

ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM, GIẢM ĐAU VÀ CẦM MÁU CỦA “VIÊN TRĨ HV” TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Trần Thái Hà^{1,✉}, Đỗ Thị Hương²

¹Bệnh viện Y học cổ truyền Trung ương

²Học Viện Y dược học cổ truyền Việt Nam

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá tác dụng chống viêm, giảm đau và cầm máu của “Viên trĩ HV” trên thực nghiệm. Nghiên cứu thực nghiệm, có đối chiếu với nhóm chứng. Khảo sát tác dụng chống viêm trực tràng trên mô hình chuột cống trắng gây trĩ, “Viên trĩ HV” được dùng ở liều 0,7 g/kg/ngày và 1,4 g/kg/ngày, mức độ viêm tại chỗ được đánh giá bởi hình ảnh đại thể, chỉ số trực tràng, mức độ thoát mạch vào mô trực tràng xác định bằng lượng xanh evans (evans blue) có trong mô trực tràng, và hình ảnh vi thể của trực tràng. Nghiên cứu tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quặn bụng bằng acid acetic, “Viên trĩ HV” được dùng ở liều 1,2 g/kg/ngày và 2,4 g/kg/ngày trên chuột nhắt (tương đương liều dùng trên lâm sàng và gấp 2 liều lâm sàng) để nghiên cứu tác dụng giảm đau trên thực nghiệm. Đánh giá tác dụng cầm máu trên mô hình gây chảy máu do cắt đứt chuột cống trắng, “Viên trĩ HV” được dùng ở liều 0,7 g/kg/ngày và 1,4 g/kg/ngày, tác dụng cầm máu được đánh giá dựa trên thời gian chảy máu và lượng máu mất. Kết quả nghiên cứu cho thấy viên nang cứng “Viên trĩ HV” dùng liều 0,7 g/kg/ngày và 1,4 g/kg/ngày có tác dụng chống viêm trên mô hình gây trĩ ở chuột cống trắng bằng dung dịch croton oil và có tác dụng cầm máu, làm rút ngắn thời gian chảy máu, tác dụng này của chế phẩm tương đương với thuốc tham chiếu carbazochrom 12mg/kg/ngày. Viên nang cứng “Viên trĩ HV” dùng trên chuột nhắt trắng liều 1,2 g/kg/ngày và 2,4 g/kg/ngày làm giảm đau rõ rệt trên mô hình gây đau quặn bằng acid acetic. Nghiên cứu có thể kết luận “Viên trĩ HV” có tác dụng chống viêm, giảm đau và cầm máu trên thực nghiệm.

Từ khóa: “Viên trĩ HV”, chống viêm trực tràng, giảm đau, cầm máu, động vật thực nghiệm.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh trĩ là bệnh xảy ra do giãn quá mức các đám rối tĩnh mạch trĩ (hay sự phình tĩnh mạch) ở mô xung quanh hậu môn.¹ Bệnh trĩ tuy không đe dọa đến tính mạng của người bệnh nhưng gây khó chịu, ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống của người bệnh. Bệnh trĩ là một bệnh thường gặp với tỷ lệ mắc cao trong cộng đồng.²

Tại Hoa Kỳ, bệnh trĩ là bệnh lý tiêu hóa được chẩn đoán ngoại trú đứng hàng thứ tư, chiếm

3,3 triệu lượt khám cấp cứu.³ Trên toàn cầu, nhiều nghiên cứu khác nhau đã được thực hiện để đánh giá mức độ phổ biến của bệnh trĩ. Tỷ lệ mắc bệnh trĩ cao hơn ở Úc (38,93%), tiếp theo là Israel (16%) và Hàn Quốc (14,4%).^{4,5} Tỷ lệ bệnh trĩ ở Ai Cập được soi ruột già là 18%.⁶ Tại Việt Nam, theo nhiều báo cáo, bệnh trĩ chiếm tỷ lệ cao trong cộng đồng. Điều tra dịch tễ học của Nguyễn Mạnh Nhâm và cộng sự ở 5 tỉnh miền Bắc phát hiện được 1446/2651 người dân mắc bệnh trĩ chiếm tỷ lệ 55%.⁷

Theo Y học hiện đại điều trị bệnh trĩ có thể bằng nội khoa, thủ thuật, phẫu thuật. Các phương pháp điều trị theo Y học cổ truyền cũng rất đa dạng: gồm các phương pháp dùng thuốc

Tác giả liên hệ: Trần Thái Hà,

Bệnh viện Y học cổ truyền Trung ương

Email: phdtranthaiha@gmail.com

Ngày nhận: 21/07/2021

Ngày được chấp nhận: 16/08/2021

(uống thuốc, ngâm thuốc, đắp thuốc, bôi thuốc) và không dùng thuốc (châm cứu, day ấn huyệt). Y học cổ truyền có nhiều ưu điểm trong điều trị bệnh trĩ và có nhiều chế phẩm như viên Tottri, An trĩ vương... để góp phần hiện đại hóa YHCT, phát triển nền YHCT Việt Nam và đa dạng các sản phẩm thuốc trong điều trị trĩ, chúng tôi nghiên cứu về “Viên trĩ HV”. Để có cơ sở khoa học về tác dụng dược lý của bài thuốc trước khi tiến hành nghiên cứu trên lâm sàng, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài với mục tiêu sau

Đánh giá tác dụng chống viêm, giảm đau và cầm máu của “Viên trĩ HV” trên động vật thực nghiệm.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

- Chuột nhất trắng trưởng thành, dòng *Swiss*, không phân biệt giống, cân nặng 18 - 22g.

- Chuột cống trắng trưởng thành, dòng *Wistar*, không phân biệt giống, cân nặng trung bình mỗi con $200,0 \pm 2,0$ g.

Động vật do Ban chăn nuôi động vật thí nghiệm - Học viện Quân y cung cấp, được nuôi trong phòng nuôi động vật thí nghiệm một tuần trước khi nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn dành cho động vật nghiên cứu, nước sạch uống tự do.

Thuốc nghiên cứu: Viên nang cứng “Viên trĩ HV” chứa cao khô chiết xuất của 10 vị dược liệu:

- Công thức bài thuốc: Tạo giác thích 10g, Phòng phong 8g, Hòe hoa 10g, Bạch tật lê 8g, Xa xàng tử 6g, Ngũ bội tử 6g, Khương hoạt 6g, Đại hoàng 5g, Trắc bá diệp 10g, Chỉ xác 8g.

Thuốc do công ty cổ phần BV Pharma cung cấp, đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt nam V.⁸

- Liều dùng được tính theo g bột cao khô/kg/ngày. Liều dự kiến sử dụng trên người là 10 viên/ngày, mỗi viên 500mg từ đó ta tính được

liều trung bình 5g bột cao khô /ngày. Liều dùng dự kiến trên người sẽ là 0,1 g/kg/ngày. Liều qui đổi trên chuột nhất trắng (hệ số 12) là 1,2 g/kg/ngày, chuột cống trắng (hệ số 7) là 0,7 g/kg/ngày

Thiết bị dùng trong nghiên cứu:

- Kim đầu tù chuyên dụng của Nhật Bản, dùng để cho chuột uống thuốc.

- Bộ dụng cụ mổ động vật cỡ nhỏ và các dụng cụ thí nghiệm khác.

2. Phương pháp

Nghiên cứu tác dụng chống viêm trực tràng:

Tác dụng chống viêm trực tràng của “Viên trĩ HV” được đánh giá trên mô hình chuột cống trắng gây trĩ, theo phương pháp được mô tả bởi S. Faujdar và cộng sự (2019).⁹

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

- Lô 1 (Chứng trắng): Uống nước cất thể tích 1mL/100g chuột.

- Lô 2 (Chứng bệnh): Gây trĩ và uống nước cất thể tích 1mL/100g chuột.

- Lô 3 (Tham chiếu): Gây trĩ và uống Prednisolon liều 5mg/kg/ngày (1mL/100g chuột).

- Lô 4 (trị 1): Gây trĩ và uống “Viên trĩ HV” liều 0,7 g/kg/ngày (1mL/100g chuột).

- Lô 5 (trị 2): Gây trĩ và uống “Viên trĩ HV” liều 1,4 g/kg/ngày (1mL/100g chuột).

Chuột thí nghiệm được cho uống nước hoặc chế phẩm thử hàng ngày vào 9 giờ sáng, liên tục trong 7 ngày. Ngày 8, sau khi đã cho chuột được nhịn ăn qua đêm, tiến hành tiêm tĩnh mạch đuôi chuột Evans blue (30 mg/kg) tất cả các chuột ở các lô. Sau 30 phút, gây trĩ cho chuột ở các lô ngoại trừ lô chứng trắng bằng hỗn hợp dầu croton (theo S. Faujdar và cộng sự (2019)⁹). Sau khi gây trĩ, chuột được nhịn ăn trong vòng 24 giờ, nhưng được uống nước bình thường.

Một ngày sau khi gây trĩ, chuột các lô được

tiếp tục uống nước, thuốc tham chiếu hoặc chế phẩm thử liên tục trong 5 ngày. Đánh giá mức độ viêm tại chỗ được đánh giá bởi hình ảnh đại thể, chỉ số trực tràng, mức độ thoát mạch vào mô trực tràng xác định bằng lượng xanh evans (evans blue) có trong mô trực tràng, và hình ảnh vi thể của trực tràng.

Nghiên cứu tác dụng giảm đau:

Tác dụng giảm đau của “Viên trĩ HV” được đánh giá theo mô hình gây đau quặn bằng acid acetic của Koster và cs (1959)¹⁰.

Chuột nhắt trắng chia ngẫu nhiên làm 4 lô, mỗi lô 10 con. Chuột được cho nhịn đói 12h trước khi uống thuốc.

- Lô 1 (Chứng trắng): Uống nước cất 0,1 mL/10g chuột.
- Lô 2 (Tham chiếu): Uống diclofenac liều 20mg/kg (0,1 mL/10g chuột).
- Lô 3 (trị 1): Uống “Viên trĩ HV” liều 1,2 g/kg/ngày (1 mL/100g chuột).
- Lô 4 (trị 2): Uống “Viên trĩ HV” liều 2,4 g/kg/ngày (1 mL/100g chuột).

Chuột được uống thuốc 4 ngày liên tục. Ngày thứ 4, 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. Chuột sẽ xuất hiện những cơn đau quặn biểu hiện như thóp bụng lại, áp bụng xuống sàn, duỗi dài thân và chân sau. Đếm số cơn đau quặn của chuột trong từng 5 phút một cho đến phút 25 sau

khi tiêm acid acetic. So sánh kết quả giữa các lô nghiên cứu, tính % ức chế đau quặn.

Nghiên cứu tác dụng cầm máu:

Đánh giá tác dụng cầm máu trên mô hình gây chảy máu do cắt đuôi chuột cống trắng¹¹.

Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 (Chứng): Uống nước cất 1 ml/100 g chuột.
- Lô 2 (Carbazochrom): Uống carbazochrom liều 12 mg/kg/ngày (1 mL/100 g chuột).
- Lô 3 (trị 1): Uống “Viên trĩ HV” liều 0,7 g/kg/ngày (1 mL/100 g chuột).
- Lô 4 (trị 2): Uống “Viên trĩ HV” liều 1,4 g/kg/ngày (1 mL/100 g chuột).

Cho chuột uống nước hoặc thuốc nghiên cứu trong 5 ngày liên tục. Ngày thứ 5, sau khi uống thuốc 1 giờ, tiến hành cắt đuôi chuột (vị trí 2mm tính từ chóp đuôi), đánh giá tác dụng cầm máu dựa trên thời gian chảy máu và lượng máu mất.

3. Xử lý số liệu

Các số liệu nghiên cứu được xử lý thống kê theo phương pháp t-test Student. Sự khác biệt có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

III. KẾT QUẢ

1. Tác dụng chống viêm của “Viên trĩ HV” trên thực nghiệm

Kết quả định lượng TNF-α và IL-6 trong máu chuột nghiên cứu:

Bảng 1. Kết quả định lượng TNF-α và IL-6 trong máu chuột nghiên cứu

Lô nghiên cứu		TNF-α (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)
Lô 1 (chứng trắng)	(1)	68,92 ± 21,36	79,25 ± 16,43
Lô 2 (chứng bệnh)	(2)	106,14 ± 28,52	112,37 ± 23,52
Lô 3 (prednisolon)	(3)	79,45 ± 19,62	89,63 ± 18,94
Lô 4 (“Viên trĩ HV” liều 0,7 g/kg/ngày)	(4)	86,59 ± 18,85	93,46 ± 19,31
Lô 5 (“Viên trĩ HV” liều 1,4 g/kg/ngày)	(5)	77,95 ± 14,06	86,84 ± 15,95
Giá trị p		$p_{2-1} < 0,01$; $p_{3,4,5-2} < 0,05$; $p_{3,4,5-1} > 0,05$ $p_{4,5-3} > 0,05$; $p_{5-4} > 0,05$	

Các lô dùng “Viên trị HV” (cả 2 mức liều) và prednisolon 5mg/kg đều làm giảm cả TNF- α và IL-6 trong máu so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$), trở về tương đương với lô chứng trắng ($p > 0,05$).

Kết quả đánh giá đại thể và chỉ số trực tràng:

Quan sát đại thể đoạn trực tràng cắt ra (đoạn 2 cm tính từ hậu môn), ở lô chứng trắng trực tràng bình thường, ở các lô gây viêm (từ lô 2 đến lô 5) thấy đoạn trực tràng phù nề, xung huyết, trong đó lô chứng bệnh thể hiện phù nề và xung huyết rõ nhất.

Để đánh giá mang tính định lượng về mức độ viêm, phù nề, xung huyết, chúng tôi sử dụng chỉ số trực tràng. Kết quả về chỉ số trực tràng được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Chỉ số trực tràng của các lô chuột nghiên cứu (n = 10)

Lô nghiên cứu		Chỉ số trực tràng (mg/g chuột)
Lô 1 (chứng trắng)	(1)	0,908 \pm 0,162
Lô 2 (chứng bệnh)	(2)	1,141 \pm 0,116
Lô 3 (prednisolon)	(3)	0,937 \pm 0,097
Lô 4 (“Viên trị HV” liều 0,7 g/kg/ngày)	(4)	0,968 \pm 0,105
Lô 5 (“Viên trị HV” liều 1,4 g/kg/ngày)	(5)	0,945 \pm 0,092
Giá trị p		$p_{3,4,5-1} > 0,05$; $p_{3,4,5-2} < 0,05$; $p_{4,5-3} > 0,05$; $p_{5-4} > 0,05$

Các lô dùng “Viên trị HV” (ở cả 2 mức liều) làm giảm viêm nề, xung huyết trực tràng, giảm chỉ số trực tràng so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$), trở về tương đương với lô chứng trắng ($p > 0,05$).

Kết quả xác định hàm lượng xanh evans (evans blue) có trong mô trực tràng để đánh giá mức độ thoát mạch vào mô trực tràng.

Bảng 3. Hàm lượng xanh evans (evans blue) có trong mô trực tràng của các lô chuột nghiên cứu (n = 10)

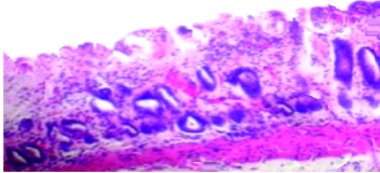
Lô nghiên cứu		Hàm lượng xanh evans (μ g/mg mô)
Lô 1 (chứng trắng)	(1)	0,043 \pm 0,015
Lô 2 (chứng bệnh)	(2)	0,081 \pm 0,028
Lô 3 (prednisolon)	(3)	0,056 \pm 0,019
Lô 4 (“Viên trị HV” liều 0,7 g/kg/ngày)	(4)	0,060 \pm 0,021
Lô 5 (“Viên trị HV” liều 1,4 g/kg/ngày)	(5)	0,054 \pm 0,017
Giá trị p		$p_{2-1} < 0,01$; $p_{3,4,5-2} < 0,05$; $p_{3,4,5-1} < 0,05$; $p_{4,5-3} > 0,05$; $p_{5-4} > 0,05$

Các lô dùng “Viên trị HV” (ở cả 2 mức liều) và lô dùng prednisolon đều làm giảm hàm lượng xanh evans so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$), tuy nhiên chưa về mức tương đương so với lô chứng trắng ($p < 0,05$). Các tác dụng này tương đương với khi dùng prednisolon 5mg/kg /ngày.

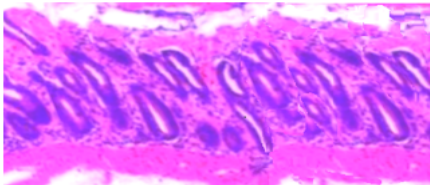
Hình ảnh tiêu bản nhuộm HE mô bệnh học trực tràng



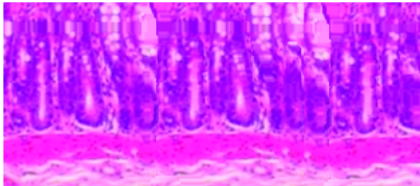
Lô 1. Chứng trắng, hình ảnh mô bệnh học trực tràng bình thường.



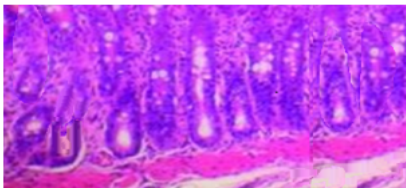
Lô 2. Chứng bệnh, có hình ảnh viêm, xung huyết, thoái hóa.



Lô 3. Prednisolon, hình ảnh mô bệnh học trực tràng gần như bình thường. Các hình ảnh viêm, xung huyết, thoái hóa giảm rõ.



Lô 4. “Viên trị HV” liều 0,7 g/kg/ngày, hình ảnh mô bệnh học trực tràng gần như bình thường. Các hình ảnh viêm, xung huyết, thoái hóa giảm rõ.



Lô 5. “Viên trị HV” liều 1,4 g/kg/ngày, hình ảnh mô bệnh học trực tràng gần như bình thường. Các hình ảnh viêm, xung huyết, thoái hóa giảm rõ.

Hình 1. Hình ảnh tiêu bản nhuộm HE mô bệnh học trực tràng chuột nghiên cứu

Kết quả hình 1 cho thấy: Ở lô chứng trắng, hình ảnh mô bệnh học bình thường. Ở lô chứng bệnh, hình ảnh viêm, xung huyết, thoái hóa rõ. Ở các lô dùng prednisolon và “Viên trị HV” (cả 2 mức liều), hình ảnh viêm, xung huyết, thoái hóa giảm rõ so với lô chứng bệnh.

2. Tác dụng giảm đau của “Viên trị HV” trên thực nghiệm

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của “Viên trị HV” tới thời gian xuất hiện đau quặn:

Viên nang “Viên trị HV” và thuốc tham chiếu Diclofenac đều thể hiện tác dụng làm thời gian xuất hiện đau quặn muộn hơn so với lô chứng. So với lô tham chiếu dùng Diclofenac, các lô dùng “Viên trị HV” 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 ($p > 0,05$). (Bảng 4)

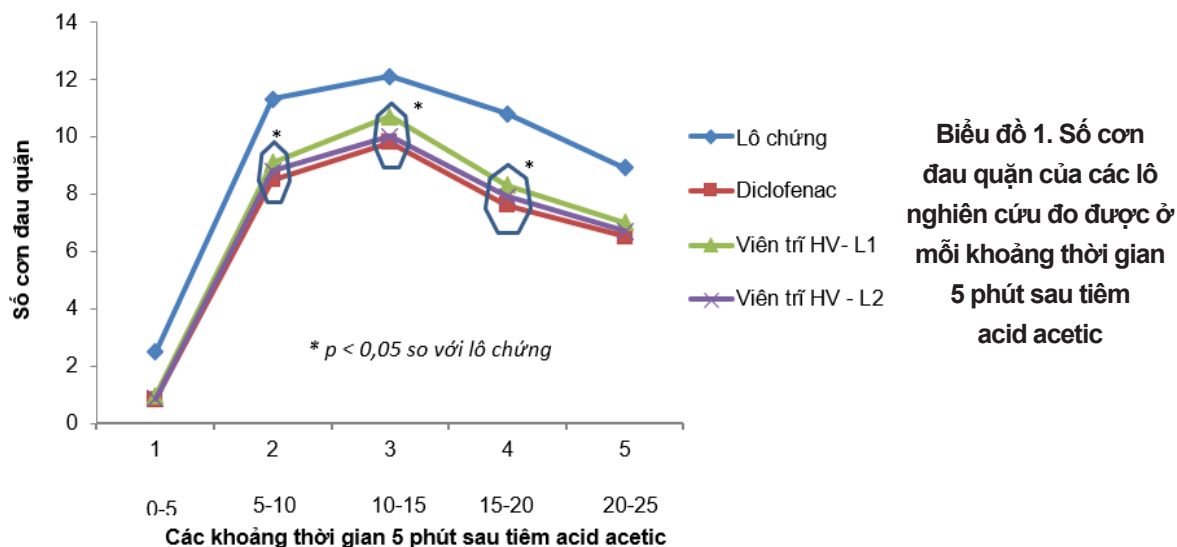
Bảng 4. Ảnh hưởng của “Viên trĩ HV” tới thời gian xuất hiện đau quận

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)	
			X ± SD	p
Lô chứng (1)	183	367	283,20 ± 68,94	$p_{2,3,4-1} < 0,05$ $p_{3,4-2} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$
Diclofenac (2)	272	485	369,80 ± 81,52	
“Viên trĩ HV” liều 1,2 g/kg/ngày (3)	256	471	350,60 ± 75,19	
“Viên trĩ HV” liều 2,4 g/kg/ngày (4)	261	492	359,80 ± 88,63	

Kết quả đánh giá số cơn đau quận trong từng khoảng thời gian 5 phút sau tiêm acid acetic.

Bảng 5. Ảnh hưởng của “Viên trĩ HV” tới số cơn đau quận ở mỗi khoảng thời gian 5 phút sau tiêm acid acetic (n = 10)

Lô nghiên cứu	Số cơn đau quận trong các khoảng thời gian 5 phút sau tiêm acid acetic				
	0 – 5 phút	5 – 10 phút	10 – 15 phút	15 – 20 phút	20 – 25 phút
Lô chứng (1)	2,48 ± 2,25	11,30 ± 4,42	12,10 ± 2,64	10,80 ± 2,46	8,90 ± 2,14
Diclofenac (2)	0,83 ± 1,29	8,50 ± 2,26	9,80 ± 1,98	7,60 ± 2,39	6,50 ± 2,32
“Viên trĩ HV” 1,2 g/kg (3)	0,96 ± 1,54	9,10 ± 1,65	10,70 ± 2,19	8,30 ± 2,44	7,00 ± 2,67
“Viên trĩ HV” 2,4 g/kg (4)	0,85 ± 1,10	8,80 ± 2,04	10,00 ± 3,05	7,90 ± 0,93	6,70 ± 1,99
p	$p_{2,3,4-1} > 0,05$ $p_{3,4-2} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$	$p_{2,3,4-1} < 0,05$ $p_{3,4-2} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$	$p_{2,3,4-1} < 0,05$ $p_{3,4-2} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$	$p_{2,3,4-1} < 0,05$ $p_{3,4-2} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$	$p_{2,3,4-1} > 0,05$ $p_{3,4-2} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$



Trong cả 5 khoảng thời gian đo, số cơn đau quặn ở các lô dùng “Viên trĩ HV” và lô tham chiếu luôn nhỏ hơn so với lô chứng sinh lý. Tuy nhiên, tại các khoảng thời gian đo 0 - 5 phút và 20 - 25 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 $p < 0,05$.

Kết quả đánh giá tổng số cơn đau quặn trong 25 phút sau tiêm acid acetic:

Bảng 6. Ảnh hưởng của “Viên trĩ HV” tới tổng số cơn đau quặn trong 25 phút sau tiêm acid acetic (n = 10)

Lô nghiên cứu	Số cơn đau quặn trong 25 phút sau tiêm acid acetic	Tỷ lệ (%) giảm số cơn đau quặn so với lô chứng sinh lý
Lô chứng (1)	46,30 ± 9,16	-
Diclofenac (2)	33,20 ± 8,92	28,29 %
“Viên trĩ HV” 1,2 g/kg (3)	34,90 ± 7,42	24,62 %
“Viên trĩ HV” 2,4 g/kg (4)	34,10 ± 8,09	26,35 %
p	$p_{2,3,4-1} < 0,05$; $p_{3,4-2} > 0,05$; $p_{3-4} > 0,05$	-

So với lô chứng, số cơn đau quặn trong cả 25 phút sau tiêm acid acetic ở cả 2 lô dùng “Viên trĩ HV” liều 1, liều 2 và lô dùng thuốc tham chiếu diclofenac đều nhỏ hơn có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Tính toán ở trong khoảng thời gian 25 phút này, tỷ lệ phần trăm làm giảm số cơn đau quặn ở lô dùng diclofenac liều 20 mg/kg/ngày, và các lô dùng “Viên trĩ HV” cả 2 mức liều 1,2 g/kg/ngày và 2,4 g/kg/ngày, lần lượt là 28,29 %; 24,62 %; và 26,35 %.

So với lô tham chiếu dùng diclofenac liều 20 mg/kg/ngày, số cơn đau quặn trong cả 25 phút sau tiêm acid acetic ở các lô dùng “Viên trĩ HV” 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 “Viên trĩ HV” liều thấp, ở lô dùng “Viên trĩ HV” liều cao có số cơn đau quặn trong cả 25 phút sau tiêm acid acetic ít hơn, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p_{3-4} > 0,05$).

3. Tác dụng cầm máu của “Viên trĩ HV” trên thực nghiệm

Bảng 7. Thời gian chảy máu của các lô chuột nghiên cứu

Lô nghiên cứu	Thời gian chảy máu (s)	Mức độ rút ngắn thời gian chảy máu so với lô chứng
Lô 1 (chứng)	(1) 238,90 ± 31,68	-
Lô 2 (carbazochrom)	(2) 191,30 ± 23,65	19,92 %
Lô 3 (“Viên trĩ HV” liều 0,7 g/kg/ngày)	(3) 200,10 ± 26,52	16,24 %
Lô 4 (“Viên trĩ HV” liều 1,4 g/kg/ngày)	(4) 188,60 ± 21,83	21,05 %
Giá trị p	$p_{3-1} < 0,01$; $p_{2,4-1} < 0,001$; $p_{3,4-2} > 0,05$; $p_{3-4} > 0,05$	

“Viên trĩ HV” và thuốc tham chiếu carbazochrom đều thể hiện tác dụng cầm máu, làm thời gian chảy máu ngắn hơn so với lô chứng ($p < 0,01$ và $p < 0,001$), tác dụng này của chế phẩm tương

đương với thuốc tham chiếu carbazochrom 12 mg/kg/ngày.

Bảng 8. Kết quả đo quang ở các lô chuột nghiên cứu

Lô nghiên cứu		Mật độ quang (OD) đo ở 550 nm	Phần trăm giảm OD so với lô chứng
Lô 1 (chứng)	(1)	0,612 ± 0,106	-
Lô 2 (carbazochrom)	(2)	0,446 ± 0,081	27,12 %
Lô 3 (“Viên trĩ HV” liều 0,7 g/kg/ngày)	(3)	0,481 ± 0,093	21,41 %
Lô 4 (“Viên trĩ HV” liều 1,4 g/kg/ngày)	(4)	0,427 ± 0,089	30,23 %
Giá trị p		$p_{3-1} < 0,05$; $p_{2,4-1} < 0,01$; $p_{3,4-2} > 0,05$; $p_{3-4} > 0,05$	

So với lô chứng, mật độ quang ở lô dùng “Viên trĩ HV” liều 0,7 g/kg/ngày giảm 21,41 % ($p < 0,05$), ở lô dùng Viên trĩ HV liều 1,4 g/kg/ngày giảm 30,23 % ($p < 0,01$) và ở lô dùng carbazochrom giảm 27,12 % ($p < 0,01$). Như vậy, viên nang “Viên trĩ HV” và thuốc tham chiếu carbazochrom đều thể hiện tác dụng làm giảm số lượng máu mất, được đánh giá thông qua làm giảm mật độ quang (OD) so với ở lô chứng.

So sánh giữa 2 lô dùng “Viên trĩ HV”, ở lô dùng liều cao (1,4 g/kg/ngày) có mật độ quang nhỏ hơn so với ở lô dùng liều thấp (0,7 g/kg/ngày), tuy nhiên sự khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

IV. BÀN LUẬN

Tác dụng chống viêm trực tràng của “Viên trĩ HV” được đánh giá trên mô hình chuột cống trắng gây trĩ, sau khi tiến hành gây trĩ trên chuột (gây viêm trực tràng) bằng dầu croton, chúng tôi tiến hành tập trung đánh giá các chỉ tiêu về tình trạng viêm toàn thân thông qua các cytokine như TNF- α và IL-6; đánh giá tình trạng viêm tại chỗ thông qua chỉ số trực tràng, mức độ thoát mạch ở mô trực tràng, và đánh giá mô bệnh học trực tràng, qua đó đánh giá tác dụng của thuốc điều trị trĩ và viêm trực tràng. Kết quả nghiên cứu cho thấy, viên nang cứng “Viên trĩ HV” dùng liều 0,7 g/kg/ngày và 1,4 g/kg/ngày có tác dụng chống viêm trên mô hình gây trĩ

ở chuột cống trắng bằng dung dịch croton oil thông qua làm giảm các cytokine viêm TNF - α và IL - 6; làm giảm viêm nề, xung huyết trực tràng, giảm chỉ số trực tràng; làm giảm tình trạng thoát mạch vào mô trực tràng thông qua làm giảm lượng xanh evans trong mô trực tràng; làm giảm hình ảnh tổn thương viêm, xung huyết, thoái hóa trên tiêu bản nhuộm HE mô trực tràng. Các tác dụng này tương đương với khi dùng prednisolon 5mg/kg /ngày. Trên thực tế, tác dụng kháng viêm của các dược liệu cũng đã được chứng minh như Tạo thích giác¹² (Hyekyung Ha và cộng sự, 2015), Trắc bá diệp¹³, Hòe hoa¹², Ngũ bội tử, Khương hoạt¹⁵, Phòng phong¹⁶, Xa sàng tử.^{17,18}

Tác dụng giảm đau của “Viên trĩ HV” được đánh giá theo mô hình gây đau quận bằng acid acetic của Koster và cộng sự (1959)¹⁰. Nghiên cứu được tiến hành trên chuột nhắt trắng, cả 2 giới, chuột được theo dõi số cơn đau quận trong 25 phút và trong từng khoảng thời gian 5 phút, thời gian xuất hiện cơn đau quận, sau đó kết quả được đem ra so sánh giữa các nhóm dùng thuốc nghiên cứu với nhau và với nhóm chứng. Kết quả cho thấy viên nang cứng “Viên trĩ HV” dùng trên chuột nhắt trắng liều 1,2 g/kg/ngày và 2,4 g/kg/ngày làm giảm đau rõ rệt trên mô hình gây đau quận bằng acid acetic, làm trễ thời gian xuất hiện đau và làm giảm số cơn đau quận so với lô chứng ($p < 0,05$), tương đương

so với khi dùng diclofenac 20 mg/kg. Theo y học hiện đại tác dụng dược lý của bài thuốc có thể được lý giải do bản thân các dược liệu thành phần có hiệu quả tốt, khi phối hợp hợp lý với nhau tạo nên được tác dụng hiệp đồng. “Viên trĩ HV” có chứa các vị dược liệu đã được chứng minh có tác dụng giảm đau dựa trên các phương pháp nghiên cứu khác như Phòng phong (Okuyama và cộng sự, 2001)¹⁹, Khương hoạt,²⁰ Ngũ bội tử (Sun K., Song X., và cộng sự, 2018).

Tác dụng cầm máu của “Viên trĩ HV” được đánh giá trên mô hình cắt đuôi chuột cống trắng. Thông qua thời gian cầm máu và lượng máu mất trong quá trình làm thí nghiệm để đánh giá tác dụng cầm máu của sản phẩm nghiên cứu. Kết quả cho thấy, viên nang cứng “Viên trĩ HV” dùng trên chuột cống trắng liều 0,7g/kg /ngày và 1,4g/ kg/ngày có tác dụng cầm máu, làm rút ngắn thời gian chảy máu ($p < 0,01$ và $p < 0,001$), giảm lượng máu mất ($p < 0,05$ và $p < 0,01$) so với lô chứng khi thử trên mô hình cắt đuôi chuột. Tác dụng này của chế phẩm tương đương với thuốc tham chiếu carbazochrom 12 mg/kg/ngày. Trên thực tế, tác dụng cầm máu của các dược liệu cũng đã được chứng minh như Trắc bá diệp,²¹ Hòe hoa.^{22,23}

“Viên trĩ HV” có thành phần chính là cao khô chiết xuất từ 10 vị dược liệu, các vị thuốc có tác dụng thanh nhiệt, tiêu viêm, lương huyết, chỉ thống, chỉ huyết.²⁴ Theo y học cổ truyền để làm tăng tác dụng chỉ huyết, các vị thuốc thường được sao đen hoặc đốt tồn tính. Trong bài tạo giác thích được đốt tồn tính, hòe hoa, trắc bá diệp và bạch tật lê cũng được sao đen nhằm tăng tác dụng chỉ huyết của toàn bài. Từ các kết quả trên cho thấy có sự tương đương giữa tác dụng thanh nhiệt, lương huyết, tiêu viêm, chỉ thống, chỉ huyết của “Viên trĩ HV” với tác dụng chống viêm, giảm đau, cầm máu theo Y học hiện đại.

V. KẾT LUẬN

Viên nang cứng “Viên trĩ HV” dùng liều 0,7 g/kg/ngày và 1,4 g/kg/ngày có tác dụng chống viêm trên mô hình gây trĩ và có tác dụng cầm máu trên chuột cống trắng. Viên nang cứng “Viên trĩ HV” liều 1,2 g/kg/ngày và 2,4 g/kg/ngày có tác dụng giảm đau trên chuột nhắt trắng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chen H, ed. Illustrative Handbook of General Surgery. London: Springer-Verlag; 2010. doi:10.1007/978-1-84882-089-0
2. American Gastroenterological Association medical position statement: Diagnosis and treatment of hemorrhoids 1. *Gastroenterology*. 2004; 126(5): 1461-1462. doi:10.1053/j.gastro.2004.03.001
3. Sun Z, Migaly J. Review of Hemorrhoid Disease: Presentation and Management. *Clin Colon Rectal Surg*. 2016; 29(01): 022-029. doi:10.1055/s-0035-1568144
4. Lee J-H, Kim H-E, Kang J-H, Shin J-Y, Song Y-M. Factors associated with hemorrhoids in korean adults: korean national health and nutrition examination survey. *Korean J Fam Med*. 2014; 35(5): 227-236. doi:10.4082/kjfm.2014.35.5.227
5. Riss S, Weiser FA, Schwameis K, et al. The prevalence of hemorrhoids in adults. *Int J Colorectal Dis*. 2012; 27(2): 215-220. doi:10.1007/s00384-011-1316-3
6. ElBatea H, Enaba M, ElKassas G, El-Kalla F, Elfert AA. Indications and Outcome of Colonoscopy in the Middle of Nile Delta of Egypt. *Dig Dis Sci*. 2011; 56(7): 2120-2123. doi:10.1007/s10620-010-1538-1
7. Nguyễn Mạnh Nhâm NXH. Điều tra bệnh trĩ ở miền Bắc Việt Nam: Dịch tễ học và các biện pháp phòng bệnh - điều trị hiện nay. *Tạp chí Hậu môn - Trực tràng*. 2004;6.
8. Bộ Y tế. Dược Điển Việt Nam 5. NXB Y học

Hà Nội; 2017.

9. Faujdar S, Sati B, Sharma S, Pathak AK, Paliwal SK. Phytochemical evaluation and anti-hemorrhoidal activity of bark of *Acacia ferruginea* DC. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2019; 9(2): 85-89. doi:10.1016/j.jtcme.2018.02.003

10. Koster, R., Anderson, M. and De Beer, E.J. Acetic Acid for Analgesic Screening. *Federation Proceedings*, 1959, 18, 412-417.

11. Liu Y, Jennings NL, Dart AM, Du X-J. Standardizing a simpler, more sensitive and accurate tail bleeding assay in mice. *World J Exp Med*. 2012; 2(2): 30-36. doi:10.5493/wjem.v2.i2.30

12. Seo CS, Lim HS, Ha H, Jin SE, Shin HK. Quantitative analysis and anti-inflammatory effects of *Gleditsia sinensis* thorns in RAW 264.7 macrophages and HaCaT keratinocytes. *Mol Med Rep*. 2015; 12(3): 4773-4781. doi:10.3892/mmr.2015.3936

13. Silva IS, Nicolau LAD, Sousa FBM, et al. Evaluation of anti-inflammatory potential of aqueous extract and polysaccharide fraction of *Thuja occidentalis* Linn. in mice. *Int J Biol Macromol*. 2017; 105(Pt 1): 1105-1116. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.07.142

14. Kim BH, Chung EY, Ryu J-C, Jung S-H, Min KR, Kim Y. Anti-inflammatory mode of isoflavone glycoside sophoricoside by inhibition of interleukin-6 and cyclooxygenase-2 in inflammatory response. *Arch Pharm Res*. 2003; 26(4): 306-311. doi:10.1007/BF02976960

15. Wu SB, Pang F, Wen Y, Zhang HF, Zhao Z, Hu JF. Antiproliferative and apoptotic activities of linear furocoumarins from *Notopterygium incisum* on cancer cell lines. *Planta Med*. 2010; 76(1): 82-85. doi:10.1055/s-0029-1185971

16. Chun JM, Kim HS, Lee AY, Kim S-H, Kim HK. Anti-Inflammatory and Antiosteoarthritis Effects of *Saposhnikovia divaricata* ethanol

Extract: In Vitro and In Vivo Studies. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2016:1984238. doi:10.1155/2016/1984238

17. Matsuda H, Ido Y, Hirata A, et al. Antipruritic effect of *Cnidii Monnieri Fructus* (fruits of *Cnidium monnieri* CUSSON). *Biol Pharm Bull*. 2002; 25(2): 260-263. doi:10.1248/bpb.25.260

18. Matsuda H, Tomohiro N, Ido Y, Kubo M. Anti-allergic effects of *cnidii monnieri fructus* (dried fruits of *Cnidium monnieri*) and its major component, osthol. *Biol Pharm Bull*. 2002; 25(6): 809-812. doi:10.1248/bpb.25.809

19. Okuyama E, Hasegawa T, Matsushita T, Fujimoto H, Ishibashi M, Yamazaki M. Analgesic components of *saposhnikovia root* (*Saposhnikovia divaricata*). *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2001; 49(2): 154-160. doi:10.1248/cpb.49.154

20. Okuyama E, Nishimura S, Ohmori S, Ozaki Y, Satake M, Yamazaki M. Analgesic component of *Notopterygium incisum* Ting. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1993; 41(5): 926-929. doi:10.1248/cpb.41.926

21. Shi S-Y, Zhou Q, He Z-Q, et al. Traditional Chinese medicine (Liang-Xue-Di-Huang Decoction) for hemorrhoid hemorrhage: Study Protocol Clinical Trial (SPIRIT Compliant). *Medicine (Baltimore)*. 2020; 99(16):e19720. doi:10.1097/MD.000000000019720

22. Ishida H, Umino T, Tsuji K, Kosuge T. Studies on antihemorrhagic substances in herbs classified as hemostatics in Chinese medicine. VI. On the antihemorrhagic principle in *Sophora japonica* L. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1987; 35(2): 857-860. doi:10.1248/cpb.35.857

23. Li H, Yuan G, Jin Y, Li R, Wang L, Wang S. [Experimental study on hemostatic effect of flos *sophorae* and its extracts]. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*. 2004; 24(11): 1007-1009.

24. Đỗ Tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXB Thời đại; 2015.

Summary

STUDIES ON EXPERIMENTAL ANTI-INFLAMMATORY, ANALGESIC AND HEMOSTASIS EFFECTS OF "VIEN TRI HV" ON EXPERIMENTAL ANIMALS

This study was conducted to evaluate the anti-inflammation, analgesic, and hemostatic effects of "Vien tri HV" on experimental animals. This is an experimental study with a control group. Studying the anti-inflammatory effect of the rectum on the white rat model causing hemorrhoids, "Vien tri HV" was used at doses of 0.7 g/kg/day and 1.4 g/kg/day, the level of inflammation at the site was assessed by macroscopic examination, rectal index, degree of extravasation into the rectal tissue as determined by the amount of Evans blue present in the rectal tissue, and microscopic appearance of the rectum. Studying the analgesic effect on the model of causing abdominal cramps by acetic acid, "Vien tri HV" was used at a dose of 1.2 g/kg/day and 2.4 g/kg/day in mice (equivalent to the clinical dose and twice the clinical dose) to study the experimental analgesic effect. Evaluating the hemostatic effect on a model of bleeding caused by tail cutting of white rats, "Vien tri HV" was used at doses of 0.7 g/kg/day and 1.4 g/kg/day, effective hemostasis was assessed based on bleeding time and blood loss. Results showed that hard capsules "Vien tri HV" administered at a dose of 0.7g/kg/day and 1.4g/kg/day had anti-inflammatory effects on a model of causing hemorrhoids in white rats with croton oil solution and have hemostatic effects, shorten bleeding time, this effect of similar preparations equivalent to the reference drug carbazochrome 12mg/kg/day. Results showed that hard capsules "Vien tri HV" administered to white mice at doses of 1.2g/kg/day and 2.4g/kg/day significantly reduced pain in the acetic acid-induced colic model. It could be concluded that "Vien tri HV" has an experimental effect on anti-inflammation, analgesic and hemostasis.

Keywords: "Vien tri HV", anti – inflammation, analgesic, hemostasis, experimental animals.