

đặc điểm thường gặp ở bệnh nhân VPLQTM. Vi khuẩn *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* là nguyên nhân gặp nhiều nhất ở bệnh nhân VPLQTM. Tỷ lệ kháng kháng sinh của các vi khuẩn này đang ở mức cao. Bệnh nhân VPLQTM có tiên lượng điều trị vẫn còn xấu, do đó việc thực hiện các biện pháp dự phòng VPLQTM là rất cần thiết.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, Muscedere J, Sweeney DA.** Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis.* 2016;63(5),61-111.
2. **MelsenWG, RoversMM, GroenwoldRH, et al.** Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: ameta-analysis of individual patient data from randomised prevention studies. *Lancet Infect Dis.* 2013; 13(8):665-71.
3. **MuscedereJG, DayA, HeylandDK.** Mortality, attributable mortality, and clinical events as end

- points for clinical trials of ventilator-associated pneumonia and hospital-acquired pneumonia. *ClinInfect Dis.* 2010;51, Suppl1:S120-5.
4. **Giang Thực Anh.** Đánh giá sử dụng kháng sinh điều trị nhiễm khuẩn bệnh viện tại khoa Điều trị tích cực, Bệnh viện Bạch Mai năm 2003-2004. Luận văn bác sĩ nội trú. Trường Đại học Y Hà Nội. 2004
 5. **Coffin SE, KlompasM, Classen D, Arias KM, et al.** Strategies To Prevent Ventilator-associated pneumonia in acute care hospitals. *Infection Control and Hospital Epidemiology.* 2008;29, Suppl1:S31.
 6. **Hoàng Khánh Linh.** Mô tả đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và các yếu tố nguy cơ ở bệnh nhân viêm phổi liên quan thở máy tại khoa Hồi sức tích cực bệnh viện Bạch Mai giai đoạn 2017-2018. Luận văn tốt nghiệp bác sĩ chuyên khoa cấp 2. Trường Đại học Y Hà Nội. 2018.
 7. **Hà Sơn Bình.** Nhận xét một số yếu tố liên quan và hiệu quả điều trị ở bệnh nhân viêm phổi liên quan đến thở máy. Luận văn tốt nghiệp bác sĩ chuyên khoa cấp 2. Trường Đại học Y Hà Nội. 2015
 8. **Nguyễn Ngọc Quang, Đoàn Thị Mai Phương, Lê Thị Diễm Tuyết và cộng sự.** Tình hình viêm phổi liên quan đến thở máy tại khoa Hồi sức tích cực bệnh viện Bạch Mai. *Nội khoa Việt Nam.* May 2012:57-62.

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG ĐIỀU TRỊ THOÁI HÓA KHỚP GỐI CỦA VIÊN NANG CỨNG “TD.NQ” TRÊN THỰC NGHIỆM

Trần Thái Hà¹, Trần Công Luận², Phạm Thị Vân Anh³

TÓM TẮT

Mục tiêu nghiên cứu: Nghiên cứu tác dụng điều trị thoái hóa khớp gối của viên nang cứng “TD.NQ” trên động vật thực nghiệm. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Chuột cống trắng chủng Wistar (Học viện Quân Y cung cấp). Cả 2 giống, khỏe mạnh, trọng lượng 180 ± 40 g. Phương pháp nghiên cứu: nghiên cứu điều trị thoái hóa khớp gối của viên nang cứng TD.NQ trên chuột gây thoái hóa khớp gối bằng MIA, thông qua các chỉ số cytokine gây viêm, đường kính vùng khớp gối và mô bệnh học. **Kết quả:** Ở lô uống TD.NQ liều 12,798 g/kg, độ tăng đường kính vùng khớp gối trên chuột giảm so với lô mô hình ở tất cả các thời điểm, đặc biệt ở thời điểm sau 1, sau 3, 4 và sau 5 tuần ($p < 0,05$, $p < 0,01$). Tác dụng này tốt hơn liều 4,266 g/kg nhưng kém hơn so với Diclofenac 3mg/kg. Ở lô uống TD.NQ liều 12,798 g/kg, nồng độ interleukin-1 β giảm rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,01$), không khác biệt so với chứng sinh học và so với

diclofenac 3mg/kg ($p > 0,05$). Ở lô uống TD.NQ liều 12,798 g/kg, nồng độ TNF- α giảm rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,05$), không khác biệt so với chứng sinh học và diclofenac 3mg/kg ($p > 0,05$). Điểm tổn thương mô bệnh học khớp gối giảm từ 50 xuống 36 và 35 trên lần lượt hai lô trị. **Kết luận:** TD.NQ cả 2 liều 4,266 g/kg và 12,798 g/kg có tác dụng giảm các chỉ số interleukin-1 β và TNF- α , giảm đường kính vùng khớp gối trên khớp gối bị viêm, cải thiện mô bệnh học khớp gối chuột nghiên cứu. TD.NQ liều 12,798 g/kg có xu hướng có tác dụng tốt hơn so với liều 4,266 g/kg, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê. **Từ khóa:** thoái hóa khớp, TD.NQ, y học cổ truyền.

SUMMARY

STUDY ON THE EFFECTS OF THE CAPSULE “TD.NQ” IN THE TREATMENT OF KNEE OSTEOARTHRITIS IN EXPERIMENT

Objective: Study the treatment effects of knee osteoarthritis of capsules “TD.NQ” on experimental animals. **Subjects and methods:** Wistar white rats (provided by the Vietnam Military Medical Academy). Both breeds, healthy, weight 180 ± 40 g. Method: Research on the treatment of knee osteoarthritis with TD.NQ capsules on mice with MIA-induced knee osteoarthritis, through inflammatory cytokine indices, knee joint area diameter and histopathology. **Results:** At a dose of 12,798 g/kg, the increase in knee joint diameter in mice decreased compared to the model

¹Bệnh viện Y học Cổ truyền Trung Ương

²Học viện Y - Dược học Cổ truyền Việt Nam

³Đại Học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Trần Công Luận

Email: luanyctk10@gmail.com

Ngày nhận bài: 5.2.2024

Ngày phản biện khoa học: 19.3.2024

Ngày duyệt bài: 12.4.2024

group at all times, especially at the time of after 1, 3, 4 and 5 weeks ($p < 0.05$, $p < 0.01$). This effect is better than the dose of 4,266 g/kg but didn't pass Diclofenac 3mg/kg. At a dose of 12,798 g/kg, interleukin-1 β concentration decreased significantly compared to the model batch ($p < 0.01$), with no difference compared to the biological control and compared to diclofenac 3mg/kg ($p > 0.05$). At a dose of 12,798 g/kg, TNF- α concentration decreased significantly compared to the model batch ($p < 0.05$), not different from the biological control and diclofenac 3mg/kg ($p > 0.05$). The knee joint histopathological damage score decreased from 50 to 36 and 35 in the two treatment batches respectively. **Conclusion:** TD.NQ both doses 4,266 g/kg and 12,798 g/kg are effective in reducing interleukin-1 β and TNF- α indices, reducing the diameter of the knee joint area on inflamed knee joints, and improving joint histopathology. research mouse pillow. TD.NQ dose 12,798 g/kg tends to have a better effect than dose 4,266 g/kg, but the difference is not statistically significant. **Keywords:** osteoarthritis, TD.NQ, traditional medicine.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thoái hóa khớp hay các bệnh lý xương khớp thường gặp đều có biểu hiện chủ yếu là đau và viêm tại khớp, ảnh hưởng nhiều đến chức năng vận động của bệnh nhân. Việc điều trị hiện nay

chủ yếu tập trung vào chống viêm, giảm đau trong đợt cấp và cải thiện chức năng vận động cho người bệnh [1].

Viên nang cứng "TD.NQ" gồm các vị thuốc: Hoàng bá, Sinh địa, Đào nhân, Bạch thược, Quy bản, Phục linh, Đỗ trọng, Đương quy, Đảng sâm, Phòng phong, Tâm gửi gạo, Tần giao, Ngưu tất, Trần bì, Xuyên khung, Cam thảo, Độc hoạt, Quế chi, Tế tân, Vỏ liễu, cao xương, phối hợp với nhau nhằm đạt được tác dụng chính là bổ thận, khu phong, trừ thấp, thanh nhiệt, thông kinh hoạt lạc. Để khẳng định hiệu quả điều trị cũng như cung cấp bằng chứng khoa học của sản phẩm, chúng tôi tiến hành đề tài nghiên cứu với mục tiêu: "Nghiên cứu tác dụng điều trị thoái hóa khớp gối của viên nang cứng "TD.NQ" trên động vật thực nghiệm".

II. CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu nghiên cứu. Viên nang cứng TD.NQ thành phần gồm các dược liệu được kiểm định chất lượng theo tiêu chuẩn ĐVN V và sản xuất theo tiêu chuẩn cơ sở tại công ty cổ phần Sao thái dương

TT	Thành phần	Tên khoa học	Hàm lượng và Tỷ lệ	Tiêu chuẩn dược liệu
Mỗi viên nang cứng hỗn hợp thảo mộc tương đương khối lượng thảo mộc				
1	Hoàng bá	Cortex Phellodendri	1,0g	Dược điển Việt nam V
2	Quy bản	Plastrum Testudinis	0,45g	
3	Sinh địa	Radix Rehmannia glutinosae	0,31g	
4	Bạch thược	Radix Paeoniae lactiflorae	0,30g	
5	Phục linh	Poria	0,21g	
6	Đỗ trọng	Cortex Eucommiae	0,21g	
7	Đương quy	Radix Angenicae sinensis	0,13g	
8	Đảng sâm	Radix Codonopsis	0,12g	
9	Phòng phong	Radix Saposhnikoviae divaricatae	0,10g	
10	Tâm gửi gạo	Herba Loranthi	0,10g	
11	Tần giao	Radix Gentianae	0,10g	
12	Ngưu tất	Radix Archiranthis bidentatae	0,10g	
13	Vỏ liễu	Salix alba	0,17g	TCCS
14	Trần bì	Pericarpium Citri reticulatae perettne	0,08g	Dược điển Việt nam V
15	Đào nhân	Semen Pruni	0,08g	
16	Xuyên khung	Rhizoma Ligustici wallichii	0,06g	
17	Cam thảo	Radix et Rhizoma Glycyrrhizae	0,05g	
18	Độc hoạt	Radix Angelicae pubescentis	0,04g	
19	Quế chi	Ramulus Cinamomi	0,03g	
20	Tế tân	Radix et Rhizoma Asari	0,02g	
21	Cao xương		0,29g	

Theo quy trình sản xuất tại phụ lục 3 với tỷ lệ chiết 1/6. Viên nang cứng TD.NQ chứa 3,95g dược liệu/viên tương đương 600mg bột thuốc/viên (theo tiêu chuẩn cơ sở: 600mg \pm 10%)

Liều dùng dự kiến trên người: 9 viên/ngày/người (tương đương 5400mg bột thuốc/ngày/người).

Tính trung bình một người 50kg, quy đổi ra

liều tương đương trên chuột cống với hệ số quy đổi là 06 thì liều dự kiến có tác dụng trên chuột cống là : $5400\text{mg} \div 50 \times 6 = 648\text{mg}$.

Như vậy dự kiến Liều 1 (liều lâm sàng) 648mg bột thuốc/kg/ngày (tương đương 4,266g dược liệu/kg/ngày). Liều cao (liều 2) gấp 3 lần là 1944mg bột thuốc/kg/ngày (tương đương 12,798g dược liệu /kg/ngày) [2]

2.2. Đối tượng nghiên cứu. Chuột cống trắng chủng Wistar (Học viện Quân Y cung cấp). Cả 2 giống, khỏe mạnh, trọng lượng 180 ± 40 g. Động vật được nuôi trong điều kiện đầy đủ thức ăn và nước uống theo tiêu chuẩn tại phòng thí nghiệm 3 tuần trước khi nghiên cứu và trong suốt quá trình nghiên cứu tại bộ môn Dược Lý - Đại Học Y Hà Nội.

2.3. Hóa chất, máy móc và thiết bị phục vụ nghiên cứu

- Monosodium-iodoacetate lọ 25G do hãng Sigma Aldrich (Singapore) cung cấp
- Natri clorid 0,9% do hãng Braun, Việt Nam sản xuất
- Cồn 70 độ của hãng HDPharma (Việt Nam)
- Dung dịch sát khuẩn Betadin của hãng Mundipharma Pharmaceuticals Ltd. (Síp)
- Kit TNF-alpha code SEA133RA dành cho chuột cống của hãng Cloud Clone Corp.
- Kit IL-1beta code SEA563RA dành cho chuột cống của hãng Cloud Clone Corp.
- Các hoá chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học.
- Hệ thống xét nghiệm ELISA của hãng Biotek (Mỹ)
- Máy đo phản ứng đau Dynamic Plantar Aesthesiometer 37450 của hãng Ugo Basile (Ý)
- Thước điện tử đo độ dày (Độ chính xác: 0,02mm): MC 555 của hãng Hangzhou tools and measuring tools Co., Ltd (Trung Quốc)
- Máy đo ngưỡng đau Analgesy meter 7200 của hãng Ugo Basile (Ý)
- Camera Canon Ixus 120IS (Nhật Bản)
- Phần mềm phân tích hình ảnh VLC media player.
- Kim chuyên dụng cho chuột nhắt/chuột cống uống thuốc
- Dụng cụ và vật liệu dùng cho phẫu thuật: kính lúp, dao mổ, kéo, panh, kim chỉ, bông, băng, gạc, bơm tiêm...

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: nghiên cứu thực nghiệm có nhóm chứng.

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

Lô 1 (chứng sinh học): tiêm vào khe khớp nước muối sinh lý, uống nước cất liều 1ml/100g chuột.

Lô 2 (mô hình): gây thoái hóa khớp bằng tiêm vào khe khớp MIA 3mg/khớp, uống nước cất 1ml/100g chuột.

Lô 3 (chứng dương): gây thoái hóa khớp bằng tiêm vào khe khớp MIA 3mg/khớp, uống diclofenac 3mg/kg

Lô 4 (lô trị 1): gây thoái hóa khớp bằng tiêm vào khe khớp MIA 3mg/khớp, uống TD.NQ liều 4,266g/kg/ngày

Lô 5 (lô trị 1): gây thoái hóa khớp bằng tiêm vào khe khớp MIA 3mg/khớp, uống TD.NQ liều 12,798g/kg/ngày

Tại thời điểm bắt đầu nghiên cứu, chuột ở lô 2 đến lô 5 được gây mô hình thoái hóa khớp thực nghiệm theo phương pháp của Kim và cộng sự [5], [6] bằng cách tiêm dung dịch MIA liều 3mg/khớp vào khớp gối bên phải của từng chuột. Riêng chuột lô chứng sinh học được tiêm nước muối sinh lý là dung môi pha thuốc vào khớp gối bên phải của từng chuột. Thể tích dung dịch tiêm vào khớp là 50µl/khớp.

Sau khi gây mô hình bằng tiêm MIA 3mg/khớp, các lô 1 và 2 được uống nước, lô 3 uống diclofenac liều 3mg/kg, lô 4 và 5 được uống TD.NQ liều 4,266g/kg/ngày và 12,798g/kg/ngày tương ứng. Các lô chuột uống thuốc và nước 1 lần/ngày trong 6 tuần liên tục. Thuốc thử được nghiên cứu trong cố sù, pha thuốc với nước cất trước khi cho chuột uống.

2.5. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Địa điểm nghiên cứu: Bộ môn Dược Lý, Trường Đại học Y Hà Nội

Thời gian nghiên cứu: Tháng 5- tháng 10 năm 2023.

2.6. Chỉ số đánh giá. Đường kính vùng khớp gối

Đường kính vùng khớp gối được đo bằng thước điện tử chuyên dụng, tính đường kính lớn nhất đo được tại khớp gối phải, đo vào các thời điểm: trước nghiên cứu, sau tiêm MIA và uống thuốc 1 tuần, 2 tuần, 3 tuần, 4 tuần, 5 tuần và 6 tuần. Chỉ số đánh giá là độ tăng đường kính khớp gối ở mỗi thời điểm nghiên cứu so với trước nghiên cứu, đơn vị là milimet (mm)

Các chỉ số Interleukin

Các Interleukin 1 β và TNF α là các chỉ số đặc hiệu, tăng cao trong thoái hóa khớp, khi giảm được các chỉ số này nghĩa là làm chậm quá trình thoái hóa, cải thiện cấu trúc của sụn khớp. Các chỉ số này được định lượng trong huyết thanh của chuột ở thời điểm sau 6 tuần tiêm MIA.

Đánh giá mô bệnh học khớp gối

Đánh giá ngẫu nhiên trên 30% số chuột ở các lô sau 6 tuần tiêm MIA và uống thuốc, chuột

được gây mê và phẫu thuật tách khớp gối phải ra khỏi cơ thể, bảo quản trong dung dịch formaldehyd 10%, được đánh giá mức độ thoái hóa dựa theo bảng điểm của Kim Joon Ki [5] trên tiêu bản giải phẫu mô bệnh học.

Kết quả giải phẫu bệnh được đánh giá tại Bộ môn Giải phẫu bệnh – Trường Đại học Y Hà Nội.

2.5. Xử lý số liệu

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Ảnh hưởng của TD.NQ lên đường kính vùng khớp gối chuột cống

Lô chuột	n	Độ tăng đường kính vùng khớp gối theo thời gian (mm)					
		Sau 1 tuần	Sau 2 tuần	Sau 3 tuần	Sau 4 tuần	Sau 5 tuần	Sau 6 tuần
Lô 1 (chứng sinh học)	10	0,37±0,1	0,32±0,07	0,36±0,12	0,39±0,13	0,47±0,13	0,41±0,13
Lô 2 Mô hình	10	1,03±0,35	0,90±0,25	1,03±0,25	1,09±0,34	1,14±0,35	0,99±0,30
p so chứng		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Lô 3 Diclofenac 3mg/kg	10	0,74±0,20	0,67±0,20	0,79±0,22	0,60±0,20	0,51±0,16	0,66±0,22
p so chứng		<0,001	<0,001	<0,001	<0,05	>0,05	<0,01
p so mô hình		<0,01	<0,05	<0,05	<0,01	<0,001	<0,01
Lô 4 TD.NQ 4,266g/kg	10	1,02±0,25	1,13±0,40	1,04±0,36	1,03±0,17	0,97±0,29	0,90±0,29
p so chứng		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p so mô hình		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
p so diclofenac		<0,05	<0,01	>0,05	<0,001	<0,001	<0,05
Lô 5 TD.NQ 12,798g/kg	10	0,71±0,21	0,69±0,23	0,70±0,17	0,77±0,26	0,71±0,19	0,75±0,24
p so chứng		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01	<0,01
p so mô hình		<0,05	>0,05	<0,01	<0,05	<0,01	>0,05
p so diclofenac		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05
p so liều thấp		<0,01	<0,01	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05

Nhận xét: - Độ tăng đường kính vùng khớp gối của chuột ở các lô được tiêm MIA gây thoái hóa khớp, đặc biệt là lô mô hình tăng rõ rệt so với lô chứng sinh học (chỉ tiêm nước muối sinh lý), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,001, p < 0,01 và p < 0,05).

- Ở lô uống Diclofenac 3mg/kg, độ tăng đường kính vùng khớp gối trên chuột giảm rõ rệt so với lô mô hình ở tất cả các thời điểm nghiên cứu (p < 0,05, p < 0,01 và p < 0,001).

- Ở lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg, độ tăng đường kính vùng khớp gối trên chuột không giảm so với lô mô hình ở thời điểm sau 1 tuần đến 3 tuần tiêm MIA. Đến thời điểm sau 4 đến 6 tuần, độ tăng đường kính vùng khớp gối trên chuột có xu hướng giảm so với lô mô hình nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

- Ở lô uống TD.NQ liều 12,798 g/kg, độ tăng đường kính vùng khớp gối trên chuột giảm so với lô mô hình ở tất cả các thời điểm, đặc biệt ở thời điểm sau 1, sau 3, 4 và sau 5 tuần (p < 0,05, p

Số liệu được nhập bằng phần mềm Excel 2019 và xử lý bằng phần mềm SPSS 20, biểu diễn dưới dạng X ± SD (với số liệu phân bố chuẩn). Kiểm định các giá trị bằng t-test Student hoặc test trước-sau.

Quy ước: *: p < 0,05; **: p < 0,01; ***: p < 0,001: p so với trước nghiên cứu.

< 0,01). Tác dụng này kém hơn so với Diclofenac 3mg/kg.

Bảng 2. Ảnh hưởng của TD.NQ lên nồng độ Interleukin-1β trong máu chuột cống

Lô thí nghiệm (n = 10)	Interleukin-1β (pg/ml)
Lô 1: Chứng sinh học	4,80 ± 1,49
Lô 2: Mô hình (MIA 3mg/khớp)	6,55 ± 1,85
p ₂₋₁	< 0,05
Lô 3: Diclofenac 3mg/kg	4,29 ± 1,00
p ₃₋₁	> 0,05
p ₃₋₂	< 0,01
Lô 4: TD.NQ 4,266 g/kg	3,21 ± 0,83
p ₄₋₁	< 0,01
p ₄₋₂	< 0,001
p ₄₋₃	< 0,05
Lô 5: TD.NQ 12,798 g/kg	3,97 ± 1,09
p ₅₋₁	> 0,05
p ₅₋₂	< 0,01
p ₅₋₃	> 0,05

Nhận xét: + Ở lô mô hình, nồng độ

interleukin-1 β tăng cao rõ rệt so với chứng sinh học ($p < 0,05$).

- Ở lô uống diclofenac 3mg/kg, nồng độ interleukin-1 β giảm rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,01$), không khác biệt so với chứng sinh học ($p > 0,05$).

- Ở lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg, nồng độ interleukin-1 β giảm rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,001$), giảm rõ so với chứng sinh học ($p < 0,01$) và so với diclofenac 3mg/kg ($p < 0,05$).

- Ở lô uống TD.NQ liều 12,798 g/kg, nồng độ interleukin-1 β giảm rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,01$), không khác biệt so với chứng sinh học và so với diclofenac 3mg/kg ($p > 0,05$).

Bảng 3: Ảnh hưởng của TD.NQ lên nồng độ TNF- α trong máu chuột cống

Lô thí nghiệm (n = 10)	TNF- α (pg/ml)
Lô 1: Chứng sinh học	23,29 \pm 5,80
Lô 2: Mô hình (MIA 3mg/khớp)	38,27 \pm 12,33
p_{2-1}	< 0,01
Lô 3: Diclofenac 3mg/kg	20,06 \pm 5,74

p_{3-1}	> 0,05
p_{3-2}	< 0,001
Lô 4: TD.NQ 4,266 g/kg	25,24 \pm 8,25
p_{4-1}	> 0,05
p_{4-2}	< 0,05
p_{4-3}	> 0,05
Lô 5: TD.NQ 12,798 g/kg	26,62 \pm 8,46
p_{5-1}	> 0,05
p_{5-2}	< 0,05
p_{5-3}	> 0,05

Nhận xét:

+ Ở lô mô hình, nồng độ TNF- α tăng cao rõ rệt so với chứng sinh học ($p < 0,01$).

- Ở lô uống diclofenac 3mg/kg, nồng độ TNF- α giảm rõ so với lô mô hình ($p < 0,001$), không khác biệt so với chứng sinh học ($p > 0,05$).

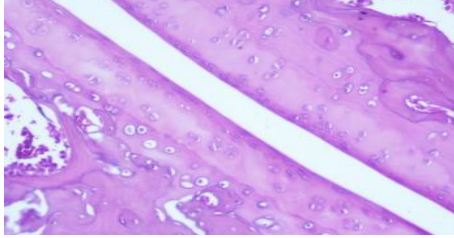
- Ở lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg và 12,798 g/kg, nồng độ TNF- α giảm rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,05$), không khác biệt so với chứng sinh học và diclofenac 3mg/kg ($p > 0,05$).

Bảng 4. Bảng điểm tổn thương mô bệnh học khớp gối

Tiêu chí	Mức độ	Số mẫu tổn thương trong từng lô									
		Chứng		Mô hình		Diclofenac		TD.NQ liều 4,266g/kg		TD.NQ liều 12,798g/kg	
			Tổng		Tổng		Tổng		Tổng		Tổng
Tổn thương xương dưới sụn	+	0/3		0/3		2/3		1/3		2/3	
	++	0/3	0	3/3	6	1/3	4	2/3	5	1/3	4
	+++	0/3		0/3		0/3		0/3		0/3	
Mất lớp proteoglycan	+	0/3		0/3		0/3		2/3		2/3	
	++	0/3	0	3/3	6	3/3	6	1/3	4	1/3	4
	+++	0/3		0/3		0/3		0/3		0/3	
Có gai xương	+	0/3		0/3		1/3		2/3		2/3	
	++	0/3	0	3/3	6	2/3	5	1/3	4	1/3	4
	+++	0/3		0/3		0/3		0/3		0/3	
Tổn thương sụn	+	0/3		0/3		1/3		2/3		2/3	
	++	0/3	0	3/3	6	2/3	5	1/3	4	1/3	4
	+++	0/3		0/3		0/3		0/3		0/3	
Thoái hóa/hoại tử sụn	+	0/3		0/3		2/3		3/3		2/3	
	++	0/3	0	3/3	6	1/3	4	0/3	3	1/3	4
	+++	0/3		0/3		0/3		0/3		0/3	
Thâm nhiễm tế bào viêm trong mô hoạt dịch	+	0/3		2/3		3/3		3/3		3/3	
	++	0/3	0	1/3	4	0/3	3	0/3	3	0/3	3
	+++	0/3		0/3		0/3		0/3		0/3	
Tăng sinh tế bào hoạt dịch	+	0/3		1/3		1/3		1/3		1/3	
	++	0/3	0	2/3	5	2/3	5	2/3	5	2/3	5
	+++	0/3		0/3		0/3		0/3		0/3	
Độ dày màng hoạt dịch	+	0/3		1/3		3/3		1/3		2/3	
	++	0/3	0	2/3	5	0/3	3	2/3	5	1/3	4
	+++	0/3		0/3		0/3		0/3		0/3	
Hẹp khe khớp	+	0/3		0/3		1/3		2/3		3/3	
	++	0/3	0	3/3	6	2/3	5	1/3	3	0/3	3
	+++	0/3		0/3		0/3		0/3		0/3	
Tổng			0		50		40		36		35

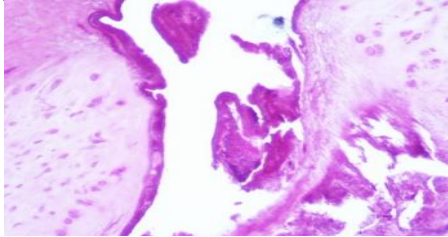
Nhận xét: Lô chứng không có tổn thương trên mô bệnh học khớp gối. Ở lô mô hình tỷ lệ tổn thương thoái hóa khớp mức độ trung bình chiếm đa số, tổng số mẫu tổn thương là 50. Lô Diclofenac đa số tổn thương thoái hóa khớp mức độ nhẹ và trung bình. Ở lô TD.NQ liều 4,266g/kg và liều 12,798g/kg tỷ lệ tổn thương thoái hóa khớp mức độ nhẹ chiếm đa số, tổng số mẫu tổn thương lần lượt là 36 mẫu ở lô TD.NQ liều 4,266g/kg và 35 mẫu ở lô TD.NQ liều 12,798g/kg

Bảng 5. Hình ảnh mô bệnh học khớp gối



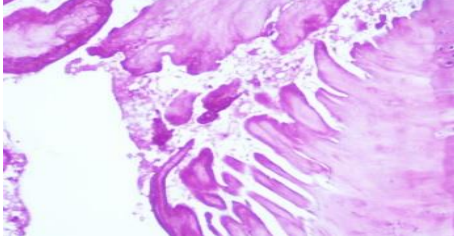
Hình 1. Lô chứng sinh học (chuột số 1) (HE x 100)

Sụn khớp bình thường



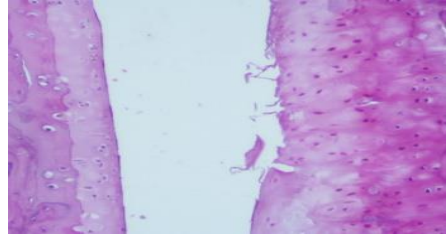
Hình 2. Lô mô hình (chuột số 11) (HE x 100)

Sụn khớp thoái hóa, hoại tử, có gai xương



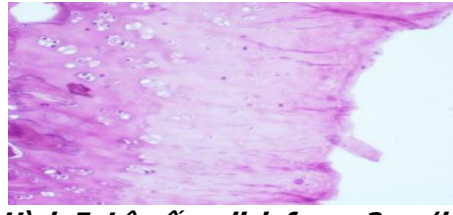
Hình 3. Lô mô hình (chuột số 12) (HE x 100)

Sụn khớp thoái hóa hoại tử



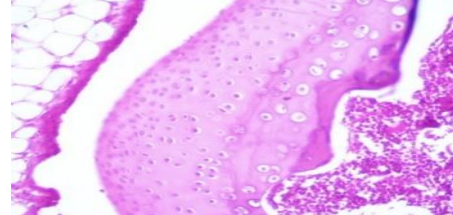
Hình 4. Lô uống diclofenac 3mg/kg (chuột số 19) (HE x 100)

Sụn khớp thoái hóa, bề mặt sụn tổn thương mức độ nhẹ



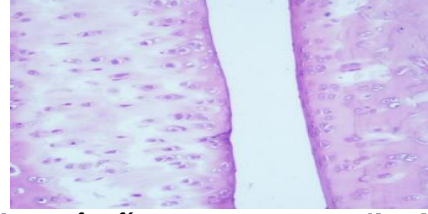
Hình 5. Lô uống diclofenac 3mg/kg (chuột số 22) (HE x 100)

Sụn khớp thoái hóa, bề mặt nhám nhỏ



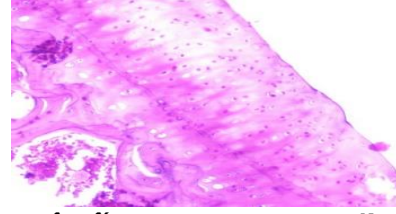
Hình 6. Lô uống TD.NQ 4,266g/kg (chuột số 85) (HE x 100)

Sụn khớp thoái hóa, thay đổi xương dưới sụn rõ, sụn tăng sinh mức độ vừa



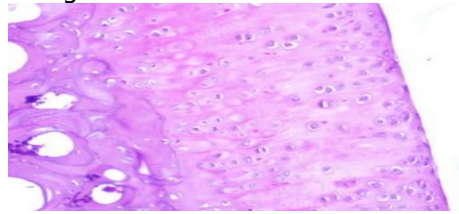
Hình 7. Lô uống TD.NQ 4,266g/kg (chuột số 89) (HE x 100)

Sụn khớp thoái hóa mức độ nhẹ, sụn tăng sinh, bề mặt sụn nhẵn.



Hình 8. Lô uống TD.NQ 12,798g/kg (chuột số 72) (HE x 100)

Sụn khớp thoái hóa, khe khớp không đều, có chồi xương



Hình 9. Lô uống TD.NQ 12,798g/kg (chuột số 76) (HE x 100)

Sụn khớp thoái hóa, tế bào sụn giảm, bề mặt nhẵn

IV. BÀN LUẬN

Mô hình gây THK gối thực nghiệm bằng cách tiêm MIA (monosodium – iodoacetate) vào khớp gối của chuột. MIA có tác dụng ức chế hoạt tính của glycer-aldehyde – 3 – phosphate-dehydrogenase ở sụn khớp, dẫn đến sự gián đoạn quá trình chuyển hóa năng lượng từ thủy phân đường, các quá trình tổng hợp và thậm chí là sự chết tế bào, gây ra sự tăng sinh hoạt dịch và xâm nhập tế bào viêm lặp đi lặp lại nhiều lần, từ đó làm mất dần lớp sụn khớp và tổn thương cấu trúc dưới sụn, tạo ra tình trạng bệnh tương tự thoái hóa khớp trên lâm sàng.

Mức độ nặng của khớp viêm phụ thuộc vào nồng độ và thời gian tiêm MIA, nhiều nghiên cứu đã chứng minh MIA liều 3mg/khớp tiêm 1 lần có hiệu quả nhất trong việc gây mô hình thoái hóa khớp để tiến hành các thử nghiệm. Trong nghiên cứu này đã sử dụng chuột cống trắng làm đối tượng gây thoái hóa khớp gối, nghiên cứu đánh giá chủ yếu dựa vào các yếu tố sau:

- Đánh giá triệu chứng viêm, đau, hạn chế vận động.

- Định lượng các cytokin đặc hiệu trong thoái hóa khớp.

- Đánh giá tổn thương giải phẫu bệnh khớp là tiêu chuẩn vàng trên mô hình thoái hóa khớp thực nghiệm, có giá trị chẩn đoán xác định và đánh giá mức độ, mà không thể thực hiện được trên bệnh nhân.

Các nghiên cứu trước đây khi đánh giá tác dụng của thuốc về điều trị bệnh lý xương khớp là chưa gây được mô hình thoái hóa khớp thực nghiệm, do vậy khi đánh giá mới chỉ dừng lại ở tác dụng chống viêm, giảm đau trên động vật bình thường.

Chỉ số viêm trong mô hình thoái hóa khớp gối được đánh giá thông qua đường kính khớp gối của chuột và các cytokin gây viêm. Mặc dù là quá trình thoái hóa, song trong THK vẫn có hiện tượng viêm diễn biến thành từng đợt, biểu hiện bằng đau và giảm chức năng vận động của khớp tổn thương, tăng số lượng tế bào trong dịch khớp kèm theo viêm màng hoạt dịch kín đáo về tổ chức học. Các nghiên cứu in vitro và in vivo đã chứng minh IL-1 β và TNF- α là các cytokine di hóa nổi trội tham gia vào quá trình phá hủy sụn khớp trong bệnh thoái hóa khớp. Ngoài hiệu quả cảm ứng các tế bào sụn tăng tổng hợp các enzym proteinase khác ra, IL-1 β và TNF- α còn làm tăng quá trình tổng hợp các cytokin tiền viêm khác nữa, ví dụ như cytokin IL-1 β và IL-18, và đến lượt các cytokin này lại tham gia vào quá trình tăng thoái hóa khớp.

4.1. Bàn luận về ảnh hưởng của TD.NQ lên đường kính vùng khớp gối

- Độ tăng đường kính vùng khớp gối của chuột ở các lô được tiêm MIA gây thoái hóa khớp, đặc biệt là lô mô hình tăng rõ rệt so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$, $p < 0,01$ và $p < 0,05$). Điều này xảy ra do MIA phá hủy sụn khớp, giải phóng các chất trung gian hóa học gây viêm và làm tăng đường kính vùng khớp gối chuột.

- Ở lô uống Diclofenac 3mg/kg, đường kính vùng khớp gối trên chuột giảm rõ rệt so với lô mô hình ở tất cả các thời điểm nghiên cứu ($p < 0,05$, $p < 0,01$ và $p < 0,001$), thể hiện khả năng chống viêm của Diclofenac.

- Ở lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg, đường kính vùng khớp gối trên chuột không giảm so với lô mô hình ở thời điểm sau 1 tuần đến 3 tuần tiêm MIA. Đến thời điểm sau 4 đến 6 tuần, độ tăng đường kính khớp gối trên chuột có xu hướng giảm so với lô mô hình nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- Ở lô uống TD.NQ liều 12,798 g/kg, đường kính vùng khớp gối trên chuột giảm so với lô mô hình ở tất cả các thời điểm, đặc biệt ở thời điểm sau 1, sau 3, 4 và sau 5 tuần ($p < 0,05$, $p < 0,01$). Tác dụng này kém hơn so với Diclofenac.

Như vậy, TD.NQ liều 12,798 g/kg có tác dụng chống viêm, làm giảm đường kính vùng khớp gối bị tăng lên do phản ứng viêm gây ra.

4.2. Bàn luận về ảnh hưởng của TD.NQ lên các cytokin gây viêm

- Lô mô hình: Nồng độ IL-1 β và TNF- α đều tăng rõ so với lô chứng sinh học ($p < 0,05$ và $p < 0,01$), góp phần khẳng định cơ chế bệnh sinh THK có liên quan chặt chẽ đến các cytokin này trong cơ thể.

- Lô uống Diclofenac 3mg/kg: Nồng độ interleukin-1 β và TNF- α giảm rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,01$ và $p < 0,001$), không khác biệt so với chứng sinh học ($p > 0,05$), thể hiện tác dụng chống viêm của Diclofenac thông qua việc ức chế các cytokin này.

- Lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg
 - + Nồng độ Interleukin-1 β giảm rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,001$), giảm so với chứng sinh học ($p < 0,01$) và so với diclofenac 3mg/kg ($p < 0,05$)

- + Nồng độ TNF- α giảm rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,05$), kém hơn so với diclofenac 3mg/kg ($p > 0,05$), không khác biệt so với chứng sinh học.

- Lô uống TD.NQ liều 12,798 g/kg
 - + Nồng độ Interleukin-1 β giảm rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,01$), có xu hướng giảm hơn so với diclofenac 3mg/kg ($p > 0,05$), không khác

biệt so với chứng sinh học.

+ Nồng độ TNF- α giảm rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,05$), kém hơn diclofenac 3mg/kg ($p > 0,05$), không khác biệt so với chứng sinh học.

+ Cả nồng độ IL-1 β và TNF- α đều có xu hướng cao hơn so với lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg, tuy nhiên không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Như vậy, TD.NQ liều 4,266 g/kg và 12,798 g/kg có tác dụng chống viêm, thông qua ức chế các cytokin gây viêm.

4.3. Bàn luận về ảnh hưởng của TD.NQ lên mô bệnh học khớp gối. Kết quả mô bệnh học cho thấy, ở lô mô hình có hình ảnh sụn khớp thoái hóa, hoại tử, có gai xương, như vậy MIA đã có tác dụng trong mô hình gây thoái hóa khớp gối ở chuột.

Ở lô chứng dương, Diclofenac đã có tác dụng chống viêm rõ rệt thông qua việc không còn yếu tố hoại tử trên hình ảnh mô bệnh học, bề mặt sụn chỉ còn tổn thương mức độ nhẹ. Tổng điểm mô bệnh học khớp gối giảm so với lô mô hình (40 so với 50).

Ở các lô trị, TD.NQ liều 12,798g/kg có tác dụng chống viêm tốt hơn liều 4,266g/kg, với hình ảnh sụn khớp chỉ có thoái hóa nhẹ, tế bào sụn giảm, bề mặt nhẵn. Tổng điểm mô bệnh học khớp gối giảm so với lô mô hình và so với lô Diclofenac (36 và 35 so với 40).

Viên nang cứng TD.NQ được tạo thành dựa trên bài thuốc cổ phương "Độc hoạt tang ký sinh thang" với các vị thuốc gốc là Độc hoạt, phòng phong, tang ký sinh, tần giao, quế chi, xuyên khung, đương quy, sinh địa, bạch thược, đảng sâm, phục linh, cam thảo và gia thêm các vị: Hoàng bá, Vỏ cây liễu, Quy bản, Trần bì, Đào nhân, cao xương hỗn hợp.

Thoái hóa khớp thuộc phạm trù chứng Tý trong YHCT. "Chứng tý" được ghi đầu tiên trong sách "Nội kinh" như sau: "Chứng tý là một trong những chứng nan trị vì trời có sáu thứ khí mà chứng tý lại do ba thứ khí hợp lại gây bệnh, theo các thuộc tính của ba thứ khí là phong thì đi nhanh, hàn thì vào sâu, thấp thì ướt đẫm và ứ đọng, khi phối hợp lại cùng gây bệnh sẽ tạo nên bệnh cảnh phức tạp". Tý đồng âm với Bí, nghĩa là bế tắc, ngăn lấp, không thông [3].

Theo YHCT, các vị thuốc trên có tác dụng khu phong trừ thấp, dưỡng huyết hòa vinh, hoạt lạc thông tý, bổ can thận là chủ gân cốt, hành khí, hoạt huyết chỉ thống.

Theo YHHD, Phòng phong có ác dụng giảm đau do thành phần có cimifugin làm giảm biểu hiện COX-2 [7]. Độc hoạt chống viêm, giảm đau, ức chế phá hủy sụn khớp, tăng biểu hiện

proteoglycan, collagen [8]. Hoàng bá làm giảm các IL-6, IL-1 β , ức chế tổng hợp nitric oxid [9].... Và đặc biệt Ngưu tất có tác dụng tăng sinh sụn và tăng biểu hiện collagen typ II ở sụn [10], góp lại thành tác dụng chống thoái hóa, chống viêm, giảm đau của sản phẩm.

V. KẾT LUẬN

TD.NQ cả 2 liều 4,266 g/kg và 12,798 g/kg có tác dụng giảm các chỉ số interleukin-1 β và TNF- α , giảm đường kính khớp gối trên khớp gối bị viêm, cải thiện mô bệnh học khớp gối chuột nghiên cứu. TD.NQ liều 12,798 g/kg có xu hướng có tác dụng tốt hơn so với liều 4,266 g/kg, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Trần Ngọc Ân và Nguyễn Thị Ngọc Lan** (2004). Thoái hóa khớp (hư khớp) và thoái hóa cột sống. Bệnh học nội khoa tập I (dùng cho đối tượng sau đại học), Nhà xuất bản Y học, 422-435.
2. **Đỗ Trung Đàm** (2006), Phương pháp ngoại suy liều có hiệu quả tương đương giữa người và động vật thí nghiệm. Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo. Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật. Tạp chí dược học, số 479, tr. 38-41
3. **Hoàng Bảo Châu** (1997). Chứng Tý. Nội khoa y học cổ truyền, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, trang 574 – 585
4. **Li Meihan, Xiao Rong, Li Jing et al.** (2017). Regenerative approaches for cartilage repair in the treatment of osteoarthritis. Osteoarthritis and Cartilage, 25(10), 1577-1587.
5. **Joon-Ki Kim, Sang-Won Park, Jung-Woo Kang et al** (2012). Effects of GSCB- 5, a Herbal Formulation, on Monosodium Iodoacetate-Induced Osteoarthritis in Rats. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Vol 2012, doi: 10.1155/2012/730907
6. **F.J. Al-Safar, S. Ganabadi, H. Yaakub et al** (2009), "Collagenase and Sodium Iodoacetate – Induced experimental Osteoarthritis Model in Sprague Dawley Rats", Asian Journal of Scientific Research 2(4): 167-179.
7. **Wu Liu-Qing et al.** (2016). Antinociceptive Effects of Prim-O- Glucosylcimifugin in Inflammatory Nociception via Reducing Spinal COX-2. Biomolecules & Therapeutics, 24(4), 418-25.
8. **Li, X., Wang, J., & Gao, L.** (2013). Anti-inflammatory and analgesic activity of R.A.P. (Radix Angelicae Pubescentis) ethanol extracts. African journal of traditional, complementary, and alternative medicines, 10 (3), 422-6.
9. **Choi YY., Kim MH., Han JM at al** (2014). The anti-inflammatory potential of Cortex Phellodendron in vivo and in vitro: down-regulation of NO and iNOS through suppression of NF- κ B and MAPK activation. The Immunopharmacol., 19(2), 214-20
10. **Xiaokun Jiang** (2014). Extraction and analgesic effects of polysaccharides from *Achyranthes bidentata* Blume. Applied Mechanics and Materials, 675-677, 1600-1603.