ thống.

Chủ trị: Phong tê thấp các khớp chi, gân mạch co rút khó cử động, dân gian dùng chữa họng hóc xương cá.

- Cách dùng, liều lượng uy linh tiên

Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc. Kiên kỵ uy linh tiên

Huyết hư gây gân co rút, không phong thấp thực tà thì không dùng.[23]

Hy thiêm (*Herba Siegesbeckiae*)

Bộ phận trên mặt đất đã phơi hay sấy khô của cây Hy thiêm (*Siegesbeckia orientalis* L.), họ Cúc (*Asteraecae*).

- Tính vị, quy kinh:

Khô, hàn. Vào các kinh can, thận.

- Công năng, chủ trị

Trừ phong thấp, thanh nhiệt, giải độc.

Chủ trị: Đau lưng, gối, xương khớp; chân tay tê buốt, mụn nhọt.

- Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 12 g, dạng thuốc sắc

Cốt khí củ (*Radix Polygoni cuspidati*)

Rễ củ phơi hay sấy khô của cây cốt khí (*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.), họ Rau răm (*Polygonaceae*).

- Tính vị, quy kinh

Vi khả, vi hàn. Vào các kinh can, đờm, phế.

- Công năng, chủ trị

Trừ thấp, chỉ ho, hóa đờm.

Chủ trị: Xương khớp đau nhức, hoàng đản, phế nhiệt gây ho, ho nhiều đờm, mụn nhọt lở loét.

- Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, dạng thuốc sắc. Dùng ngoài, lượng thích hợp, sắc lấy nước để bôi, rửa hoặc chế thành cao, bôi.[23]

Dây gấm (*Radix et Caulis Gneti*)

- Tính vị, quy kinh

Vị đắng, tính bình. Vào các kinh can, đờm, phế.

- Công năng, chủ trị

Sát trùng, trừ thấp, giải độc, tiêu viêm, thư cân, hoạt huyết và khu phong.

Chủ trị trong điều trị sốt rét, ngộ độc, đau nhức xương khớp, bị sơn ăn và chứng thống phong (bệnh gout)

- Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 15 – 30g/ngày, dạng thuốc sắc [23]

1.4 TỔNG QUAN VỀ CÁC MÔ HÌNH NGHIÊN CỨU

1.4.1. Mô hình gây viêm khớp Gout do tinh thể MSU gây ra [26]

Sự hình thành tinh thể MSU là bước quan trọng đầu tiên trong quá trình tiến triển của bệnh Gút, tinh thể MSU kích hoạt phản ứng viêm của tế bào vì vậy thông qua thí nghiệm này có thể đánh giá được tác dụng chống viêm của thuốc nghiên cứu trên thực nghiệm.

Tinh thể urate monosodium được tạo ra bằng cách hòa tan axit uric trong 800 mL H₂O với 9 mL 0,5 N (Bình thường) NaOH (natri hydroxit) và điều chỉnh độ pH đến 8,9 ở 60° C. Tinh thể được rửa sạch và sấy khô sau khi làm nguội qua đêm ở nhiệt độ rất thấp. Các tinh thể giống như những chiếc kim được thu thập và lơ lửng trong nước muối vô trùng [27]. Chuột nhắt, chuột cống hoặc thỏ được chia ngẫu nhiên thành năm nhóm chính (Đối chứng, Colchicine và thuốc nghiên cứu ở ba liều). Colchicine hoặc hợp chất thử nghiệm được cấp cho mỗi nhóm một lần một ngày trong năm ngày. Một giờ sau lần tiêm cuối cùng, động vật được truyền nước muối sinh lý bình thường cho nhóm đối chứng và huyền phù 50 µl tinh thể MSU (25

mg/mL) cho bốn nhóm còn lại dưới gây mê nội khớp ở phía trong của khớp mắt cá chân phải [28].

Mức độ viêm được đo bằng cách sử dụng thước cặp vernier. Thang đo Vernier được sử dụng để đo độ dày của bàn chân ở những khoảng thời gian khác nhau trong ba ngày. Các con vật được hi sinh sau 72 giờ. Máu của mỗi con vật được lấy để tách huyết thanh. Gan và lá lách được mổ xẻ để tạo thành 10% đồng nhất. Quá trình đồng nhất hóa bao gồm việc sử dụng dung dịch đệm Tris-HCL (Hydrochloric Acid) 0,01 M(mol) lạnh và pH 7,4. Các enzyme lysosomal, peroxid hóa lipid, tình trạng chống oxy hóa và yếu tố hoại tử khối u trung gian gây viêm đều được đo trong các chất đồng nhất mô từ lá lách, gan và huyết thanh [28].

1.4.2. Mô hình gây đau quặn (Writhing Tests)

Đau có thể xảy ra do tiêm nhiều chất kích thích khác nhau (ví dụ, axit axetic) vào khoang màng bụng của chuột dẫn đến phản ứng quặn quai đặc trưng. Các xét nghiệm như vậy rất hữu ích để phát hiện các tác nhân có tác dụng giảm đau ngoại biên chủ yếu ở mức độ nhẹ đến trung bình cũng như tác dụng giảm đau trung tâm mạnh (ví dụ, thuốc ức chế cyclooxygenase và opioid, tương ứng).

Chất thử nghiệm được tiêm po (100 mg/kg) cho một nhóm 5 con chuột đực ICR nặng 23 ± 3 g một giờ trước khi tiêm axit axetic (0,5%, 20 mL/kg ip). Số lần quặn quai được ghi lại trong khoảng thời gian từ 5 đến 10 phút sau khi tiêm axit axetic. ANOVA theo sau là thử nghiệm của Dunnett được áp dụng để so sánh giữa phương tiện và nhóm điều trị. $p < 0,05$ được coi là đáng kể. Thử nghiệm được đề xuất: $n=5$ /nhóm (phụ thuộc vào thiết kế nghiên cứu). Tác dụng giảm đau được đánh giá ở liều ban đầu là 100 mg/kg. Thể tích định lượng 10 mL/kg.

Ý nghĩa thí nghiệm: đánh giá tác dụng giảm cơn đau quặn do Acid Acetic gây ra. ANOVA theo sau là thử nghiệm của Dunnett được áp dụng để so sánh giữa nhóm chứng và nhóm thí nghiệm. [29]

1.4.3. Mô hình tăng axit uric máu do Kali oxonate [26]

Kali oxonate, một chất ức chế uricase cạnh tranh, gây tăng axit uric máu ở loài gặm nhấm [30]. Mô hình nghiên cứu dựa trên nguyên tắc cơ bản là tăng nguồn axit

uric, giảm bài tiết axit uric và ức chế uricase được sử dụng để thiết lập mô hình chuột tăng axit uric máu. Kali oxonate là chất ức chế vai trò của uricase và gây tăng axit uric máu ở chuột, chuột nhắt, thỏ, chó và lợn [31].

Một mô hình động vật thí nghiệm về chứng tăng axit uric máu được bắt đầu bằng cách sử dụng kali oxonate và được sử dụng để xác định tác dụng chống tăng axit uric máu của thuốc nghiên cứu. Tóm lại, mỗi con vật, ngoại trừ những con trong nhóm đối chứng bình thường, nhận được 250 mg/kg kali oxonate hòa tan trong dung dịch muối 0,9% trong màng bụng 1 giờ trước khi uống hợp chất thử nghiệm, mỗi ngày một lần, trong 3 ngày thí nghiệm. 1 giờ Sau lần dùng thuốc cuối cùng, chuột được gây mê bằng ketamine và xylazine (lần lượt là 100 mg/kg và 20 mg/kg) để lấy máu từ động mạch chủ bụng. Máu được phép đông lại trong khoảng 1 giờ ở nhiệt độ phòng trước khi được ly tâm trong 10 phút ở tốc độ 2500 vòng/phút (vòng quay mỗi phút). Huyết thanh được phân lập và lắng đọng ở 20°C trước khi thực hiện xét nghiệm axit uric [32].

1.4.4. Mô hình đánh giá tác dụng ức chế enzym xanthin oxidase in vitro

Xanthine oxidase (XO) là một enzyme có vai trò quan trọng trong quá trình tổng hợp axit uric. XO là enzyme xúc tác quá trình hydroxyl hóa hypoxanthine thành xanthine và xanthine thành axit uric, đây là hai phản ứng trong giai đoạn cuối cùng của quá trình chuyển hóa purin trong cơ thể. Vì vậy việc sử dụng mô hình đánh giá ức chế enzym XO của thuốc nghiên cứu là vô cùng cần thiết.

Hoạt tính ức chế XO đã được thử nghiệm bằng phương pháp đo quang phổ trên các đĩa 96 giếng, dựa trên quy trình sửa đổi được mô tả trước đây bởi Noro et al. với những sửa đổi nhỏ [33]. Tóm lại, thuốc thử là dung dịch đệm phosphat 70nmol/L pH 7,5, dung dịch xanthine 150nmol/L hòa tan trong dung dịch đệm phosphat (pH 7,5) và dung dịch XO 0,01 IU/mL (pha loãng từ dung dịch enzyme gốc vào dung dịch đệm). Dịch chiết metanol ban đầu được chuẩn bị trong dimethyl sulfoxide (DMSO), sau đó pha loãng bằng dung dịch đệm. Hỗn hợp bao gồm 35 μ L dung dịch đệm photphat, 50 μ L dung dịch thử và 30 μ L dung dịch XO được ủ trước trong 15 phút ở 25°C. Sau đó, phản ứng được bắt đầu bằng việc tự động thêm 60 μ L

dung dịch xanthine vào hỗn hợp trên. Hỗn hợp phản ứng cuối cùng được ủ trong 30 phút ở 25°C. Phản ứng được dừng lại bằng cách thêm 25 µL dung dịch HCl 1 mol/L trước khi đo độ hấp thụ ở bước sóng 290 nm trên máy quang phổ vi đĩa Bio Tek Epoch. Mẫu trắng được chuẩn bị theo cách tương tự, tuy nhiên thứ tự thêm cơ chất và dung dịch HCl bị đảo ngược.

CHƯƠNG 2

CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. CHẤT LIỆU NGHIÊN CỨU

2.1.1. Thuốc nghiên cứu

Viên nang ĐTG, hàm lượng 500mg/viên, sản xuất tại Khoa dược Bệnh viện Y học cổ truyền Trung ương, đạt tiêu chuẩn cơ sở.

Viên nang ĐTG được bào chế từ bài thuốc với các thành phần như bảng 2.1.

Bảng 2.1. Thành phần các vị thuốc trong Viên nang ĐTG

STT	Tên vị thuốc	Tên khoa học	Hàm lượng
1	Thổ Phục Linh	<i>Rhizoma Smilacis glabrae</i>	16g
2	Quy Vĩ	<i>Radix Angelicae sinensis</i>	12g
3	Thiên Niên Kiện	<i>Rhizoma Homalomenae occulta</i>	08g
4	Ngưu Tất	<i>Radix Achyranthis bidentatae</i>	12g
5	Ý Dĩ	<i>Semen coicis</i>	16g
6	Dây Đau Xương	<i>Caulis Tinosporae sinensis</i>	12g
7	Kê Huyết Đẳng	<i>Caulis Spatholobi suberecti</i>	16g
8	Tỳ Giải	<i>Rhizoma Dioscorae</i>	12g
9	Uy Linh Tiên	<i>Radix et rhizoma Clematidis</i>	08g
10	Hy Thiêm	<i>Herba Siegesbeckiae</i>	16g
11	Cốt Khí Củ	<i>Radix Polygoni cuspidati</i>	12g
12	Dây Gắm	<i>Radix et Caulis Gneti</i>	16g
Tổng			156g

Mỗi thang thuốc trên lâm sàng cho người trưởng thành dùng trong 2 ngày. Từ 01 thang thuốc (có 156g dược liệu khô), bào chế được thành 24 viên nang ĐTG hàm lượng 500mg/viên. Trên cơ sở đó, dự kiến liều sử dụng trên người là 12 viên/ngày, tương ứng 120mg/kg/ngày. Bột thuốc trong viên nang được cho phân tán đều trong nước cất và được cho chuột uống cưỡng bức bằng kim cong đầu tù

chuyên dụng. Quy đổi ra liều trên chuột cống trắng (hệ số 7) là 840mg/kg/ngày; liều trên chuột nhắt trắng (hệ số 12) là 1440mg/kg/ngày.

2.1.2. Hóa chất dùng trong nghiên cứu

- Monosodium urate, Colchicine (Sigma, Mỹ)
- Kali oxonat, hypoxanthine (Sigma, Mỹ).
- Allopurinol, xanthin oxidase (Sigma, Mỹ).
- Các hoá chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học.

2.1.3. Máy móc và dụng cụ phục vụ nghiên cứu

- Kim cong đầu tù cho chuột uống,
- Cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1ml.
- Máy xét nghiệm sinh hóa Screen - Master của hãng Hospitex Diagnostic, Italy.
- Cân điện tử của Nhật, độ chính xác 0,001 gam.
- Máy đo quang UV Aligent technologies cary 60 UV-Vis, Mỹ.
- Kính hiển vi quang học.
- Các dụng cụ, thiết bị làm tiêu bản mô bệnh học.
- Các dụng cụ thí nghiệm khác.

2.2. ĐỘNG VẬT NGHIÊN CỨU

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, khỏe mạnh, thuần chủng, cả hai giống, trọng lượng 18 - 22g. Chuột cống trắng chủng Wistar, giống đực, trưởng thành, khỏe mạnh, trọng lượng từ 200-250g. Các chuột thí nghiệm được cung cấp bởi ban động vật – Học viện Quân y. Các chuột khỏe mạnh được đánh giá gồm: lông mượt, mắt trong, hậu môn khô, hoạt động, vận động bình thường, ăn uống bình thường, chất thải bình thường. Việc lựa chọn chuột nghiên cứu được tiến hành bởi 2 kỹ thuật viên có nhiều kinh nghiệm. Sau khi lựa chọn xong, trực tiếp cán bộ nghiên cứu kiểm tra, đánh giá lại.

Động vật được nuôi dưỡng trong điều kiện chuẩn về thời gian sáng tối, nhiệt độ, thức ăn chuẩn dành riêng cho từng loài, nước sạch đun sôi để nguội uống tự do. Động vật được nuôi dưỡng trong phòng nuôi động vật thí nghiệm ít nhất một tuần trước khi tiến hành thí nghiệm. Số lượng chuột thí nghiệm được trình bày ở bảng 2.2.

Bảng 2.2. Số lượng động vật thực nghiệm

Động vật	n	Tiêu chuẩn	Nghiên cứu
Chuột nhắt trắng chủng Swiss	50	Cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 18 - 22g	Đánh giá tác dụng hạ acid uric
Chuột cống trắng chủng Wistar	50	Giống đực, khỏe mạnh, trọng lượng 200 - 250g	Đánh giá tác dụng chống viêm trên chuột cống gây viêm khớp gout

2.3. THỜI GIAN VÀ ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được thực hiện tại Bộ môn Dược Lý, Học Viện Quân Y

Thời gian: 11/2023 – 03/2024

2.4. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.4.1. Đánh giá tác dụng chống viêm, giảm đau

2.4.1.1. Đánh giá tác dụng chống viêm trên chuột cống gây viêm khớp Gút

Gây mô hình viêm khớp gout trên chuột cống trắng bằng cách tiêm MSU - monosodium urate vào khoang hoạt dịch khớp cổ chân chuột [34] .

Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (chứng sinh học): tiêm nước muối sinh lý + uống nước cất
- Lô 2 (chứng bệnh): tiêm MSU + uống nước cất.
- Lô 3 (chứng dương): tiêm MSU + uống colchicine liều 0,3 mg/kg/ngày.
- Lô 4 (trị 1): tiêm MSU + uống thuốc NC liều 840mg/kg/ngày.
- Lô 5 (trị 2): tiêm MSU + uống thuốc NC liều 1680mg/kg/ngày.

Chuột được uống nước cất (lô 1, 2), colchicine (lô 3) và thuốc nghiên cứu (lô 4, 5) trong 9 ngày. Vào ngày thứ 6, tất cả các chuột (trừ lô 1) được tiêm 3 mg MSU (hòa tan trong nước muối sinh lý, thể tích tiêm 0,1ml) vào khoang hoạt dịch khớp cổ chân phải, 1 giờ trước khi uống thuốc. Lô 1 được tiêm nước muối sinh lý liều 0,1 ml

Đường kính vòng tròn chu vi khớp cổ chân phải của tất cả chuột ở 0, 12, 24 và 48 giờ sau khi tiêm MSU được đo bằng thước cặp vernier caliper.

Tỷ lệ phù viêm (%) được đánh giá theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ phù viêm (\%)} = (Dt - D0)/D0 \times 100\%.$$

Trong đó D_t là đường kính đo tạo thời điểm t sau khi tiêm MSU, D_0 là đường kính đo tại thời điểm 0 giờ.

Ngày thứ 9, 1 giờ sau khi uống thuốc lần cuối, máu chuột được lấy để đánh giá cytokine TNF- α .

Kết thúc thí nghiệm, chuột được hy sinh, khớp cổ chân phải được bóc tách và cố định trong 4% paraformaldehyde. Mô học khớp cổ chân phải được nhuộm bằng hematoxylin và eosin và được đánh giá bởi các chuyên gia mô bệnh học tại Bộ môn khoa giải phẫu pháp y, bệnh viện 103.

2.4.1.2. Đánh giá tác dụng giảm đau theo mô hình gây đau quặn (Writhing Tests)

Theo phương pháp nghiên cứu của Koster và cs (1959)[35].

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

+ Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất.

+ Lô 2 (tham chiếu): Aspirin liều 200 mg/kg.

+ Lô 3 (lô trị 1): uống thuốc NC liều 1440mg/kg/ngày

+ Lô 4 (Lô trị 2): uống thuốc NC liều 2880mg/kg/ngày

Chuột được uống thuốc 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:

$$A\% = \frac{D_c - D_t}{D_c} \times 100$$

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

2.4.2. Đánh giá tác dụng hạ acid uric máu của Viên nang ĐTG trên thực nghiệm

2.4.2.1. Đánh giá tác dụng ức chế enzym xanthin oxidase in vitro

Đánh giá tác dụng ức chế xanthin oxidase của mẫu thử trên đĩa UV 96 giếng Costar 365 theo quy trình được mô tả bởi Nguyen MT [36] và Duong NT[37].

Nguyên tắc: Xanthine oxidase (XO) có tác dụng xúc tác phản ứng hình thành acid uric. Phương trình phản ứng như sau:



Acid uric có bước sóng hấp thu cực đại tại 290nm. Vì vậy, hoạt độ xanthin oxidase được xác định thông qua lượng acid uric tạo thành được đo ở bước sóng 290 nm. Nếu mẫu thử có khả năng ức chế XO càng cao sẽ hạn chế sự hình acid uric, do đó sẽ làm giảm giá trị mật độ quang. Mẫu có chất thử được so sánh với mẫu không có chất thử để đánh giá tác dụng ức chế XO.

Cách tiến hành:

Chuẩn bị mẫu thử ĐTG: Bột cao khô trong viên nang ĐTG được pha trong DMSO tạo thành dung dịch gốc có nồng độ 1 mg/mL. Sau đó dung dịch gốc này được pha loãng bằng dung dịch đệm phosphate thành các nồng độ 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400µg/mL.

Chuẩn bị mẫu đối chiếu: Allopurinol được pha loãng bằng dung dịch đệm phosphate thành các nồng độ 2,5; 5; 10; 20; 40 µg/ml.

Tiến hành thí nghiệm: Trên mỗi đĩa UV 96 giếng Costar 3635 gồm có: giếng chứng, các giếng đối chiếu (allopurinol) và các giếng thử. Trong các giếng chứng/đối chiếu/thử được cho tương ứng gồm: 50µl dung dịch đệm/dung dịch allopurinol/dung dịch thử, 35µl dung dịch đệm phosphat 70mM, pH= 7,5, 30µl dung dịch enzym (0,01U/ml trong dung dịch đệm phoshat 70mM, pH=7,5) được chuẩn bị ngay trước khi sử dụng. Sau khi ủ ở 25°C trong 15 phút, thêm 60µl xanthin 150µM, tiếp tục ủ ở 25°C trong 30 phút. Ngừng phản ứng bằng cách cho thêm 25µl HCl 1N, đo mật độ quang (OD) ở bước sóng 290nm. Song song với mỗi mẫu chứng, mẫu đối chiếu, mẫu thử có một mẫu trắng của chứng, mẫu trắng của đối chiếu, mẫu trắng của thử được

tiến hành tương tự nhưng thay đổi trình tự cho enzym vào giếng (enzym được cho vào sau HCl 1N). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần cho mỗi nồng độ.

Tỷ lệ phần trăm ức chế (I) của mẫu thử tại một nồng độ nhất định được tính theo công thức sau:

$$I = \frac{\Delta OD \text{ chứng} - \Delta OD \text{ thử}}{\Delta OD \text{ chứng}} \times 100\%$$

Trong đó:

$\Delta OD \text{ chứng} = OD \text{ chứng} - OD \text{ trắng chứng};$

$\Delta OD \text{ thử} = OD \text{ thử} - OD \text{ trắng thử}$

Xác định nồng độ ức chế 50% hoạt độ xanthin oxidase (IC50) và khoảng tin cậy 95% (95% CI) của mẫu thử, chất đối chiếu dựa trên tỷ lệ phần trăm ức chế tại các nồng độ khác nhau (5 nồng độ/mẫu), sử dụng phần mềm excel.

2.4.2.2. Đánh giá tác dụng hạ acid uric trên chuột nhắt gây tăng acid uric trong nhiều ngày

Gây mô hình tăng acid uric máu trên chuột nhắt trắng bằng cách tiêm màng bụng kali oxonat liều 300 mg/kg kết hợp uống hypoxanthine 300 mg/kg trong 7 ngày [38].

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (chứng sinh học): không gây tăng acid uric máu + uống nước cất
- Lô 2 (chứng bệnh): gây tăng acid uric máu + uống nước cất.
- Lô 3 (tham chiếu): gây tăng acid uric máu + uống allopurinol liều 20 mg/kg.
- Lô 4 (trị 1): gây tăng acid uric máu + uống thuốc NC liều 1440mg/kg/ngày.
- Lô 5 (trị 2): gây tăng acid uric máu + uống thuốc NC liều 2880mg/kg/ngày.

Các lô gây tăng acid uric máu (lô 2 đến lô 5), chuột được tiêm màng bụng kali oxonat liều 300 mg/kg đồng thời uống hypoxanthine 300 mg/kg. Lô chứng sinh học (lô 1), chuột được tiêm màng bụng CMC-Na 0,5%, đồng thời uống nước cất. Trước khi tiêm và uống thuốc gây mô hình 1,5 giờ, chuột không được ăn nhưng được uống nước bình thường. Quá trình tiêm và uống thuốc gây mô hình kéo dài trong 7 ngày, mỗi ngày 1 lần vào 8h sáng. Một giờ sau tiêm và uống thuốc gây mô hình, chuột được cho uống thuốc nghiên cứu (lô 4, 5), allopurinol (lô 3) hoặc nước cất (lô 1, 2). Quá trình cho chuột dùng

thuốc nghiên cứu cũng kéo dài trong 7 ngày, mỗi ngày 1 lần vào 9h sáng (1 giờ sau tiêm và uống thuốc gây mô hình).

Sau khi uống thuốc nghiên cứu vào ngày thứ 6, chuột ở các lô được đưa vào trong lồng hứng nước tiểu riêng. Nước tiểu của từng chuột được thu trong khoảng thời gian 24 giờ [39], ly tâm lấy dịch trong để định lượng nồng độ acid uric và creatinin niệu.

Ngày thứ 6 chuột được cho nhịn ăn qua đêm. Một giờ sau khi uống thuốc nghiên cứu ở ngày thứ 7, lấy máu chuột ở tất cả các lô, ly tâm lấy huyết thanh để định lượng nồng độ acid uric và creatinin máu.

Phân suất bài tiết acid uric (Fractional excretion of uric acid – FEUA) là % acid uric được lọc bởi cầu thận và bài tiết ra nước tiểu, được tính theo công thức sau: [40].

$$FEUA = \frac{\text{Nồng độ acid uric niệu/Nồng độ acid uric máu}}{\text{Nồng độ creatinin niệu/Nồng độ creatinin máu}}$$

2.5. ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU

- Nghiên cứu được thông qua Hội đồng bảo vệ đề cương Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam và được triển khai theo đúng đề cương đã được phê duyệt.

- Nghiên cứu được thực hiện trên chuột cống trắng, số lượng động vật sử dụng trong các mô hình thí nghiệm được hạn chế ở mức tối thiểu, đủ để thu được kết quả đảm bảo độ tin cậy và đủ xử lý thống kê. Những chuột chết trong quá trình làm thí nghiệm (nếu có) và số chuột sau khi thí nghiệm hoàn thành đều được xử lý theo đúng quy định.

- Trung thực trong xử lý số liệu.

2.6. PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ SỐ LIỆU

Các số liệu nghiên cứu trên động vật được xử lý theo các phương pháp thống kê y sinh học, so sánh bằng anova test sử dụng phần mềm SPSS 20.0. Số liệu được biểu diễn dưới dạng Mean ± SD. Sự khác biệt có ý nghĩa khi p < 0,05.

2.7. SAI SỐ VÀ BIỆN PHÁP KHÔNG CHẾ SAI SỐ

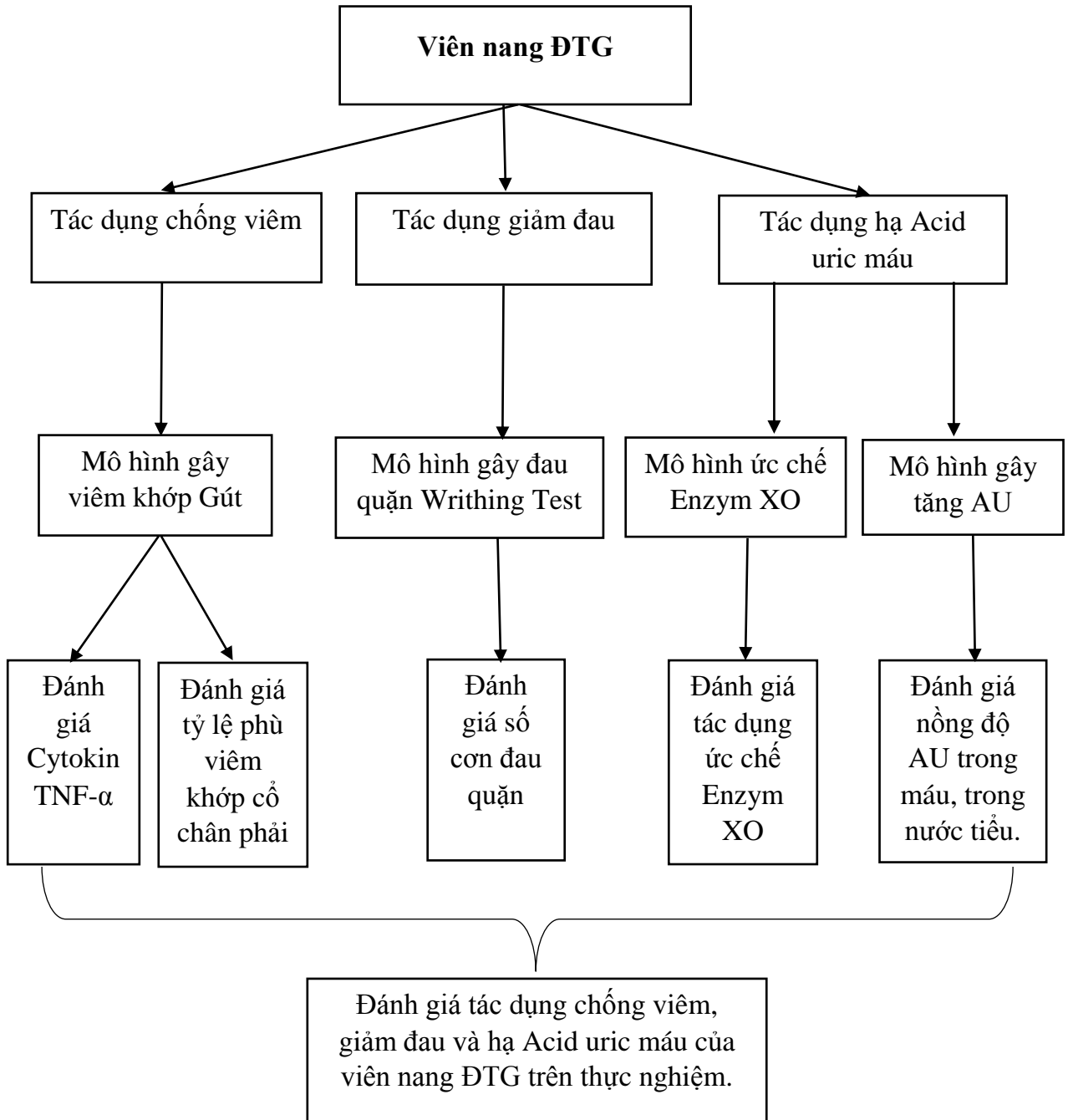
Các phương pháp được áp dụng để hạn chế tối đa các sai số có thể xảy ra trong quá trình thu thập, phân tích và xử lý số liệu:

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

- Số liệu được đo đạc cẩn thận và chính xác bằng các dụng cụ, máy móc tại phòng thí nghiệm. Lưu trữ số liệu, thông tin bằng sổ ghi chép, chụp ảnh.

- Xử lý số liệu bằng phần mềm chuyên dụng trên máy tính.

• SƠ ĐỒ NGHIÊN CỨU



Sơ đồ 2.1: Sơ đồ nghiên cứu

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. KẾT QUẢ CHỐNG VIÊM, GIẢM ĐAU

3.1.1. Tác dụng chống viêm trên chuột cống gây viêm khớp gút

3.1.1.1. Mức độ phù viêm khớp cổ chân phải của chuột

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của viên nang ĐTG tới tỷ lệ phù viêm khớp cổ chân phải của chuột ở các thời điểm sau gây viêm (n = 10 ở mỗi lô, $\bar{X} \pm SD$)

Các lô thí nghiệm	% tỷ lệ phù viêm khớp cổ chân phải của chuột ở các thời điểm sau gây viêm		
	X12%	X24%	X48%
Chứng sinh học (1)	9,63 ± 2,27	5,10 ± 0,91	2,94 ± 0,37
Chứng bệnh lý (2)	23,36 ± 4,09	18,93 ± 3,15	10,38 ± 1,23
Colchicine 0,3mg/kg/ngày (3)	19,89 ± 2,49	16,28 ± 1,98	9,03 ± 1,38
ĐTG liều 1 840mg/kg/ngày (4)	18,48 ± 2,33	15,36 ± 2,24	8,48 ± 1,19
ĐTG liều 2 1680mg/kg/ngày (5)	18,10 ± 1,94	15,02 ± 1,94	8,09 ± 1,56
p ₂₋₁	< 0,001	< 0,001	< 0,001
p ₃₋₂	< 0,05	< 0,05	< 0,05
p _{4,5-2}	< 0,01	< 0,01	< 0,01
p _{4,5-3}	> 0,05	> 0,05	> 0,05
p ₅₋₄	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Nhận xét:

- So với lô chứng sinh học, lô chứng bệnh lý có % tỷ lệ phù viêm khớp cổ chân phải của chuột ở các thời điểm sau gây viêm tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

- Lô tham chiếu dùng colchicine và 2 lô dùng viên nang ĐTG có % tỷ lệ phù viêm khớp cổ chân phải của chuột ở các thời điểm sau gây viêm giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý với $p < 0,05$ và $p < 0,01$.

- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) khi so sánh giữa 2 lô dùng viên nang ĐTG với nhau cũng như so sánh với lô dùng colchicine.

3.1.1.2. Kết quả về sự thay đổi nồng độ cytokine TNF- α máu chuột

Bảng 3. 2 Ảnh hưởng của viên nang ĐTG tới nồng độ cytokine TNF- α máu chuột

Các lô thí nghiệm	Nồng độ cytokine TNF- α máu chuột (pg/mL) (n = 10 ở mỗi lô, Mean \pm SD)		
	Mean \pm SD	% so với (1)	% so với (2)
Chứng sinh học (1)	341,41 \pm 35,50	100,00 %	86,67 %
Chứng bệnh lý (2)	393,90 \pm 45,16	115,37 %	100,00 %
Colchicine (0,3mg/kg/ngày) (3)	352,11 \pm 34,46	103,14 %	89,39 %
ĐTG liều 1 (840mg/kg/ngày) (4)	345,71 \pm 47,49	101,26 %	87,77 %
ĐTG liều 2 (1680mg/kg/ngày) (5)	339,98 \pm 40,16	99,58 %	86,31 %
p ₂₋₁	< 0,01	-	-
p ₃₋₂	< 0,05	-	-
p _{4,5-2}	< 0,05	-	-
p _{4,5-3}	> 0,05	-	-
p ₄₋₅	> 0,05	-	-

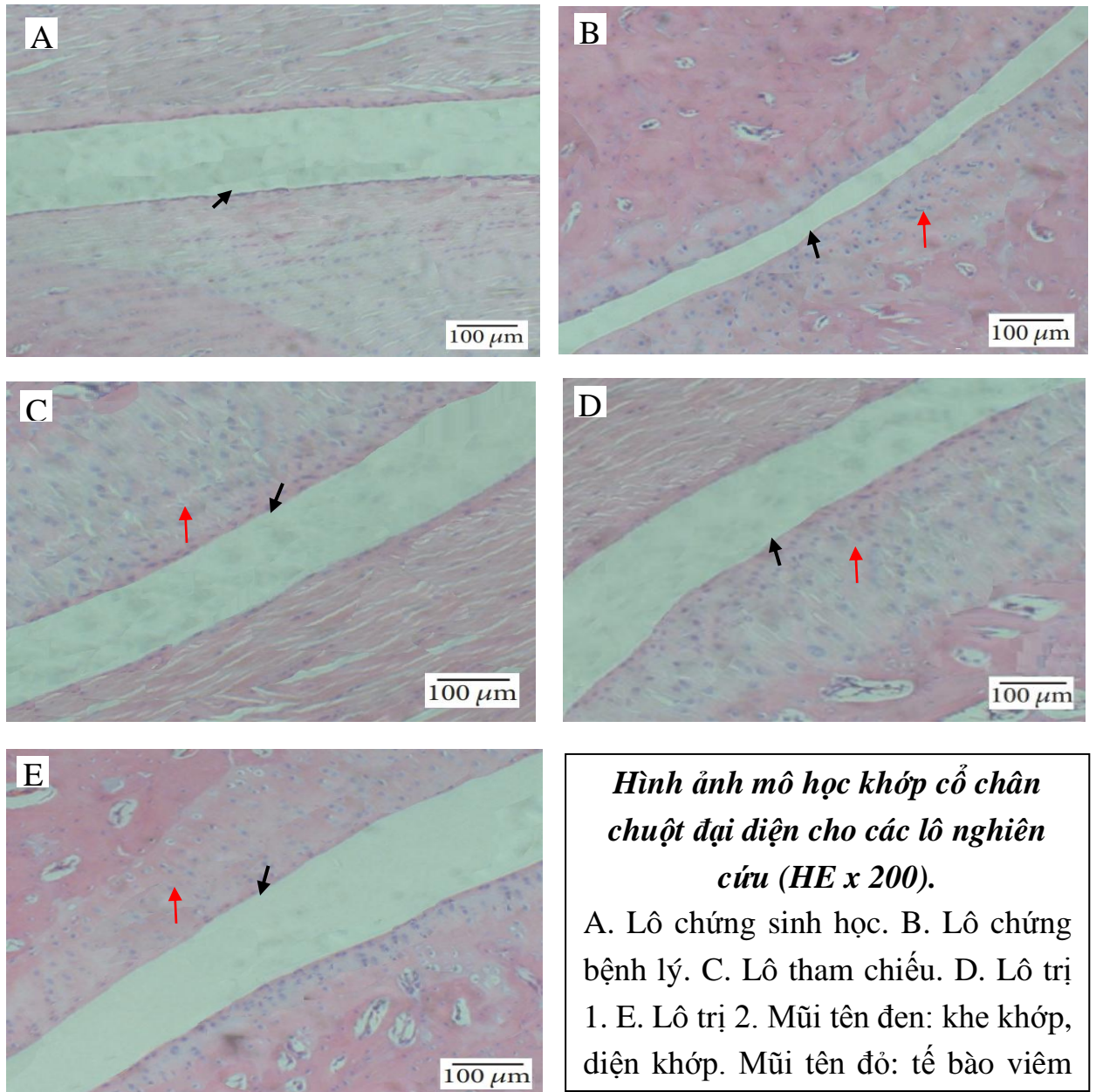
Nhận xét:

- So với lô chứng sinh học, lô chứng bệnh lý có nồng độ cytokine TNF- α máu chuột tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- Lô tham chiếu dùng colchicine và 2 lô dùng viên nang ĐTG có nồng độ cytokine TNF- α máu chuột giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý với $p < 0,05$.

- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) khi so sánh giữa 2 lô dùng viên nang ĐTG với nhau cũng như so sánh với lô dùng colchicine.

3.1.1.3. Kết quả mô học khớp cổ chân chuột



Hình 3.1: Kết quả mô học khớp cổ chân chuột cống trắng

Nhận xét: Đánh giá mô học của khớp cổ chân chuột cống trắng chủng Wistar thông qua nhuộm H&E, quan sát bằng kính hiển vi độ phóng đại 200x. Ở lô chứng sinh học (hình A), hình ảnh cấu trúc mô học khớp bình thường. Ở lô chứng bệnh lý (hình B), khe khớp bị thu hẹp, có nhiều tế bào viêm thâm nhiễm. Các lô tham chiếu uống Colchicine (hình C) và trị 1 (hình D), trị 2 (hình E) đã đảo ngược đáng kể những thay đổi bệnh lý này ở khớp cổ chân chuột.

3.1.2. Kết quả giảm đau trên mô hình gây đau quận ở chuột nhắt trắng

3.1.2.1. Thời gian tiềm xuất hiện đáp ứng với đau của chuột

**Bảng 3.3. Ảnh hưởng của viên nang DTG tới thời gian xuất hiện đau quận
(n = 10 ở mỗi lô)**

Lô nghiên cứu	Thời gian xuất hiện đau sớm nhất (giây)	Thời gian xuất hiện đau trễ nhất (giây)	Trung bình thời gian xuất hiện đau (giây)	
			Mean ± SD	p
Lô chứng (1)	181,3	366,9	281,26 ± 66,12	p_{2,3,4-1} < 0,05 p _{3,4-2} > 0,05 p ₃₋₄ > 0,05
Aspirin (2) (200 mg/kg)	267,3	482,6	366,83 ± 81,36	
DTG liều 1 (3) (1440mg/kg/ngày)	265,6	452,4	353,36 ± 80,49	
DTG liều 2 (4) (2880mg/kg/ngày)	260,8	497,4	359,90 ± 86,63	

Nhận xét:

- Thời gian xuất hiện đau quận sớm nhất cũng như thời gian xuất hiện đau quận trễ nhất ở các lô dùng thuốc đều lớn hơn so với ở lô chứng sinh lý.

- So với lô chứng, các lô dùng thuốc nghiên cứu và lô dùng thuốc tham chiếu Aspirin có trung bình thời gian xuất hiện đau lớn hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Như vậy, thuốc nghiên cứu và thuốc tham chiếu Aspirin đều thể hiện tác dụng làm thời gian xuất hiện đau quận muộn hơn so với lô chứng.

- So với lô tham chiếu dùng Aspirin, các lô dùng thuốc nghiên cứu có trung bình thời gian xuất hiện đau sau tiêm acid acetic là tương đương, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh giữa 2 lô dùng thuốc nghiên cứu, trung bình thời gian xuất hiện đau sau tiêm acid acetic ở 2 lô này là tương đương ($p > 0,05$).

3.1.2.2. Kết quả số cơn đau quặn trong các khoảng thời gian 5 phút sau tiêm acid acetic

Bảng 3.4: Ảnh hưởng của viên nang ĐTG lên số cơn quặn đau của chuột nhắt trắng

(n = 10 ở mỗi lô, Mean ± SD)

Lô chuột	Số cơn quặn đau (số cơn/5 phút)			
	0 - 5 phút	> 5 - 10 phút	> 10 - 15 phút	> 15 - 20 phút
Lô chứng (1)	2,30 ± 2,41	11,60 ± 2,59	12,70 ± 2,79	11,30 ± 2,71
Aspirin (2) (200mg/kg)	0,60 ± 0,84	8,80 ± 2,15	9,70 ± 2,63	8,50 ± 2,68
ĐTG liều 1 (3) (1440mg/kg/ngày)	0,80 ± 0,79	9,10 ± 2,47	10,00 ± 2,36	8,80 ± 2,44
ĐTG liều 2 (4) (2880mg/kg/ngày)	0,70 ± 0,82	8,90 ± 2,51	9,60 ± 2,67	8,20 ± 2,97
p_{2,3,4-1}	> 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
p_{3,4-2}	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
p₃₋₄	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Nhận xét:

Trong cả 4 khoảng thời gian đo, số cơn đau quặn ở các lô dùng thuốc nghiên cứu và lô tham chiếu luôn nhỏ hơn so với lô chứng sinh lý. Tuy nhiên, tại các khoảng thời gian đo 0-5 phút, sự khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Tại các khoảng thời gian đo 5-10 phút, 10-15 phút và 15-20 phút, sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

3.1.2.3. Kết quả số cơn đau quặn trong tổng thời gian 20 phút sau tiêm acid acetic

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của viên nang ĐTG tới tổng số cơn đau quặn trong 20 phút sau tiêm acid acetic (n = 10 ở mỗi lô, Mean ± SD)

Lô chuột	Số cơn đau quặn trong 20 phút sau tiêm acid acetic	Tỷ lệ (%) giảm số cơn đau quặn so với lô chứng sinh lý
Lô chứng (1)	37,90 ± 9,60	-
Aspirin (2) (200mg/kg)	27,60 ± 6,11	27,18
ĐTG liều 1 (3) (1440mg/kg/ngày)	28,70 ± 6,22	24,27
ĐTG liều 2 (4) (2880mg/kg/ngày)	27,40 ± 7,50	27,70
p_{2,3,4-1}	< 0,05	-
p_{3,4-2}	> 0,05	-
p₃₋₄	> 0,05	-

Nhận xét:

- So với lô chứng, số cơn đau quặn trong cả 20 phút sau tiêm acid acetic ở cả 2 lô dùng thuốc nghiên cứu liều 1, liều 2 và lô dùng thuốc tham chiếu Aspirin đều nhỏ hơn có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Tính toán ở trong khoảng thời gian 20 phút này, tỉ lệ phần trăm làm giảm số cơn đau quặn ở lô dùng Aspirin liều 200 mg/kg/ngày, và các lô dùng ĐTG liều 1, liều 2, lần lượt là 27,18 %; 24,27 %; và 27,70 %.

- So với lô tham chiếu dùng Aspirine liều 200 mg/kg/ngày, số cơn đau quặn trong cả 20 phút sau tiêm acid acetic ở các lô dùng thuốc nghiên cứu cả 2 mức liều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p_{3,4-2} > 0,05$).

- So với ở lô dùng thuốc nghiên cứu liều thấp, ở lô dùng thuốc nghiên cứu liều cao có số cơn đau quặn trong cả 20 phút sau tiêm acid acetic ít hơn chưa có ý nghĩa thống kê ($p_{3-4} > 0,05$).

*** Kết quả quan sát các chuột trong thí nghiệm đánh giá tác dụng giảm đau của Viên nang ĐTG trong mô hình gây đau quặn Writhing test.**



Hình 3.2 Hình ảnh chuột nhắt trắng chủng Swiss xảy ra phản ứng cơn đau quặn trong mô hình gây đau quặn Writhing Test.

Nhận xét: Kết quả quan sát các chuột: thóp bụng, áp bụng xuống sàn, duỗi dài thân và chân sau trong thí nghiệm đánh giá tác dụng giảm đau bằng mô hình gây đau quặn Writhing test.

3.2. KẾT QUẢ HẠ ACID URIC MÁU CỦA VIÊN NANG ĐTG TRÊN THỰC NGHIỆM

3.2.1. Kết quả ức chế enzym xanthin oxidase in vitro

Bảng 3.1. Phần trăm ức chế enzym Xanthin oxidase ở các nồng độ khác nhau (mỗi nồng độ thử 3 lần)

Mẫu thử (viên nang ĐTG)					
Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	25	50	100	200	400
Phần trăm ức chế (%)	$23,21 \pm 0,74$	$29,86 \pm 0,86$	$38,03 \pm 1,54$	$51,12 \pm 1,17$	$76,61 \pm 2,53$
Mẫu đối chiếu (Alluperinol)					
Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	2,5	5,0	10,0	20,0	40,0
Phần trăm ức chế (%)	$32,65 \pm 1,09$	$41,37 \pm 1,12$	$51,89 \pm 1,90$	$69,06 \pm 1,53$	$86,08 \pm 0,92$

Nhận xét:

- Trong khoảng nồng độ từ 25 $\mu\text{g/mL}$ đến 400 $\mu\text{g/mL}$, phần trăm ức chế enzym Xanthin oxidase của mẫu thử (viên nang ĐTG) tăng dần từ 23,21 % đến 76,61 %.
- Trong khoảng nồng độ từ 2,5 $\mu\text{g/mL}$ đến 40,0 $\mu\text{g/mL}$, phần trăm ức chế enzym Xanthin oxidase của Alluperinol tăng dần từ 32,65 % đến 86,08 %.

Bảng 3.7. Nồng độ ức chế 50% hoạt độ xanthin oxidase (IC50) và khoảng tin cậy 95% (95% CI) của mẫu thử.

Mẫu thử	IC50 ($\mu\text{g/mL}$)	95% CI ($\mu\text{g/mL}$)
Viên nang ĐTG	199,98	192,53 – 207,42
Alluperinol	11,33	10,32 – 12,34

Nhận xét:

- Nồng độ ức chế 50% hoạt độ xanthin oxidase (IC50) của viên nang ĐTG là 199,98 $\mu\text{g/mL}$, khoảng tin cậy 95% là 192,53 – 207,42.
- Nồng độ ức chế 50% hoạt độ xanthin oxidase (IC50) của Alluperinol là 11,33 $\mu\text{g/mL}$, khoảng tin cậy 95% là 10,32 – 12,34.

3.2.2. Kết quả hạ acid uric trên chuột nhắt gây tăng acid uric trong nhiều ngày

3.2.2.1. Kết quả định lượng nồng độ acid uric và creatinin niệu

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của viên nang ĐTG tới nồng độ acid uric niệu của chuột (n = 10 ở mỗi lô, Mean ± SD)

Các lô thí nghiệm	Nồng độ acid uric niệu của chuột (mg/dl)		
	Mean ± SD	% so với (1)	% so với (2)
Chứng sinh học (1)	36,21 ± 3,88	100 %	122,41 %
Chứng bệnh lý (2)	29,58 ± 3,14	81,68 %	100 %
Allopuriol (20mg/kg) (3)	35,04 ± 4,50	96,78 %	118,47 %
ĐTG liều 1 (1440mg/kg/ngày) (4)	39,91 ± 4,46	110,21 %	134,91 %
ĐTG liều 2 (1440mg/kg/ngày) (5)	41,21 ± 5,77	113,80 %	139,31 %
p ₂₋₁	< 0,001	-	-
p ₃₋₂	< 0,01	-	-
p _{4,5-2}	< 0,001	-	-
p _{4,5-3}	< 0,05	-	-
p ₄₋₅	> 0,05	-	-

Nhận xét:

- So với lô chứng sinh học, nồng độ acid uric niệu của chuột ở lô chứng bệnh lý giảm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

- So với lô chứng bệnh lý, nồng độ acid uric niệu của chuột ở các lô tham chiếu, trị 1, trị 2 tăng, lần lượt bằng 118,47%, 134,91% và 139,31%, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$ và $p < 0,001$.

- So với lô tham chiếu dùng allopurinol, nồng độ acid uric niệu của chuột ở 2 lô dùng viên nang ĐTG cao hơn có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) khi so sánh giữa 2 lô dùng viên nang ĐTG với nhau.

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của viên nang ĐTG tới nồng độ creatinin niệu của chuột
(n = 10 ở mỗi lô, Mean ± SD)

Các lô thí nghiệm	Nồng độ creatinin niệu của chuột (mg/dl)		
	Mean ± SD	% so với (1)	% so với (2)
Chứng sinh học (1)	44,82 ± 4,52	100 %	117,92 %
Chứng bệnh lý (2)	38,01 ± 4,60	84,80 %	100 %
Allopuriol (20mg/kg) (3)	42,32 ± 3,99	94,42 %	111,33 %
ĐTG liều 1 (1440mg/kg/ngày) (4)	42,02 ± 2,51	93,76 %	110,56 %
ĐTG liều 2 (2880mg/kg/ngày) (5)	43,66 ± 3,38	97,42 %	114,87 %
p ₂₋₁	< 0,01	-	-
p ₃₋₂	< 0,05	-	-
p _{4,5-2}	< 0,05	-	-
p _{4,5-3}	> 0,05	-	-
p ₄₋₅	> 0,05	-	-

Nhận xét:

- So với lô chứng sinh học, nồng độ creatinin niệu của chuột ở lô chứng bệnh lý giảm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- So với lô chứng bệnh lý, nồng độ creatinin niệu của chuột ở các lô tham chiếu, trị 1, trị 2 tăng, lần lượt bằng 111,33%; 110,56% và 114,87%, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) khi so sánh giữa 2 lô dùng viên nang ĐTG với nhau cũng như so sánh với lô dùng allopurinol.

3.2.2.2. Kết quả định lượng giảm nồng độ acid uric và creatinin máu chuột

**Bảng 3.10. Ảnh hưởng của viên nang ĐTG tới nồng độ acid uric máu chuột
(n = 10 ở mỗi lô, Mean ± SD)**

Các lô thí nghiệm	Nồng độ acid uric máu của chuột (mg/dl)		
	Mean ± SD	% so với (1)	% so với (2)
Chứng sinh học (1)	6,28 ± 0,81	100 %	76,07 %
Chứng bệnh lý (2)	8,25 ± 1,05	131,29 %	100 %
Allopuriol (20mg/kg) (3)	6,52 ± 0,49	103,89 %	79,08 %
ĐTG liều 1 (1440mg/kg/ngày) (4)	6,64 ± 0,51	105,73 %	80,48 %
ĐTG liều 2 (2880mg/kg/ngày) (5)	6,24 ± 0,56	99,39 %	75,66 %
p ₂₋₁	< 0,001	-	-
p ₃₋₂	< 0,01	-	-
p _{4,5-2}	< 0,01	-	-
p _{4,5-3}	> 0,05	-	-
p ₄₋₅	> 0,05	-	-

Nhận xét:

- So với lô chứng sinh học, nồng độ acid uric máu của chuột ở lô chứng bệnh lý tăng có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

- So với lô chứng bệnh lý, nồng độ acid uric máu của chuột ở các lô tham chiếu, trị 1, trị 2 giảm, lần lượt bằng 79,08%; 80,48% và 75,66%, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) khi so sánh giữa 2 lô dùng viên nang ĐTG với nhau cũng như so sánh với lô dùng allopurinol.

**Bảng 3.11. Ảnh hưởng của viên nang ĐTG tới nồng độ creatinin máu chuột
(n = 10 ở mỗi lô, Mean ± SD)**

Các lô thí nghiệm	Nồng độ creatinin máu chuột (mg/dl)		
	Mean ± SD	% so với (1)	% so với (2)
Chứng sinh học (1)	0,196 ± 0,022	100,00 %	83,16 %
Chứng bệnh lý (2)	0,236 ± 0,034	120,24 %	100,00 %
Allopuriol (20mg/kg) (3)	0,203 ± 0,014	103,72 %	86,26 %
ĐTG liều 1 (1440mg/kg/ngày) (4)	0,208 ± 0,018	105,97 %	88,13 %
ĐTG liều 2 (2880mg/kg/ngày) (5)	0,203 ± 0,033	103,37 %	85,96 %
p ₂₋₁	< 0,01	-	-
p ₃₋₂	< 0,05	-	-
p _{4,5-2}	< 0,05	-	-
p _{4,5-3}	> 0,05	-	-
p ₄₋₅	> 0,05	-	-

Nhận xét:

- So với lô chứng sinh học, nồng độ creatinin máu của chuột ở lô chứng bệnh lý tăng có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- So với lô chứng bệnh lý, nồng độ creatinin máu của chuột ở các lô tham chiếu, trị 1, trị 2 giảm, lần lượt bằng 86,26%; 88,13% và 85,96%, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) khi so sánh giữa 2 lô dùng viên nang ĐTG với nhau cũng như so sánh với lô dùng allopurinol.

Bảng 3.12. Ảnh hưởng của viên nang ĐTG tới phân suất bài tiết acid uric (FEUA) của chuột (n = 10 ở mỗi lô, Mean ± SD)

Các lô thí nghiệm	Phân suất bài tiết acid uric (FEUA)		
	Mean ± SD	% so với (1)	% so với (2)
Chứng sinh học (1)	0,025 ± 0,002	100,00 %	110,54 %
Chứng bệnh lý (2)	0,024 ± 0,005	90,46 %	100,00 %
Allopuriol (20mg/kg) (3)	0,026 ± 0,004	102,53 %	113,34 %
ĐTG liều 1 (1440mg/kg/ngày) (4)	0,030 ± 0,004	117,86 %	130,28 %
ĐTG liều 2 (2880mg/kg/ngày) (5)	0,031 ± 0,005	120,63 %	133,35 %
p ₂₋₁	> 0,05	-	-
p ₃₋₂	> 0,05	-	-
p _{4,5-2}	< 0,01	-	-
p _{4,5-3}	< 0,05	-	-
p ₄₋₅	> 0,05	-	-

Nhận xét:

- So với lô chứng sinh học, phân suất bài tiết acid uric (FEUA) của chuột ở lô chứng bệnh lý không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So với lô chứng bệnh lý, phân suất bài tiết acid uric (FEUA) của chuột ở các lô trị 1, trị 2 tăng, lần lượt bằng 113,34%, 130,28% và 133,35%, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- So với lô tham chiếu dùng allopurinol, phân suất bài tiết acid uric (FEUA) của chuột ở 2 lô dùng viên nang ĐTG cao hơn có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) khi so sánh giữa 2 lô dùng viên nang ĐTG với nhau.

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

4.1. BÀN LUẬN VỀ TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM, GIẢM ĐAU CỦA VIÊN NANG ĐTG TRÊN MÔ HÌNH THỰC NGHIỆM

Bệnh Gút là bệnh rất phổ biến với tỉ lệ mắc phải ở người trưởng thành là <1% đến 6,8% và tỷ lệ mắc 0,58-2,89 trên 1.000 người/năm và có xu hướng tăng ngày càng tăng [2]. Bệnh Gút có triệu chứng điển hình là các cơn đau cấp dữ dội, vô cùng khó chịu kèm theo triệu chứng viêm sưng nóng đỏ [41] ảnh hưởng chức năng sinh hoạt thường ngày. Tình trạng tăng AU trong dịch khớp làm lắng đọng các tinh thể hình kim gây tổn thương sụn, màng hoạt dịch, bao khớp. Qua chỗ sụn bị tổn thương các tinh thể xâm nhập xuống tận lớp xương dưới sụn, hình thành các hạt tophi có kích thước khác nhau. Khi hạt tophi vỡ sẽ gây ra các cơn gout cấp với các biểu hiện viêm khớp: sưng nóng đỏ đau [10]. Vì vậy, để đánh giá tác dụng hỗ trợ điều trị Gout của một thuốc không chỉ đánh giá tác dụng làm hạ AU mà còn cần đánh giá về tác dụng giảm đau và chống viêm. Trong nghiên cứu này để đánh giá tác dụng giảm đau, chống viêm của Viên nang ĐTG đã sử dụng 2 mô hình nghiên cứu đó là: mô hình gây đau quận Writhing Tests và mô hình gây viêm khớp Gút.

4.1.1. Tác dụng giảm đau của Viên nang ĐTG trên mô hình gây đau quận Writhing Tests

Giảm đau là một trong những mục tiêu điều trị cấp thiết của các thuốc trị Gút, để đánh giá được tác dụng giảm đau của thuốc nghiên cứu chúng tôi tiến hành trên mô hình gây đau quận bằng Acid Acetic.

Mô hình gây đau quận Writhing Test được tiến hành bằng cách tiêm phúc mạc bằng dung dịch Acid Acetic 0.6% liều 0.1ml/10g thể trọng. Đây là mô hình giảm đau ngoại vi do Acid Acetic là một tác nhân hóa học kích thích các địa thực bào và dưỡng bào có mặt ở phúc mạc giải phóng các chất gây đau TNF- α , IL- β , IL-8 [42] Sau khi tiêm acid acetic vào ổ bụng, ở tất cả các chuột đều có những cơn đau quận 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.

Theo phương pháp nghiên cứu của Koster [35] chuột được chia làm 4 lô và được cho uống lần lượt 4 nhóm: nước cất, aspirine liều 200 mg/kg, thuốc NC lần lượt với số liều 1440mg/kg/ngày và 2880mg/kg/ngày. Sau thí nghiệm thu được kết quả ở bảng 3.3 cho thấy ở liều nghiên cứu Viên nang ĐTG có thời gian làm chậm xuất hiện cơn đau quặn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) và tác dụng giảm đau tương tự Aspirine. Số cơn đau xuất hiện trong mỗi 5 phút ở các khoảng thời gian đo 5-10 phút, 10-15 phút, 15-20 phút có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) (kết quả bảng 3.4). Trong tổng thời gian 20 phút số cơn đau quặn ở lô nghiên cứu nhỏ hơn so với lô chứng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với tỉ lệ phần trăm lần lượt ở lô tham chiếu Aspirine và 2 liều nghiên cứu lần lượt là 27,18% ; 24,27% và 27,70% (kết quả bảng 3.5)

Như vậy, viên nang ĐTG ở liều điều trị trên lâm sàng đã có tác dụng giảm đau ngoại biên tương tự như Aspirine. Kết quả này thể hiện rõ cơ chế giảm đau của các thành phần dược liệu của viên nang ĐTG.

Một số nghiên cứu khác của các tác giả trong và ngoài nước cũng cho thấy tác dụng giảm đau của dược liệu YHCT trên mô hình thực nghiệm bằng phương pháp gây đau quặn Writhing Test. Theo Tạ Đăng Quang viên nang cứng Tam Diệu Gia Vị với liều 2,16g/kg có xu hướng giảm số cơn đau quặn ở tất cả các thời điểm và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô chứng tại các thời điểm 5-10 phút, 10-15 phút, 25-30 phút của nghiên cứu ($p < 0,05$) [43]. Theo Nguyễn Thị Bé Duyên viên hoàn cứng Thống Phong Hoàn bà Giàng ở cả 2 liều (1,037g/kg và 3,11g/kg) uống trong 5 ngày liên tục làm giảm rõ rệt số cơn đau quặn tại các thời điểm 10-15 phút, 15 -20 phút và 20-25 phút so với lô chứng ($p < 0,05$) [44]. Theo Ashagrie G và cộng sự thì trong mô hình Writhing Test tất cả các liều thử nghiệm chiết xuất 80% metanol của *Impatiens rothii* đều làm giảm đáng kể số lần đau quặn ($p < 0,001$) [45].

Như vậy qua các dẫn chứng trên thực nghiệm có thể thấy các dược liệu YHCT hoàn toàn có tác dụng giảm đau do bệnh Gút đem lại. Ngoài ra, tôi cũng tìm được một số kết quả nghiên cứu trong và ngoài nước chứng minh cho các vị thuốc cấu thành Viên nang ĐTG cũng có tác dụng chống viêm, giảm đau như:

Trong nghiên cứu của Chi X và cộng sự thì tác dụng của bài thuốc có chứa **Ý dĩ, Ngưu Tất, Thổ Phục Linh** có tác dụng giảm đau chống viêm mạnh mẽ khi kết hợp cùng Celecoxib [46].

Dây Đau Xương làm giảm đáng kể tình trạng sưng tấy ở bàn chân, tình trạng tăng cảm giác đau và mức độ nghiêm trọng của bệnh viêm khớp, đồng thời làm giảm sự tăng sinh mô hoạt dịch và thâm nhiễm tế bào viêm ở chuột CIA thông qua ức chế sản xuất các cytokine gây viêm và điều chỉnh giảm đường truyền tín hiệu MAPK[6].

Theo Y học cổ truyền, bệnh Gút có bệnh danh là Thống phong, Bạch hổ lịch tiết phong,...bệnh cơ do thấp uất lâu ngày tích tụ thành đàm, đàm uất trở trệ, uẩn trở ở khớp xương, bất tắc không thông mà “bất thông tắc thông” gây nên triệu chứng đau nhức dữ dội hoặc do tình chí thất thường làm cho khí uất nghịch loạn, huyết trệ ứ kết, kinh lạc không thông cũng gây nên triệu chứng đau trên lâm sàng của bệnh Gút [20]. Các vị thuốc có trong Viên nang ĐTG được phối phương cũng đã mang đến tác dụng điều trị này như : **Đương Quy** có tác dụng bổ huyết, hành huyết **Ngưu Tất** hoạt huyết, thông kinh, **Kê Huyết Đằng** hoạt huyết, thông lạc, **Ý Dĩ** thẩm thấp, **Uy Linh Tiên** thông kinh lạc, chỉ thống [23]. Đàm thấp trở trệ, thấp nhiệt uất kết , nhiệt bốc lên thiêu đốt khí huyết tân dịch, kinh lạc trở trệ, nghịch loạn, “Bất thông tắc thông, thông tắc bất thông”. Những loại dược liệu này phối hợp hài hòa vừa bổ huyết, vừa hành huyết, thông kinh hoạt lạc, nâng cao chính khí nên có tác dụng giảm đau, nâng cao thể trạng rất tốt trên lâm sàng.

4.1.2. Tác dụng chống viêm của Viên nang ĐTG trên thực nghiệm

Tình trạng viêm do cơn Gút cấp gây ra được đặc trưng bằng các triệu chứng điển hình: sưng, nóng, đỏ đau ở các khớp. Việc lắng đọng tinh thể urat cũng làm biến dạng hình dạng khớp vì thế để đánh giá được tác dụng chống viêm của thuốc

nghiên cứu tôi đã tiến hành mô hình tiêm MSU – monosodium urate vào khoang dịch mắt cá chân phải [34]. Sự hình thành tinh thể MSU là bước quan trọng đầu tiên trong quá trình tiến triển của bệnh Gút, tinh thể MSU kích hoạt phản ứng viêm của tế bào vì vậy thông qua thí nghiệm này có thể đánh giá được tác dụng chống viêm của thuốc nghiên cứu trên thực nghiệm.

Thuốc đối chứng được dùng trong thí nghiệm là Colchicine. Cơ chế tác dụng của Colchicine là gắn vào protein của tiểu quản (protein tubulin) trong tế bào bạch cầu và các tế bào di chuyển khác, vì thế, ngăn cản sự trùng hợp của những protein này trong vi tiểu quản (microtubulin), dẫn đến ức chế sự di chuyển của bạch cầu và giảm hoạt tính thực bào của bạch cầu hạt, làm giảm giải phóng acid lactic và các enzym gây viêm trong quá trình thực bào. Trong quá trình “tiêu hóa” các tinh thể urat, bạch cầu hạt sản xuất glycoprotein, chất này có thể là nguyên nhân gây ra cơn gút cấp tính. Colchicine ngăn cản sản xuất glycoprotein của bạch cầu hạt nên chống được cơn gút [47]. Với cơ chế đặc thù để điều trị viêm đau do bệnh gout cấp trên lâm sàng, Colchicine được sử dụng trong nghiên cứu này với vai trò là thuốc tham chiếu. Mặc dù vậy, tác dụng chống viêm của Colchicine ở mức độ hạn chế. Kết quả nghiên cứu cũng thể hiện rõ khi thuốc nghiên cứu thể hiện tác dụng chống viêm có xu hướng mạnh hơn so với thuốc tham chiếu Colchicin (bảng 3.1, 3.2).

Trong thí nghiệm này chuột được lấy máu để xác định nồng độ cytokine TNF- α và đo mức độ phù viêm khớp cổ chân phải được đánh giá bằng thước cặp Vernier caliper. Kết quả ở bảng 3.1 cho thấy Viên nang ĐTG với liều nghiên cứu 840mg/kg/ngày và 1680mg/kg/ngày có tỉ lệ làm giảm phù viêm khoang khớp cổ chân phải và giảm nồng độ cytokine TNF- α so với lô chứng bệnh lý có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Qua đó cho thấy được tác dụng chống viêm của Viên nang ĐTG trên thực nghiệm.

Ngoài ra, còn có rất nhiều nghiên cứu khoa học khác chứng minh được các thành phần dược liệu có trong viên nang ĐTG có tác dụng chống viêm giảm đau, điển hình là:

Thiên niên kiện là một dược liệu được sử dụng rộng rãi trong điều trị bệnh lý xương khớp và chống viêm bằng thuốc YHCT, Yang JL và cộng sự đã tiến hành một nghiên cứu về rễ cây Thiên niên kiện và kết quả thu được 19 sesquiterpenoid (1-19), các phân lập này (đặc biệt là 5,18,19) cho thấy tác dụng chống viêm mạnh mẽ bằng cách ức chế biểu hiện COX-2 do LPS gây ra và sản xuất PGE2 tùy thuộc vào liều lượng [48]

Trong nghiên cứu của Chi X và cộng sự thì tác dụng của bài thuốc có chứa **Ý dĩ, Ngưu Tất, Thổ Phục Linh** có tác dụng giảm đau chống viêm mạnh mẽ khi kết hợp cùng Celecoxib [46]

Theo báo cáo của Zanzhu Li và cộng sự chỉ ra rằng **Ngưu Tất** có thể làm giảm phản ứng viêm bằng cách nhắm mục tiêu TNF, IL-6 và TP53, ức chế quá trình glycolysis và apoptosis bằng con đường truyền tín hiệu MAPK/AKT [49]

Dây Đau Xương trong nghiên cứu của Nguyễn Đức Thanh và cộng sự được chiết xuất làm thí nghiệm trên chuột và kết quả đã chứng minh rằng ở liều tương đương 1,6 g nguyên liệu thực vật trên mỗi kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày, chiết xuất này thể hiện hoạt động chống viêm cấp tính trong mô hình phù chân do carrageenan gây ra ở chuột, tương đương với liều 80 mg/ kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày của aspirin [50]. Hay ở một nghiên cứu khác thì Dây đau xương làm giảm đáng kể tình trạng sưng tấy ở bàn chân, tình trạng tăng cảm giác đau và mức độ nghiêm trọng của bệnh viêm khớp, đồng thời làm giảm sự tăng sinh mô hoạt dịch và thâm nhiễm tế bào viêm ở chuột CIA thông qua ức chế sản xuất các cytokine gây viêm và điều chỉnh giảm đường truyền tín hiệu MAPK [6].

Tỳ Giải có thể có một số tác dụng điều trị trên bệnh viêm khớp Gút thông qua con đường SDF-1/CXCR 4 và p38 MAPK, và dioscin có thể là hợp chất hoạt động trong RDN để phát huy tác dụng điều trị trên bệnh viêm khớp gút [51]. Hoặc có tác dụng điều trị viêm khớp Gút bằng cách can thiệp vào những thay đổi trong quá trình chuyển hóa nội sinh và các con đường trao đổi chất liên quan[52].

Hy Thiêm có thành phần hóa học phong phú chủ yếu bao gồm diterpenoid, sesquiterpenoid và flavonoid. Là một trong những thành phần hoạt động chính của

Hy Thiêm, kirenol và quercetin đóng vai trò quan trọng trong việc giảm các triệu chứng viêm khớp [53], [54].

Cốt Khí Củ trong một bài báo cáo các nhà nghiên cứu đã phát hiện ra rằng polydatin, resveratrol và emodin là những thành phần hóa học thực vật chống viêm chính trong chiết xuất ethanol của Cốt khí củ. Emodin-8- O - β - d -glucoside (50, 100, 200 $\mu\text{mol/L}$), có nguồn gốc từ chiết xuất cồn của PC, có thể làm giảm tình trạng viêm do lipopolysaccharide (LPS) gây ra ở tế bào đại thực bào ở chuột. Nghiên cứu trên cho thấy emodin-8- O - β - d -glucoside có tác dụng ức chế đáng kể IL-6, IL-1 β và protein hóa hướng động đơn nhân-1 (MCP-1). Resveratrol và polydatin trong PC cũng có thể ức chế sự giải phóng IL-6 và oxit nitric (NO) trong mô hình viêm tế bào đại thực bào ở chuột trong một nghiên cứu khác [55].

Theo quan niệm của Y học cổ truyền, chứng viêm do thấp nhiệt độc uẩn kết gây nên. Tỳ vị trong cơ thể hư nhược, mất kiện vận hoặc do ăn uống nhiều đồ béo ngậy làm cho đàm thấp tích tụ [20], đàm thấp uất kết lâu ngày hóa hỏa, hỏa thiêu đốt khí huyết gây nên trạng thái viêm sưng, nóng, đỏ, đau trên lâm sàng. Đối pháp lập phương cần các vị có thể thanh nhiệt trừ thấp, thẩm thấp như **Ý Dĩ** thẩm thấp, lợi niệu, **Tỳ Giải** khu phong trừ thấp, **Thổ Phục Linh** trừ thấp, giải độc, lợi niệu, thông lợi các khớp, **Thiên Niên Kiện** trừ phong thấp, **Dây Đau Xương** khu phong trừ thấp, thư cân hoạt lạc, **Uy Linh Tiên** khu phong, trừ thấp, Hy Thiêm trừ phong thấp, thanh nhiệt, giải độc, **Cốt Khí Củ** trừ thấp, **Dây Gấm** trừ thấp, tiêu viêm. Toàn vị phối ngũ ăn ý trừ thấp, thông kinh hoạt lạc, giải độc [23]. Thấp không tích tụ tác Hỏa cũng yên, không bùng lên thiêu đốt tân dịch, các khớp (chứng viêm) nữa, đồng thời cũng phối hợp với các vị hành huyết, bổ huyết để không hao tổn tân dịch.

4.2. BÀN LUẬN VỀ TÁC DỤNG TĂNG THẢI ACID URIC CỦA VIÊN NANG ĐTG TRÊN MÔ HÌNH GÂY TĂNG ACID URIC BẰNG KALI OXONAT

Tăng AU là một bệnh chuyển hóa phổ biến, thường gặp nhất là do sản xuất quá mức và/hoặc bài tiết không đủ AU. Tăng AU cũng là một yếu tố nguy cơ tiềm ẩn của bệnh Gút và cũng đã trở thành nguy cơ độc lập của nhiều rối loạn chuyển hóa bao gồm tiểu đường, tăng huyết áp, xơ vữa động mạch và bệnh thận. Do đó tăng

AU máu đã nổi lên như một vấn đề sức khỏe cộng đồng nghiêm trọng, ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống của người bệnh và dẫn đến gánh nặng tài chính xã hội và là vấn đề đáng được quan tâm toàn cầu[38]. Vì vậy mục tiêu điều trị lâu dài của bệnh nhân bị tăng AU nói riêng và bệnh nhân viêm gút nói riêng đó là kiểm soát nồng độ AU trong máu, và để chứng minh được tác dụng hạ AU của Viên nang ĐTG chúng tôi sử dụng mô hình gây tăng AU máu trong nhiều ngày bằng tiêm màng bụng Kali oxanat kết hợp uống Hypoxanthine và mô hình đánh giá tác dụng ức chế enzym Xanthin Oxidase (XO) in vitro.

Tác dụng hạ AU trên mô hình gây tăng AU bằng Kalioxanat:

Để đánh giá được tác dụng hạ AU trong máu của thuốc nghiên cứu thì ta cần phải tiến hành trên mô hình động vật thực nghiệm đã tăng AU, và việc lựa chọn mô hình nghiên cứu của chúng tôi là vô cùng hợp lí. Bởi ở hầu hết các động vật có vú thì bước cuối cùng chuyển hóa nhân purin cần có thêm enzym uricase để chuyển hóa acid uric thành allantoin – một dạng dễ hòa tan hơn và được thải trừ qua thận, mà Kali oxanat ức chế uricase gây tăng acid uric nhanh trong thời gian ngắn nên thường xuyên được dùng để gây tăng acid uric cấp. Trong mô hình ngoài tiêm màng bụng cho chuột thí nghiệm thì chúng còn được cho uống kết hợp hypoxanthine 300 mg/kg trong 7 ngày [38] làm tăng giá trị tin cậy của thí nghiệm gây tăng AU máu trên thực nghiệm.

Kết quả thí nghiệm được trình bày tại bảng 3.8 cho thấy Viên nang ĐTG với liều nghiên cứu 1440mg/kh/ngày và 2880mg/kg/ngày thì nồng độ Acid uric niệu của chuột so với lô chứng bệnh lý tăng lần lượt là 134,91% và 139,31% có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$; so với lô tham chiếu dùng Allopuriol thì cũng cao hơn với ý nghĩa thống kê $p < 0,05$. Tương tự thì từ kết quả ở bảng 3.9 có thể thấy so với lô chứng bệnh lý, nồng độ creatinin niệu của chuột ở các lô tham chiếu, trị 1, trị 2 tăng lần lượt bằng 111,33%; 110,56% và 114,87%, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Trên phương diện ảnh hưởng của Viên nang ĐTG tới nồng độ Acid uric và creatinin trong máu chuột thì với liều lượng thuốc nghiên cứu như trên có thể thấy rằng so với lô chứng bệnh lý thì nồng độ Acid uric máu giảm lần lượt là 80,48%;

75,56% có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$ (kết quả của bảng 3.10), nồng độ Creatinin máu của chuột giảm lần lượt là 88,13%; 85,96% có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (kết quả của bảng 3.11). Thông qua kết quả ở bảng 3.12 có thể thấy với liều nghiên cứu phân suất bài tiết acid uric (FEUA) của chuột tăng so với lô chứng bệnh lí lần lượt là 130,28%; 133,35% có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$ và so với lô tham chiếu dùng Allopurinol thì lô dùng Viên nang ĐTG cao hơn, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Một số nghiên cứu khác có sử dụng cùng mô hình thực nghiệm trên để đánh giá tác dụng hạ acid uric máu, kết quả được ghi lại ở bảng dưới đây:

Bảng 4.1. So sánh mức độ % giảm nồng độ acid uric máu của một số thuốc YHCT trên mô hình thực nghiệm

Thuốc nghiên cứu	Lô uống Allopurinol	Lô trị liệu thấp	Lô trị liệu cao
Cao toàn phần Hy thêm [56]	46,4%	22,8%	30,0%
Cốm tan Tứ diệu tán [57]	76,7%	67,6%	69,9%
Viên nang Tam diệu gia vị [43]	41,52%	30,51%	16,1%
Viên nang ĐTG	79,08%	80,48%	75,66%

Tác dụng ức chế enzym Xanthine Oxidase (XO) in vitro

Enzym Xanthine Oxidase là một enzym xúc tác cho quá trình sản xuất acid uric từ xanthine và hypoxanthine, trên lâm sàng các chất ức chế enzym XO làm giảm sinh tổng hợp acid uric đã được dùng để phòng và điều trị bệnh gút [47] (Allopurinol là một chất có tác dụng ức chế enzym XO đã được sử dụng trên lâm sàng hơn 40 năm).

Vì vậy có thể thấy ức chế enzyme XO là một mục tiêu điều trị quan trọng trong việc kiểm soát nồng độ AU trong máu và việc sử dụng mô hình này trong nghiên cứu càng có giá trị trong việc khẳng định tác dụng hạ AU trong máu của Viên nang ĐTG.

Qua kết quả thí nghiệm ở bảng 3.6 có thể thấy trong khoảng nồng độ từ 25 µg/mL đến 400 µg/mL, phần trăm ức chế enzyme Xanthin oxidase của mẫu thử (viên nang ĐTG) tăng dần từ 23,21% đến 76,61%. Nồng độ ức chế 50% hoạt độ xanthin oxidase (IC50) của viên nang ĐTG là 199,98 µg/mL, khoảng tin cậy 95% là 192,53 – 207,42 (kết quả bảng 3.7).

Ngoài những số liệu trong báo cáo kết quả thí nghiệm trên thì trong thực tế đã có rất nhiều nghiên cứu liên quan đến các thành phần có mặt trong viên nang ĐTG có tác dụng làm hạ AU trong máu như:

Thỏ Phục Linh trong nghiên cứu của Huang L và cộng sự thì 4 flavonoid neoastilbin, astilbin, neoisoastilbin và isoastilbin (chiếm 56% tổng flavonoid) của Thỏ Phục Linh tác dụng đáng kể trong việc giảm axit uric ở chuột tăng axit uric máu bằng cách ức chế hoạt động XOD và điều chỉnh tăng biểu hiện OAT1, OCTN2 và mRNA của chúng trong mô thận [58]. Hay trong nghiên cứu của Cheng S và cộng sự thì Thỏ Phục Linh ức chế XOD, điều hòa giảm biểu hiện URAT1 ở thận [59]. Ngoài ra khi nghiên cứu tác dụng chống viêm, hạ AU máu trên cả 2 mô hình gây viêm khớp gút MSU và tăng AU máu dài Kalioxanat thì **Thỏ Phục Linh** có hiệu quả mạnh mẽ trong việc cải thiện tình trạng tăng axit uric máu và bệnh gút ở chuột thí nghiệm. Chín hợp chất trong chiết xuất của nó được xác định rõ ràng là axit 5-O-caffeoylshikimic, neoastilbin, astilbin, taxifolin, neoisoastilbin, isoastilbin, engeletin, isoengeletin và trans-resveratrol. Liều điều trị RSGE làm giảm phù nề chân do Kalioxanat- và MSU phụ thuộc vào liều, TNF- α huyết thanh, IL-1 β , IL-6, IL-12, axit uric và BUN, trong khi tăng đáng kể IL-10 huyết thanh, axit uric trong nước tiểu và nồng độ creatinine so với các giá trị tương ứng ở nhóm chuột tăng axit uric máu và bệnh gút (nhóm phương tiện). Hơn nữa, hoạt động XOD của gan giảm phụ thuộc vào liều khi điều trị bằng Thỏ Phục Linh. Ngoài ra, điều trị bằng Thỏ

Phục Linh không chỉ cải thiện sự xâm nhập của các tế bào viêm, sự giãn nở của ống thận và sự hình thành không bào ở ống thận mà còn cải thiện tình trạng tăng sản hoạt dịch, giảm sự xâm nhập của các tế bào viêm vào màng hoạt dịch và giảm tổn thương ăn mòn ở sụn [60].

Ngoài ra trong một nghiên cứu tổng quan khác thì **Thổ Phục Linh, Ý Dĩ, Ngưu Tất** có tác dụng hạ Acid uric máu mạnh mẽ khi kết hợp với một số dược liệu khác như Bạch Truật, Hoàng Bá.....[46]

Tỳ Giải có hiệu quả trong điều trị viêm khớp do gút và tăng axit uric máu, đặc biệt trong việc thúc đẩy bài tiết axit uric và giảm phản ứng viêm. Thành phần hoạt tính sinh học trong Tỳ Giải chủ yếu là saponin steroid như dioscin, trillin, protodioscin và protogracillin. Thông qua phân tích chất chuyển hóa, 35 dấu ấn sinh học tiềm năng với những thay đổi đáng kể liên quan đến cơ chế bệnh sinh của gút do MSU gây ra đã được xác định và các rối loạn đã được phục hồi sau khi điều trị bằng Tỳ Giải [61].

Cây Dây Gấm có chứa thành phần stilbenoids gồm resveratrol, gnetin C, gnetin L, gnemonoside A, gnemonoside C và gnemonoside D [8]. Gần đây, resveratrol đã được chứng minh đem lại nhiều lợi ích cho sức khỏe, tốt cho người bệnh tiểu đường, hệ tim mạch, có tính kháng khuẩn cao và đặc biệt liên quan đến khả năng hạ axit uric trong máu, rất tốt cho bệnh về xương khớp. Nhiều nghiên cứu về lợi ích của dây Gấm đối với người bệnh gout cho thấy, hoạt chất resveratrol có tác dụng: 1) Giảm triệu chứng sưng nhức, nóng ran ở các khớp mà không cần phải dùng thuốc giảm đau, hạn chế lệ thuộc thuốc giảm đau; 2) Giảm chỉ số acid uric máu; 3) Giúp bồi bổ, tăng cường chức năng gan - thận, giúp thận khỏe hơn để đảm nhận tốt nhiệm vụ đào thải acid uric; 4) Giúp tăng khả năng đào thải acid uric theo đúng cơ chế sinh học. [8]

Theo nghiên cứu của Trần Ngọc Yến Chi thì **Dây Đau Xương, Thiên Niên Kiện** có tác dụng hạ AU thông qua ức chế Enzym XO in vitro [7].

Theo quan điểm của YHCT thì tăng AU máu thuộc vào chứng Thống phong có nguyên nhân chủ yếu do đàm thấp gây ra, thấp uất kết, hóa hỏa, bế trở kinh lạc,

khớp xương [21] gây nên các chứng trạng sưng, nóng, đỏ, đau các khớp như trên lâm sàng. Vì vậy pháp điều trị là khu phong trừ thấp, thông kinh hoạt lạc, phong thấp tiêu trừ tặc các chứng trạng trên cũng sẽ thuyên giảm. Các vị thuốc cấu thành nên Viên nang ĐTG phối hợp hài hòa giữa các vị khu phong trừ thấp như Thiên Niên Kiện, Thổ Phục Linh, Tỳ Giải, Ý Dĩ, Uy Linh Tiên, Hy Thiêm, Cốt Khí Củ, Dây Gắm [24] với các vị thuốc có công năng bổ khí huyết, thông kinh hoạt lạc như Đương Quy, Ngưu tất, Kê Huyết Đằng, Uy Linh Tiên [24] bởi theo Nội Kinh thì “trừ phong tiên trị huyết, huyết tòng phong tất diệt”. Đa phần các thuốc khu phong trừ thấp tính thường tân, ôn, tính hành rất mạnh vì thế cần phải khéo léo kết hợp các thuốc bổ huyết, hành huyết thông kinh hoạt lạc để không bị hao tổn khí huyết tân dịch. Viên nang ĐTG dựa trên kinh nghiệm lâm sàng tại bệnh viện Y học cổ truyền Trung Ương đã phối ngũ các vị thuốc một cách hài hòa và đạt được hiệu quả điều trị tốt thông qua kết quả đánh giá dạng cao lỏng [62].

KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu chúng tôi kết luận về tác dụng chống viêm, giảm đau, hạ acid uric máu thực nghiệm của viên nang ĐTG như sau:

1. Tác dụng chống viêm, giảm đau:

- Viên nang ĐTG liều 840mg/kg/ngày và liều 1680mg/kg/ngày trên chuột cống trắng gây viêm khớp gút bằng monosodium urate có tác dụng giảm phù viêm khớp cổ chân chuột ($p < 0,05$ so với lô chứng); giảm nồng độ cytokine TNF- α máu chuột tương đương với Colchicine; giảm tổn thương mô bệnh học khớp cổ chân chuột.

- Viên nang ĐTG liều 1440mg/kg/ngày và liều 2880mg/kg/ngày trên chuột nhắt trắng, có tác dụng làm giảm đau trên mô hình gây đau quặn bằng acid acetic ($p < 0,05$ so với lô chứng), tương đương với Aspirine.

2. Tác dụng hạ acid uric máu của “Viên nang ĐTG” trên thực nghiệm

- Viên nang ĐTG có tác dụng ức chế enzym xanthin oxidase, với nồng độ ức chế 50% hoạt độ xanthin oxidase (IC₅₀) của là 199,98 $\mu\text{g/mL}$, khoảng tin cậy 95% là 192,53 – 207,42.

- Trên chuột nhắt trắng gây tăng acid uric máu (tiêm màng bụng kali oxonat kết hợp uống hypoxanthine 300 mg/kg), viên nang ĐTG liều 1440mg/kg/ngày và liều 2880mg/kg/ngày có tác dụng làm giảm acid uric máu tương tự như Allopuriol, đồng thời làm tăng thải trừ acid uric ($p < 0,01$ so với chứng bệnh lý) có ý nghĩa thống kê so với Allopuriol với $p < 0,05$.

KIẾN NGHỊ

Từ kết quả nghiên cứu cho thấy viên nang ĐTG có tác dụng chống viêm, giảm đau và hạ acid uric máu trên thực nghiệm vì vậy kiến nghị tiếp tục tiến hành nghiên cứu tính an toàn (độc tính cấp và bán trường diễn) của thuốc, làm cơ sở áp dụng trên lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Nguyễn Thị Ngọc Lan** (2016). *Bệnh học Cơ xương khớp nội khoa*. Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam, Trường Đại học Y Hà Nội.
2. **Dehlin M, Jacobsson L, Roddy E.** (2020) *Global epidemiology of gout: prevalence, incidence, treatment patterns and risk factors*. Nat Rev Rheumatol. 16(7):380-390.”
3. **BỘ Y TẾ** (2011), *Bệnh học Cơ xương khớp nội khoa*, Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam, tr.189.
4. **Dinh Van Nguyen, Hieu Chi Chu, Christopher Vidal et al** (2017). *Genetic Susceptibility to Carbamazepine and Allopurinol-Induced Severe Cutaneous Adverse Reactions in Vietnamese*. The Journal of Allergy and Clinical Immunology.
5. **Anastasia Slobodnick, Binita Shah, Svetlana Krasnokutsky, et al** (2018). *Update on colchicine 2017*.
6. **Xiong H, Ding X, Wang H et al** (2019). Tibetan medicine Kuan-Jin-Teng exerts anti-arthritic effects on collagen-induced arthritis rats via inhibition the production of proinflammatory cytokines and down-regulation of MAPK signaling pathway.
7. **Trần Ngọc Yến Chi** (2013), *Sàng lọc các cây thuốc có tiềm năng điều trị bệnh gút thông qua ức chế Xathine oxidase in vitro*, Trường đại học Dược Hà Nội.
8. **Nguyễn Thị Hồng Lĩnh, Nguyễn Mạnh Đạt, Đỗ Thị Thúy Lê ,et al** (2020) *Bước tiến mới trong việc điều trị bệnh xương khớp từ Cây dây Gắm*, Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
9. **BỘ Y TẾ** , 2016, *Hướng dẫn điều trị bệnh cơ xương khớp*, Nhà Xuất bản Y học, Hà Nội.
10. **Ngô Quý Châu** (2020) *Bệnh học nội khoa*, Nhà xuất bản Y học.
11. **Roddy E, Choi HK** (2014) *Epidemiology of gout*. Rheum Dis Clin North Am.

12. **Kanna D et al** (2012). 2012 *American College of Rheumatology Guidelines for Management of Gout Part II: Therapy and Anti-inflammatory Prophylaxis of Acute Gouty Arthritis*. Arthritis Care Res (Hoboken). 64(10): 1447-61.
13. **Nguyễn Mai Hồng** (2016). *Cập nhật điều trị bệnh gút*. Hội thảo chuyên đề Cập nhật chẩn đoán – điều trị bệnh gút và các yếu tố nguy cơ. Hà Nội, ngày 28 tháng 5 năm 2016, Hội Y học Hà Nội – Hội thấp khớp học Hà Nội, 49-66.
14. **Bộ Y Tế** (2018), *Dược lý học (Dùng cho đào tạo bác sĩ đa khoa)*, Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam, tr.167-171.
15. **Ted R. Mikuls** (2017). *Urat-Lowering Therapy*. Kelley and Firestein's Textbook of Rheumatology. Tenth Edition, Elsevier Saunder, Philadelphia, 1, 1061-1074.
16. **Bệnh viện Bạch Mai** (2011). *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị Bệnh Nội khoa (cẩm nang nghiệp vụ của bác sĩ lâm sàng)*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
17. **Latest guidance on the management of gout** (2018).
18. **Afinogenova Y, Danve A, Neogi T.** (2022) *Update on gout management: what is old and what is new*. Curr Opin Rheumatol.
19. **Allison Guttman, Svetlana Krasnokutsky, Michael H. Pillinger et al** (2017). *Pegloticase in gout treatment -safety issues, latest evidence and clinical considerations*. Therapeutic Advances in Drug Safety. Vol. 8(12) 379-388.
20. **Bộ môn Nội Y học cổ truyền** (2020), *Bệnh học nội khoa Y học cổ truyền*, Học viện y dược học cổ truyền VN, Nhà xuất bản Y học.
21. **Nguyễn Bá Tĩnh** (2020), *Tuệ Tĩnh toàn tập – Nam dược thần hiệu*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 140-142.
22. **Nguyễn Nhược Kim** (2018), *Bài giảng Nội Khoa Y học cổ truyền*, Nhà Xuất Bản Y học.
23. **Bộ Y tế** (2018), *Dược điển Việt Nam V*, Nhà xuất bản Y học.
24. **Bộ Y tế** (2009), *Dược học cổ truyền (Sách đào tạo bác sĩ chuyên khoa Y học cổ truyền)*, Nhà xuất bản Y học Hà Nội, tr. 54;55;79;141.

25. **Hoàng Thị Thanh Thảo** (2013), *Sàng lọc các cây thuốc Việt Nam có tiềm năng hạ acid uric thông qua con đường ức chế xanthin oxidase*, Luận văn thạc sỹ dược học, Trường Đại học Dược Hà Nội.
26. **Patil T, Soni A, Acharya S.** (2021) *A brief review on in vivo models for Gouty Arthritis*. Metabol Open.
27. **R. de CL. Lima, F.C. Ferrari, et al** (2015) *Effects of extracts of leaves from Sparattosperma leucanthum on hyperuricemia and gouty arthritis*.
28. **L. Chen, Z. Luo, M. Wang, J. Cheng, F. Li, H. Lu, et al** (2020) *The efficacy and mechanism of Chinese herbal medicines in lowering serum uric acid levels: a systematic review*.
29. **Pharmacology Discovery Service**, *Visceral Pain, Acetic Acid-Induced Writhing* <https://www.pharmacologydiscoveryservices.com/catalogmanagement/viewItem/Visceral-Pain-Acetic-Acid-Induced-Writhing/503900>.
30. **D.-H. Tang, Y.-S. Ye et al** (2017) *Potassium oxonate induces acute hyperuricemia in the tree shrew (tupaia belangeri chinensis)*.
31. **B. Stavric, E.A. Nera** (1978) *Use of the uricase-inhibited rat as an animal model in toxicology*.
32. **M.C. Araújo, Z.S. Ferraz-Filha, F.C. Ferrari** (2016) *Campomanesia velutina leaves extracts exert hypouricemic effects through inhibition of xanthine oxidase and ameliorate inflammatory response triggered by MSU crystals*.
33. **T. Noro et al** (1983) *Các chất ức chế xanthine oxidase từ hoa và nụ Daphne genkwa*.
34. **Li L, Teng M, Liu Y, et al** (2017). *Anti-Gouty Arthritis and Antihyperuricemia Effects of Sunflower (Helianthus annuus) Head Extract in Gouty and Hyperuricemia Animal Models*. Biomed Res Int;2017:5852076.
35. **Koster, R; Anderson, M and Debeer, FJ** (1959). *Acetic acid for analgetic screening*. Fed. Proc, 18, 412.

36. **Nguyen M. T., Awale S., Tezuka Y., Watanabe H., Kadota S.** (2004). *Xanthine oxidase inhibitory activity of Vietnamese medicinal plants*. Biol Pharm Bull. 27(9),1414-1421.
37. **Duong NT, Vinh PD, Thuong PT, Hoai NT, Thanh LN, Bach TT, Nam NH, Anh NH** (2017). *Xanthine oxidase inhibitors from Archidendron clypearia (Jack.) I.C. Nielsen: Results from systematic screening of Vietnamese medicinal plants*, Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 10 (6), 549-556.
38. **Xu L, Lin G, Yu Q, et al.** (2021). *Anti-Hyperuricemic and Nephroprotective Effects of Dihydroberberine in Potassium Oxonate- and Hypoxanthine-Induced Hyperuricemic Mice*. Frontiers in pharmacology, 12, 645879.
39. **Jang, Mi Gyeong, et al.** (2019). *Protective effects of Sasa quelpaertensis Leaf Residue Extract against Potassium Oxonate-induced Hyperuricemia in Mice*. Journal of Life Science, 29(1), 37–44.
40. **Shah PA, Shah GB.** **Uricosuric activity of Tinospora cordifolia** (2019). Bangladesh J Pharmacol. 2019;10:884-890.
41. **Scuiller A, Pascart T, Bernard A, Oehler E.** (2020) *La maladie goutteuse [Gout]*. Rev Med Interne.
42. **Ribeiro RA, Vale ML, et al** (2000), *Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice*.
43. **Tạ Đăng Quang** (2020), *Nghiên cứu độc tính và tác dụng điều trị bệnh gút mạnh tính của viên nang cứng Tam Diệu Gia Vị trên thực nghiệm và lâm sàng*, Luận văn Tiến sĩ, Đại học Y Hà Nội.
44. **Nguyễn Thị Bé Duyên** (2018), *Nghiên cứu độc tính và một số tác dụng liên quan đến bệnh Gout của Thông phong hoàn Bà Giảng*, Đại học Y Hà Nội.
45. **Ashagrie G, Girmaw F, et al** (2023), *Evaluation of Analgesics and Anti-Inflammatory Activity of the Root Extract of Impatiens rothii (Balsaminaceae) in Rodents*.

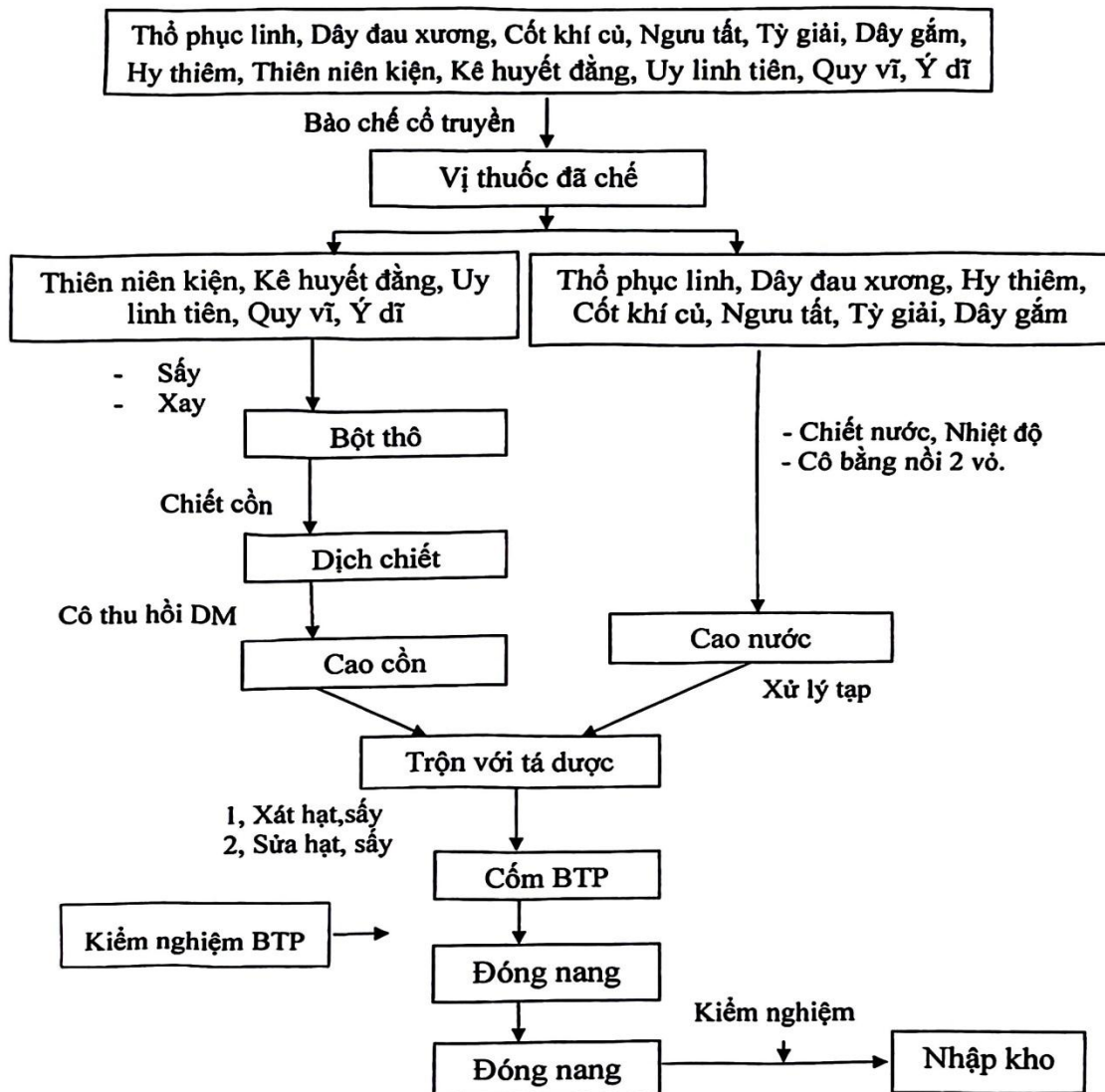
46. **Chi X, Zhang H, Zhang S, Ma K.** (2020) *Chinese herbal medicine for gout: a review of the clinical evidence and pharmacological mechanisms.*
47. **Bộ môn Dược lý Trường đại học y Hà Nội** (2018), *Dược lý học lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học, Tr.184-185.
48. **Yang JL, Dao TT, Hien TT, Zhao YM, Shi YP**(2019). *Further sesquiterpenoids from the rhizomes of Homalomena occulta and their anti-inflammatory activity.*
49. **Li Z, Ma D, Peng L, Li Y, Liao Z, Yu T.** (2022) *Compatibility of Achyranthes bidentata components in reducing inflammatory response through Arachidonic acid pathway for treatment of Osteoarthritis.* Bioengineered.
50. **Nguyễn Đức Thanh, và cộng sự.** (2023) “Nghiên cứu tác dụng chống viêm khớp của *Tinospora sinensis* Merr.”. *Tạp chí Kiểm soát Thực phẩm Việt Nam* . tập. 6, không. 2 (en), trang 199-209.
51. **Lu F, Liu L, Yu DH, Li XZ, Zhou Q, Liu SM.**(2014) *Therapeutic effect of Rhizoma Dioscoreae Nipponicae on gouty arthritis based on the SDF-1/CXCR 4 and p38 MAPK pathway: an in vivo and in vitro study.*
52. **Yu D, Wang Y, Yu C, Song M, Zhou Q, Liu S.** (2020) *High-throughput serum metabolomics analysis of gouty arthritis rat treated by total saponins of Rhizoma Dioscoreae.*
53. **Lv X, Wang X, et al** (2023). *Research progress in arthritis treatment with the active components of Herba siegesbeckiae.* Biomed Pharmacother.
54. **Wang Q, Liang YY, et al** (2021). *Herba Siegesbeckiae: A review on its traditional uses, chemical constituents, pharmacological activities and clinical studies.* J Ethnopharmacol.
55. **Jia Ke , Meng-Ting, et al** (2022), *Advances for pharmacological activities of Polygonum cuspidatum - A review.*

56. **Nguyễn Thùy Dương** (2012), ‘*Nghiên cứu tác dụng trên bệnh gút thực nghiệm của cây Hy thiêm (Siegesbeckia orientalis L. Asteraceae)*’. Luận án tiến sĩ Dược học, Viện Dược liệu.
57. **Nguyễn Thị Tuyết Minh** (2018), ‘*Nghiên cứu độc tính và tác dụng hỗ trợ điều trị bệnh gút mạn tính của cốm tam Tứ diệu tán*’. Luận án tiến sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
58. **Huang L et al** (2019). *The anti-hyperuricemic effect of four astilbin stereoisomers in Smilax glabra on hyperuricemic mice.*
59. **Cheng S., Sun H., Li X., et al**(2019). *Effects of Alismatis rhizoma and rhizoma smilacis glabrae decoction on hyperuricemia in rats.* Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine .
60. **Liang G, Nie Y, et al** (2019) . *Protective effects of Rhizoma smilacis glabrae extracts on potassium oxonate- and monosodium urate-induced hyperuricemia and gout in mice.*
61. **Donghua Yu et al** (2020) *High-throughput serum metabolomics analysis of gouty arthritis rat treated by total saponins of Rhizoma Dioscoreae Makino by UPLC–Q/TOF–MS.*
62. **Nguyễn Thị Thu Hằng** (2021), *Đánh giá tác dụng của cao trị Gút trong điều trị Gút*, Luận văn Chuyên Khoa 2, Đại học Y Hà Nội.

PHỤ LỤC

BỆNH VIỆN Y HỌC CỔ TRUYỀN TRUNG ƯƠNG
KHOA DƯỢC

SƠ ĐỒ CÁC GIAI ĐOẠN SẢN XUẤT VIÊN NANG TRỊ GOUT



Hà Nội, ngày 13 tháng 6 năm 2024

Trưởng Khoa Dược

TS.DS. Trần Phi Hùng

GIẤY XÁC NHẬN

Bộ môn Dược lý, Học viện Quân y xác nhận:

Nội dung nghiên cứu thực nghiệm của Đề tài luận văn "Nghiên cứu tác dụng chống viêm, giảm đau và hạ acid uric máu của viên nang cứng ĐTG trên thực nghiệm" của Học viên Nguyễn Thu Hằng được thực hiện tại Bộ môn Dược lý - Học viện Quân y.

Chủ nhiệm Bộ môn



PGS. TS. Nguyễn Hoàng Ngân

Học viện Quân y xác nhận chữ ký trên của PGS. TS. Nguyễn Hoàng Ngân là đúng.

GIÁM ĐỐC
CHỖ VĂN PHÒNG





Đại tá Chu Đức Thành