

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



HỒ THỊ LAN

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ
TÁC DỤNG CỦA BÀI THUỐC
“XƯƠNG KHỚP NAM THANG”
TRÊN MÔ HÌNH THỰC NGHIỆM
THOÁI HOÁ KHỚP GỐI**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2023

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



HỒ THỊ LAN

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ
TÁC DỤNG CỦA BÀI THUỐC
“XƯƠNG KHỚP NAM THANG”
TRÊN MÔ HÌNH THỰC NGHIỆM
THOÁI HOÁ KHỚP GỐI**

Chuyên ngành Y học cổ truyền

Mã số: 8720115

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

TS. Trần Thị Hồng Ngải

HÀ NỘI - 2023

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành luận văn này, tôi xin trân trọng bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới:

Đảng ủy, Ban Giám đốc, Phòng đào tạo Sau Đại học, các Bộ môn, Khoa phòng cùng các thầy cô trong Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam đã tạo điều kiện và giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và làm luận văn.

TS. Trần Thị Hồng Ngã người Cô đã trực tiếp hướng dẫn định hướng đề tài và trang bị cho tôi kiến thức chuyên ngành, sửa chữa thiếu sót trong luận văn, động viên tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu.

Đảng ủy, Ban Giám Đốc, Phòng Kế hoạch tổng hợp, các khoa phòng của Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam, Bộ môn Dược lý – Học viện Quân Y đã tạo mọi điều kiện tốt nhất cho tôi hoàn thành nghiên cứu.

Các thầy cô trong Hội đồng thông qua đề cương và Hội đồng bảo vệ luận văn Thạc sĩ của Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam, những người thầy, người cô đã cho tôi những ý kiến đóng góp quý báu trong quá trình hoàn thiện luận văn này.

Cuối cùng, tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới bố mẹ, gia đình và người thân đã luôn bên cạnh, khuyến khích tôi trong suốt quá trình học tập. Tôi xin được cảm ơn tới bạn bè đồng nghiệp đã luôn động viên, khích lệ tôi để vượt qua những khó khăn trong quá trình nghiên cứu và hoàn thành luận văn.

Tôi xin trân trọng cảm ơn!

Hà Nội, ngày 28 tháng 12 năm 2023.

Hồ Thị Lan

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là **Hồ Thị Lan**, học viên cao học khóa 14 - 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 **TS. Trần Thị Hồng Ngã**
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.
3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về những cam kết này.

Hà Nội, ngày 28 tháng 12 năm 2023

Người viết cam đoan

Hồ Thị Lan

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Tổng quan thoái hóa khớp gối theo Y học hiện đại	3
1.1.1. Định nghĩa.....	3
1.1.2. Phân loại.....	4
1.1.3. Nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh và các yếu tố liên quan	5
1.1.4. Triệu chứng lâm sàng.....	8
1.1.5. Các phương pháp thăm dò trong chẩn đoán thoái hóa khớp gối ..	10
1.1.6. Tiêu chuẩn chẩn đoán thoái hóa khớp gối	11
1.1.7. Điều trị.	11
1.2. Tổng quan thoái hóa khớp gối theo Y học cổ truyền.....	14
1.2.1. Định nghĩa.....	14
1.2.2. Nguyên nhân	14
1.2.3. Cơ chế bệnh sinh.....	15
1.2.4. Các thể lâm sàng và điều trị.....	16
1.3. Tổng quan về các mô hình thực nghiệm	20
1.3.1. Tổng quan về mô hình xác định độc tính cấp.....	20
1.3.2. Tổng quan về các mô hình thoái hóa khớp thực nghiệm.....	24
1.4. Tổng quan về bài thuốc “Xương khớp nam thang”.	28
1.4.1. Nguồn gốc, xuất xứ.....	28
1.4.2. Thành phần.....	28
1.4.3. Phân tích bài thuốc.....	28
1.5. Một vài nghiên cứu liên quan đến tác dụng điều trị thoái hóa khớp theo y học cổ truyền.....	29
1.5.1. Trên thế giới.....	29
1.5.2. Tại Việt Nam.....	30

Chương 2. CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN

CỨU	32
2.1. Chất liệu nghiên cứu	32
2.1.1. Thuốc nghiên cứu.....	32
2.1.2. Thuốc và hóa chất sử dụng trong nghiên cứu	33
2.1.3. Thuốc tham chiếu.....	33
2.1.4. Trang thiết bị sử dụng trong nghiên cứu.....	33
2.2. Đối tượng nghiên cứu.....	33
2.3. Thời gian và địa điểm tiến hành nghiên cứu.....	34
2.4. Phương pháp nghiên cứu.....	34
2.4.1. Độc tính cấp	34
2.4.2. Mô hình gây thoái hoá khớp	36
2.5. Phương pháp xử lý và phân tích số liệu	42
2.6. Sai số và biện pháp khắc phục sai số	42
2.7. Đạo đức trong nghiên cứu	42
Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	44
3.1. Độc tính cấp của dịch chiết “Xương khớp nam thang”	44
3.1.1. Kết quả thử nghiệm sơ bộ.....	44
3.1.2. Kết quả thử nghiệm chính thức.....	45
3.2. Đánh giá tác dụng điều trị thoái hóa khớp gối khi dùng dịch chiết “Xương khớp nam thang” trên mô hình thoái hóa khớp gối	46
3.2.1. Kết quả về tác dụng giảm đau của “Xương khớp nam thang” trên chuột cống trắng	47
3.2.2. Kết quả về tác dụng của “Xương khớp nam thang” trên một số chất trung gian hóa học gây viêm và mô bệnh học khớp gối trên thực nghiệm.....	51
Chương 4. BÀN LUẬN	59
4.1. Bàn luận về độc tính cấp của bài thuốc “Xương khớp nam thang” chuột nhất trắng.....	59

4.2. Bàn luận về tác dụng giảm đau, chống viêm, chống thoái hóa khớp gối của bài thuốc “Xương khớp nam thang” trên chuột cống trắng.	60
KẾT LUẬN	75
KHUYẾN NGHỊ	76
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC VIẾT TẮT

Viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
ACR	: American College of Rheumatology	Hội thấp khớp học Mỹ
AH	: Acid Hyaluronic	
BMP	: Bone Morphogenic Proteins	Protein tạo hình thái xương
CRP	: C-Reactive protein	Protein phản ứng C
ĐVTN		Động vật thực nghiệm
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay	
IGF	: Insulin-like Growth Factor	Yếu tố tăng trưởng giống Insulin
IL	: Interleukin	Cytokin miễn dịch
LD ₅₀	: Lethal dose, 50%	Liều gây chết trung bình
MIA	: Monosodiumiodoacetate	
MMP	: Matrix Metalloproteinases	Các enzyme bị kích hoạt khi tiếp xúc với tia tử ngoại hoặc các vùng bị viêm
MRI	: Magnetic Resonance Imaging	Cộng hưởng từ
MAO	: Monoamine oxidase	Chất ức chế enzyme monoamine oxidase
NSAID	: Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug	Thuốc chống viêm giảm đau non-steroid
NO	: Nitric Oxide	
NC		Nghiên cứu
PG	: Prostaglandin	
SYSADOA	: Symptomatic Slow-Acting Drugs	Thuốc chống thoái hoá tác

	for Osteoarthritis	dụng chậm
THK		Thoái hóa khớp
TGF	: Transforming growth factor	Yếu tố tăng trưởng
TNF	: Tumor Necrosis Factor	Yếu tố hoại tử u
WHO	: World Health Organization	Tổ chức y tế thế giới
\bar{X}	: Mean	Giá trị trung bình
XQ		X quang
YHHD		Y học hiện đại

DANH MỤC BẢNG

Bảng 2.1.	Thành phần cao lỏng “Xương khớp nam thang”.....	32
Bảng 2.2.	Bảng chấm điểm đánh giá mô bệnh học sụn xương khớp.....	39
Bảng 2.3.	Bảng chấm điểm đánh giá tình trạng viêm khoang mỡ Hoffa....	40
Bảng 3.1.	Kết quả đánh giá thử nghiệm thăm dò.....	44
Bảng 3.2.	Kết quả đánh giá thử nghiệm chính thức.....	45
Bảng 3.3.	Tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng của chân sau chuột ở thời điểm trước tiêm MIA và 1 tuần sau tiêm MIA.....	47
Bảng 3.4.	Sự thay đổi khả năng chịu đựng trọng lượng của chân sau chuột sau 2 tuần và 4 tuần.....	49
Bảng 3.5.	Sự thay đổi khả năng chịu đựng trọng lượng của chân sau chuột sau 6 tuần và 7 tuần.....	50
Bảng 3.6.	Sự thay đổi nồng độ PGE2 trong huyết thanh chuột.....	51
Bảng 3.7.	Sự thay đổi nồng độ TNF- α trong huyết thanh chuột.....	52
Bảng 3.8.	Sự thay đổi nồng độ IL-1 β trong huyết thanh chuột.....	53
Bảng 3.9.	Sự thay đổi nồng độ IL-6 trong huyết thanh chuột.....	54
Bảng 3.10.	Điểm đánh giá tổn thương mô bệnh học sụn xương khớp.....	57
Bảng 3.11.	Kết quả bảng chấm điểm đánh giá tình trạng viêm khoang mỡ Hoffa.....	58

DANH MỤC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 1.1.	Tóm tắt cơ chế bệnh sinh của thoái hóa khớp gối	7
Sơ đồ 2.1.	Sơ đồ nghiên cứu độc tính cấp.....	36
Sơ đồ 2.2.	Sơ đồ nghiên cứu thoái hoá khớp	41

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1.	Hình ảnh khớp gối bình thường và bị thoái hóa	3
Hình 2.1.	Minh họa vị trí tiêm khớp gối	37
Hình 3.1.	Hình ảnh mô bệnh học khớp gối sau tiêm MIA 08 tuần.....	55

ĐẶT VẤN ĐỀ

Thoái hóa khớp gối là hậu quả của quá trình cơ học và sinh học làm mất cân bằng giữa sự tổng hợp và hủy hoại của sụn và xương dưới sụn.

Trên toàn cầu có khoảng 18% nữ và 9,5% nam giới mắc bệnh thoái hóa khớp nói chung, trong đó thoái hóa khớp gối chiếm tới 15% dân số [1]. Ở Mỹ, thoái hóa khớp gối là nguyên nhân gây tàn tật cho người cao tuổi đứng thứ hai sau các bệnh lý tim mạch. Tại Việt Nam, thoái hóa khớp đứng hàng thứ ba (4,66%) trong các bệnh có tổn thương khớp, trong đó thoái hóa khớp gối chiếm 56,5% tổng số các bệnh khớp do thoái hóa cần điều trị nội trú. Tỷ lệ thoái hóa khớp tại bệnh viện Bạch Mai từ 1991 – 2000 là 4,66% số bệnh nhân điều trị nội trú tại khoa Cơ xương khớp [2].

Y học hiện đại đã có nhiều phương pháp điều trị khác nhau như sử dụng các thuốc giảm đau, thuốc chống viêm không steroid, steroid nội khớp tuy có tác dụng giảm đau hiệu quả nhưng nhóm thuốc này thường gây ra các tác dụng phụ khi sử dụng trong thời gian kéo dài như viêm loét dạ dày hành tá tràng, xuất huyết tiêu hóa, tăng huyết áp, tổn thương gan thận...[3]. Việc nghiên cứu tìm ra thuốc mới điều trị thoái hóa khớp gối, đặc biệt là thuốc có nguồn gốc từ thiên nhiên, hạn chế tác dụng không mong muốn khi sử dụng kéo dài là một điều rất ý nghĩa và cần thiết.

Theo Y học cổ truyền, thoái hóa khớp gối được quy vào chứng Tý. Nguyên nhân chủ yếu do tuổi cao, công năng tạng phủ suy giảm hoặc là nhân lúc chính khí suy giảm, tà khí thừa cơ xâm phạm mà gây bệnh. Việc điều trị bệnh thường kết hợp các phương pháp dùng thuốc và không dùng thuốc. Y học cổ truyền đã có nhiều bài thuốc với các vị dược liệu quý với tác dụng hỗ trợ điều trị thoái hóa khớp gối, làm chậm quá trình tiến triển của bệnh và đặc biệt là hạn chế các tác dụng phụ không mong muốn. Bài thuốc “Xương khớp nam thang” là sự kết hợp của 8 vị thuốc với tác dụng: Ích can thận, khu phong,

tán hàn, trừ thấp, thông kinh hoạt lạc. Tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào về cơ chế tác dụng chống viêm, chống thoái hóa khớp gối của bài thuốc này. Để có bằng chứng khoa học và làm tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: **“Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng của bài thuốc “Xương khớp nam thang” trên mô hình thực nghiệm thoái hoá khớp gối”** với hai mục tiêu:

1. *Đánh giá độc tính cấp của bài thuốc “Xương khớp nam thang” trên chuột nhắt trắng.*

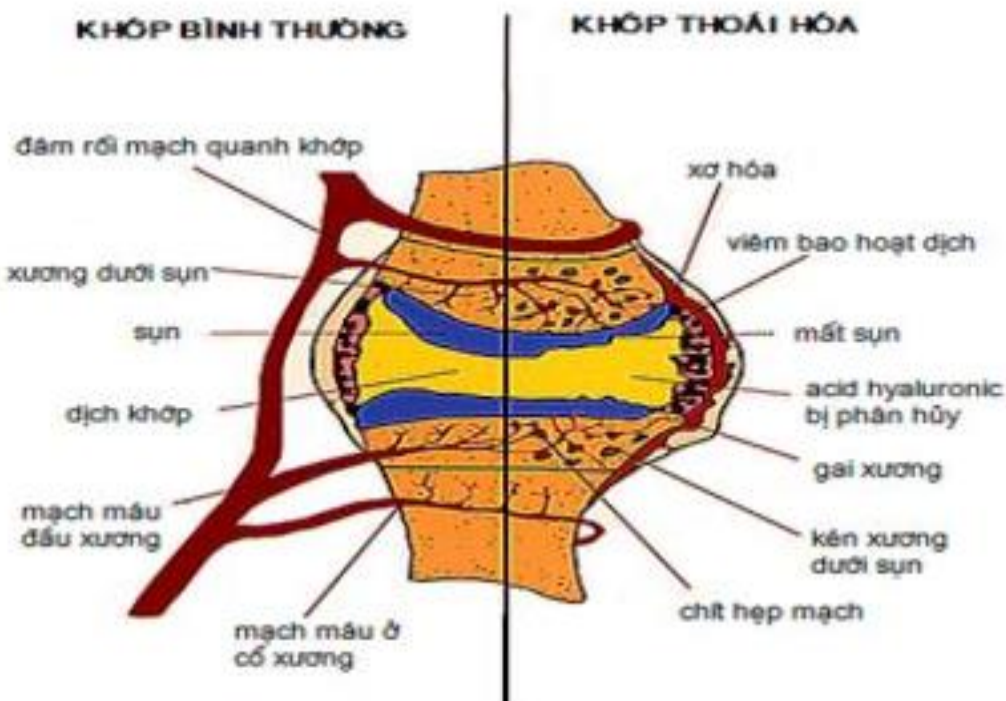
2. *Đánh giá tác dụng giảm đau, chống viêm và chống thoái hóa khớp gối của bài thuốc “Xương khớp nam thang” trên chuột cống trắng.*

Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan thoái hóa khớp gối theo Y học hiện đại

1.1.1. Định nghĩa

Thoái hóa khớp (THK) gối là hậu quả của quá trình cơ học và sinh học làm mất cân bằng giữa sự tổng hợp và hủy hoại của sụn và xương dưới sụn. Sự mất cân bằng này có thể được bắt đầu bằng nhiều yếu tố: di truyền, phát triển, chuyển hóa và chấn thương, biểu hiện cuối cùng của thoái hóa khớp là các thay đổi hình thái, sinh hóa, phân tử và cơ sinh học của tế bào và các chất cơ bản của sụn dẫn đến nhuyễn hóa, nứt loét và mất sụn khớp, xơ hóa xương dưới sụn. Bệnh thường gặp ở nữ giới, chiếm 80% trường hợp thoái hóa khớp gối [4].



Hình 1.1. Hình ảnh khớp gối bình thường và bị thoái hóa [5]

1.1.2. Phân loại

Thoái hóa khớp là tổn thương thoái hóa tiến triển chậm, nó không phải là bệnh lý của riêng sụn khớp mà của toàn bộ khớp trong đó tế bào sụn khớp là tế bào quan trọng nhất đáp ứng với sự thay đổi trong quá trình THK.

Dựa vào nguyên nhân gây bệnh người ta chia thoái hóa khớp gỏi thành hai loại: thoái hóa khớp gỏi nguyên phát và thoái hóa khớp gỏi thứ phát [4].

1.1.2.1. Thoái hóa khớp gỏi nguyên phát: Nguyên nhân chính là sự lão hoá, bệnh thường xuất hiện muộn ở người trên 60 tuổi, nhiều vị trí, tiến triển chậm, tăng dần theo tuổi. Nguyên nhân lão hóa theo tuổi được giải thích do khả năng tổng hợp các chất tạo nên sợi collagen và mucopolysacharid của tế bào sụn bị giảm sút và rối loạn, chất lượng sụn kém dần đặc biệt là tính đàn hồi và chịu lực, hơn nữa các tế bào sụn của người trưởng thành không có khả năng sinh sản và tái tạo.

Ngoài ra có thể có yếu tố di truyền, yếu tố nội tiết và chuyển hoá (mãn kinh, đái tháo đường...) có thể gia tăng tình trạng thoái hóa [4].

1.1.2.2. Thoái hóa khớp gỏi thứ phát: Phần lớn do các nguyên nhân cơ giới, gặp ở mọi lứa tuổi (thường là dưới 40 tuổi), khu trú ở một vài vị trí. Có thể gặp:

- Sau chấn thương: Gãy xương gây lệch trục, can lệch, tổn thương sụn chêm sau chấn thương hoặc sau cắt sụn chêm, các vi chấn thương liên tiếp do nghề nghiệp. Các tổn thương này dẫn đến rối loạn phân bố lực làm tổn thương sụn khớp sớm.

- Sau các bệnh lý xương sụn: Hoại tử xương, hoại tử sụn do viêm, viêm khớp dạng thấp, bệnh Goute...

- Các bệnh nội tiết (Đái tháo đường, to viển cực...), rối loạn đông máu (bệnh Hemophilie) cũng là nguyên nhân gây thoái hóa khớp gỏi thứ phát [6].

1.1.3. Nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh và các yếu tố liên quan

1.1.3.1. Nguyên nhân

Nguyên nhân thực sự của thoái hóa khớp vẫn chưa được khẳng định và còn nhiều tranh cãi, có thể là do sự mất cân bằng của quá trình tổng hợp và quá trình phá huỷ sụn khớp. Tổn thương chủ yếu của thoái hóa khớp là phá huỷ sụn khớp, tái cấu trúc xương dưới sụn và viêm màng hoạt dịch. Sự phát triển của thoái hóa khớp liên quan đến một trong hai cơ chế cơ bản kết nối với các hậu quả của sự tải “bất thường” trên sụn “bình thường” hoặc sự tải “bình thường” trên sụn “bất thường”. Quá trình lão hóa là nguyên nhân đóng góp vai trò chính cho sụn khớp “bất thường”, nhưng yếu tố di truyền ảnh hưởng đến cấu trúc và thành phần của chất nền, gây gián đoạn sự biệt hóa sụn và chức năng của sụn, có thể góp phần vào cơ chế bệnh sinh [7]. Sự tải “bình thường” trên sụn “bất thường”, hoặc bất ổn cấu trúc do một chấn thương khớp lặp đi lặp lại, là nguyên nhân chính gây thoái hóa khớp ở người trẻ tuổi [8].

1.1.3.2. Cơ chế bệnh sinh của thoái hoá khớp

Thoái hóa khớp gối là tổn thương thoái hóa tiến triển chậm, tăng dần của sụn khớp, gây ra bởi rất nhiều yếu tố khác nhau như yếu tố gen, chuyển hóa, sinh hóa và cơ sinh học kèm theo các quá trình viêm xảy ra thứ phát. Quá trình thoái hóa tác động đến cả sụn, xương màng hoạt dịch khớp trong đó tế bào sụn khớp là tế bào quan trọng nhất đáp ứng với sự thay đổi trong quá trình thoái hóa khớp.

Những thay đổi của sụn khớp và phần xương dưới sụn trong thoái hóa khớp: Trong bệnh lý thoái hóa khớp gối, sụn khớp là tổ chức chính bị tổn thương. Sụn khớp khi bị thoái hóa sẽ chuyển sang màu vàng nhạt, mất tính đàn hồi, mỏng, khô và nứt nẻ. Phần rìa xương và sụn có tân tạo xương (gai xương).

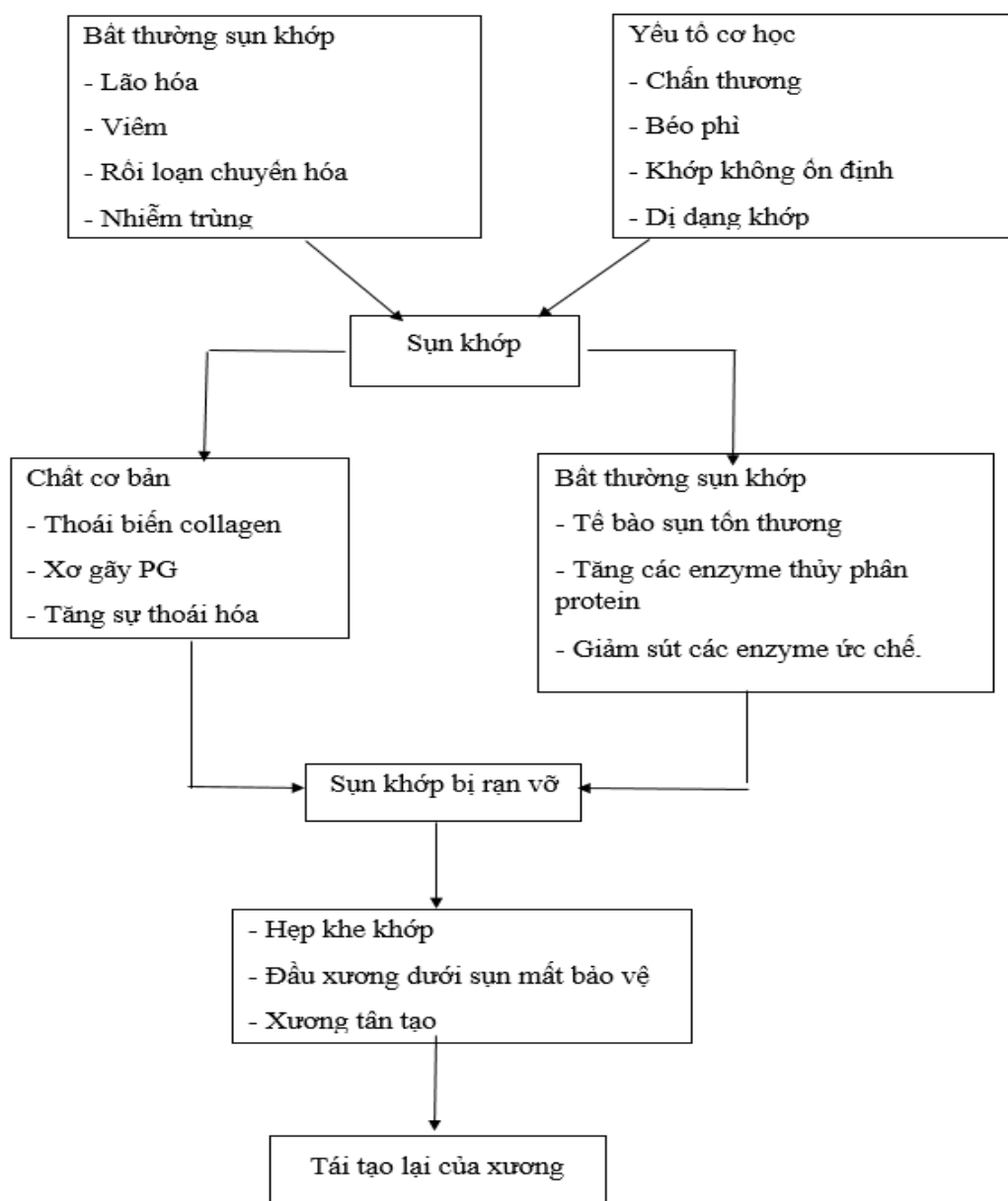
Hiện nay, có nhiều nghiên cứu cho rằng có hai cơ chế chính làm khởi phát quá trình phát triển THK gối. Cơ chế đầu tiên là do tác động về cơ giới,

có thể là một chấn thương dẫn đến các tế bào sụn giải phóng ra các enzyme phá hủy sụn. Cơ chế thứ hai là các tế bào sụn cứng lại do tăng áp lực, giải phóng các enzyme tiêu protein, hủy hoại dần các chất cơ bản là nguyên nhân dẫn đến THK.

Các yếu tố tăng trưởng IGF-1, TGF- β và BMPs tham gia vào quá trình tổng hợp chất căn bản của sụn khớp. Các cytokin như IL-4, IL-10, IL-13 và IL-1 có vai trò ức chế sản xuất hay hoạt tính của các cytokin tiền viêm trong khi các cytokin khác như IL-4, IL-6 điều hòa quá trình này [9]. Các Cytokin (chủ yếu là interleukin và yếu tố hoại tử α - TNF α), các proteinase (chủ yếu là MMPs), các chất trung gian lipid và các gốc oxy tự do đều kích thích tế bào sụn giải phóng các enzyme phân hủy sụn. Sự tiến triển của bệnh là kết quả của sự mất cân bằng giữa các cytokine tiền viêm (bao gồm interleukin [IL] - 1 α , IL-1 β , yếu tố hoại tử α (TNF α) và các cytokine chống viêm (bao gồm IL-4, IL-10, và IL-1 [10]. Nghiên cứu của tác giả Nguyễn Ngọc Châu (2012) cho thấy nồng độ IL-1 và TNF α ở bệnh nhân thoái hóa khớp gối tăng cao hơn người bình thường [11].

Một khi quá trình thoái hóa khớp được khởi phát, tiếp sau đó sẽ có một loạt các bất thường khác xảy ra, chúng bao gồm các dẫn truyền cơ học, sự tương tác qua lại giữa một loạt các protease, các yếu tố ức chế protease và các cytokine trên sụn khớp bị thoái hóa, dưới tác động của các yếu tố nguy cơ như béo phì, tuổi tác, các hormon... dẫn đến quá trình thoái hóa ở sụn, chất nền sụn khớp và các tổ chức ngoài sụn như xương dưới sụn, màng hoạt dịch.

Tóm lại, tổn thương khớp trong thoái hóa khớp là tập hợp của nhiều tổn thương trong đó tổn thương chính ở sụn khớp với sự tham gia của nhiều yếu tố như quá tải khớp, vi chấn thương, ...và các chất trung gian hóa học gây viêm.



**Sơ đồ 1.1. Tóm tắt cơ chế bệnh sinh của thoái hóa khớp gối
(Howell 1988) [12]**

1.1.3.3. Một số yếu tố nguy cơ liên quan đến thoái hoá khớp

- Tuổi: Tuổi là yếu tố quan trọng nhất trong THK, tần số THK tăng dần theo tuổi. Theo Brandt KD trên 80% những người trên 55 tuổi có dấu hiệu THK trên XQ, trong đó có 10 – 20% có sự hạn chế vận động do THK [13].

- Giới tính và hormon: hay gặp ở nữ giới, liên quan đến hormon estrogen.

- **Chủng tộc:** Tỷ lệ mắc thoái hóa khớp và tỷ lệ khớp bị thoái hóa khác nhau giữa các chủng tộc và sắc tộc [14].

- **Các bệnh lý bẩm sinh/mắc phải:** thường gặp ở khớp háng.

- **Yếu tố gen:** có mối liên quan chặt chẽ với THK bàn tay hơn là THK gối hay khớp háng.

- **Di truyền:** Sự biến đổi về di truyền cũng ảnh hưởng đến thoái hóa khớp bàn tay, khớp háng và khớp gối ở cả hai giới [15].

- **Béo phì** là một trong những yếu tố nguy cơ được nhắc đến nhiều nhất với thoái hóa khớp gối. Béo phì làm tăng tốc độ tiến triển của thoái hóa khớp gối. Cơ chế chính dẫn đến thoái hóa khớp gối của béo phì có thể do trọng lượng quá tải nén lên khớp gối, đặc biệt khi thực hiện các hoạt động chịu lực thường xuyên ở khớp gối, dẫn đến phá hủy sụn, tổn thương dây chằng và các cấu trúc hỗ trợ khác [15].

- **Thiếu hụt vitamin D và C** có thể liên quan tới tăng tỷ lệ THK.

- **Chấn thương và vi chấn thương** có vai trò quan trọng làm thay đổi bề mặt sụn, những chấn thương lớn gây gãy xương, trật khớp kèm theo tổn thương sụn hoặc phân bố lại áp lực trên bề mặt sụn khớp.

- **Yếu tố nội tiết và chuyển hoá:** bệnh to đầu chi, suy chức năng tuyến giáp, phụ nữ sau mãn kinh. Các dị tật bẩm sinh, khớp lỏng lẻo.

- **Viêm khớp nhiễm khuẩn cấp tính, hoặc mạn tính** (viêm mủ khớp, lao khớp...). **Thiếu máu, hoại tử xương. Loạn dưỡng xương, rối loạn dinh dưỡng** sau các bệnh thần kinh. **Bệnh rối loạn đông chảy máu, u máu.**

1.1.4. Triệu chứng lâm sàng

- **Đau:** Đây là triệu chứng chủ đạo khiến bệnh nhân phải đi khám, đau tại vị trí khớp, ít lan xa. Đau kiểu cơ học tăng khi vận động (đi lại, lên xuống dốc, ngồi xổm...), đau giảm khi nghỉ ngơi, đau với tính chất âm ỉ, có thể đau nhiều về chiều (sau một ngày lao động). Đau diễn tiến thành từng đợt ngắn tùy trường hợp, hết đợt có thể đau, sau đó tái phát đợt khác [6].

- Dấu hiệu “phá rí khớp”: là dấu hiệu cứng khớp buổi sáng kéo dài từ 15-30 phút [16].Cứng khớp sau khi nghỉ ngơi cũng thường gặp, bệnh nhân phải vận động một lúc mới trở lại bình thường.

- Hạn chế vận động (khó khăn với một vài động tác), đi lại khó khăn, các động tác của khớp bước lên hoặc xuống cầu thang, đang ngồi ghé đứng dậy, ngồi xổm, đi bộ lâu xuất hiện cơn đau...Một số trường hợp đau trầm trọng có thể hạn chế vận động nhiều phải chống gậy hoặc không đi lại được.

- Tiếng động bất thường tại khớp xuất hiện khi vận động: Nghe thấy tiếng “lắc rắc”, “lục cục” tại khớp khi đi lại.

- Lạc xạo xương: Lạc xạo khi cử động xảy ra do bề mặt sụn khớp mất tính trơn nhẵn, đây là dấu hiệu khá phổ biến khi thăm khám khớp gối [17].

- Dấu hiệu bào gổ: Di động bánh chè trên ròng rọc như kiểu bào gổ thấy tiếng lạc xạo, gây đau tại khớp gối.

- Một số bệnh nhân xuất hiện khớp sưng to do các gai xương và phì đại mỡ quanh khớp, tràn dịch khớp gối, thoát vị bao hoạt dịch.

Triệu chứng tại khớp:

Có thể thấy các “Ụ xương” ở quanh khớp gối. Ụ xương là các gai xương trên X quang.

Khám khớp trong đợt tiến triển thường thấy sưng: do tràn dịch hay chồi xương.

Sờ có thể thấy nóng tại khớp trong các đợt tiến triển, song triệu chứng viêm tại chỗ thường không râm rộ. Có thể có biến dạng khớp.

Tiếng lục khục khớp: các diện khớp cọ vào nhau khi cử động khớp gây ra tiếng lạc xạo, lục khục nghe thấy được hoặc cảm nhận được dưới bàn tay khi thăm khám.

Khi cử động xương bánh chè khớp gối gây cọ sát các diện khớp với nhau có thể cảm thấy tiếng lạc xạo, đôi khi có thể nghe được (dấu hiệu “bào gổ”) [18],[19].

1.1.5. Các phương pháp thăm dò trong chẩn đoán thoái hóa khớp gối

Các xét nghiệm:

Xét nghiệm tế bào máu ngoại vi và sinh hóa: Hội chứng viêm sinh học (tốc độ máu lắng, số lượng bạch cầu, CRP) bình thường, có thể tăng nhẹ trong trường hợp thoái hóa khớp có phản ứng viêm.

Xét nghiệm dịch khớp: không có hội chứng viêm, dịch khớp nghèo tế bào.

Chụp XQ khớp gối thường quy: Được sử dụng để đánh giá mức độ tổn thương và thoái hóa khớp gối trong nhiều năm nay.

Có 3 dấu hiệu cơ bản :

- Hẹp khe khớp không đồng đều, hẹp không hoàn toàn, ít khi dính khớp hoàn toàn trừ thoái hóa khớp giai đoạn cuối.

- Đặc xương ở phần đầu xương dưới sụn, phần xương đặc có thể thấy một số hốc nhỏ sáng hơn.

- Gai xương tân tạo ở phần tiếp giáp xương và sụn, gai thô, đậm đặc [20] [21].

Tiêu chuẩn chẩn đoán thoái hoá khớp của Kellgren và Lawrencen (1987):

Giai đoạn 1: Gai xương nhỏ hoặc nghi ngờ có gai xương.

Giai đoạn 2: Mọc gai xương rõ.

Giai đoạn 3: Hẹp khe khớp vừa.

Giai đoạn 4: Hẹp khe khớp nhiều kèm xơ xương dưới sụn.

Siêu âm khớp gối: đánh giá được bề dày sụn, tình trạng viêm màng hoạt dịch, tràn dịch khớp, kén khoeo chân...

Nội soi khớp gối: Là phương pháp chẩn đoán tốt nhất vì thấy được trực tiếp vị trí và những tổn thương thoái hóa của sụn khớp ở các mức độ khác nhau. Nó thường được sử dụng trong phối hợp điều trị hay để chẩn đoán ở các trường hợp sớm, khó, cần chẩn đoán phân biệt.

Cộng hưởng từ khớp gối (MRI): phương pháp này phát hiện các tổn thương sụn khớp, xương dưới sụn, phù tủy xương và các cấu trúc phần mềm xung quanh như dây chằng, màng hoạt dịch, sụn chêm.

1.1.6. Tiêu chuẩn chẩn đoán thoái hóa khớp gối

Áp dụng tiêu chuẩn chẩn đoán của Hội thấp khớp học Mỹ-ACR (American College of Rheumatology), 1991 [4].

- Có gai xương ở rìa khớp (trên Xquang).
- Dịch khớp là dịch thoái hoá.
- Tuổi trên 38.
- Cứng khớp buổi sáng dưới 30 phút.
- Có dấu hiệu lực khục khi cử động khớp.

Chẩn đoán xác định khi có yếu tố 1,2,3,4 hoặc 1,2,5 hoặc 1,4,5.

– Các dấu hiệu khác:

+ Tràn dịch khớp: đôi khi thấy ở khớp gối, do phản ứng viêm của màng hoạt dịch.

+ Biến dạng: do xuất hiện các gai xương, do lệch trục khớp hoặc thoát vị màng hoạt dịch.

1.1.7. Điều trị.

1.1.7.1. Nguyên tắc điều trị

- Giảm đau trong các đợt tiến triển.
- Phục hồi biên độ vận động của khớp, hạn chế, ngăn ngừa biến dạng khớp.
- Tránh các tác dụng không mong muốn của thuốc, lưu ý tương tác thuốc và các bệnh kết hợp ở người cao tuổi.
- Nâng cao chất lượng cuộc sống cho người bệnh [4].

1.1.7.2. Điều trị cụ thể.

* *Điều trị không dùng thuốc*

- Tư vấn giáo dục kiến thức cho bệnh nhân về thoái hóa khớp gối, kiểm soát các hậu quả tâm lý xã hội là nhiệm vụ được ưu tiên.

- Giảm cân, điều chỉnh chế độ ăn, nghỉ ngơi.

- Điều trị vật lý trị liệu: Chiếu đèn hồng ngoại, siêu âm trị liệu, điện xung trị liệu...

- Cung cấp các thiết bị trợ giúp như nẹp chỉnh hình, đai cố định khớp...

* *Điều trị thuốc*

Thuốc điều trị triệu chứng tác dụng nhanh

+ Thuốc giảm đau thông thường: Acetaminophen (paracetamol) là thuốc được sử dụng phổ biến trong điều trị giảm đau từ nhẹ đến trung bình. Theo nhiều khuyến cáo, trong đó có khuyến cáo của Hội Thấp khớp học Mỹ đã đề xuất acetaminophen là thuốc giảm đau đường uống được lựa chọn đầu tiên trong thoái hóa khớp gối [22].

Paracetamol: 1g-2g/ ngày. Đôi khi cần chỉ định các thuốc giảm đau bậc 2: Paracetamol phối hợp với Tramadol 1g-2g/ngày.

+ Thuốc chống viêm không steroid (NSAIDs): Các thuốc chống viêm không steroid (NSAIDs) có vai trò trong điều trị thoái hóa khớp ở những bệnh nhân không đáp ứng với paracetamol, đặc biệt trong những trường hợp có biểu hiện viêm màng hoạt dịch trên lâm sàng. Thuốc chống viêm không steroid có thể chỉ định trong thoái hóa khớp thể đau nhẹ mà không đáp ứng với paracetamol hoặc thoái hóa khớp đau vừa hoặc nặng. Tuy nhiên việc dùng thuốc chống viêm không steroid kéo dài có thể gây nhiều tác dụng phụ trên đường tiêu hóa, gan, thận, tim mạch.

Etoricoxia 30mg-60mg/ngày, Celecoxib 200mg/ngày, Meloxicam 7,5-15mg/ngày.

Thuốc chống viêm không steroid khác: Diclofenac 50-100mg/ngày, Piroxicam 20mg/ngày...

Thuốc bôi ngoài da: bôi tại khớp đau 2-3 lần/ ngày. Các loại gel như: Voltaren Emugel...có tác dụng giảm đau và rất ít tác dụng phụ.

+ Thuốc glucocorticoid:

Đường toàn thân: chống chỉ định.

Đường tiêm nội khớp: chỉ định trong đau khớp gối do thoái hóa không đáp ứng hoặc có chống chỉ định với thuốc chống viêm không steroid. Một số tác dụng không mong muốn có thể gặp như: đau tăng sau tiêm, viêm màng hoạt dịch vi tinh thể, tràn máu khớp gối, nhiễm khuẩn khớp, mất sụn khớp. Theo Hội thấp học Châu Âu (EULAR) 2003, cần thận trọng khi tiêm quá thường xuyên và không nên tiêm lặp lại quá 4 lần trong một năm [23].

+ Hydrocortison acetat: Mỗi đợt tiêm cách nhau 5-7 ngày, không vượt quá 3 mũi tiêm mỗi đợt. Không tiêm quá 3 đợt trong một năm.

+ Các chế phẩm chậm: Methylprednisolon, Betamethasone dipropionate tiêm mỗi mũi cách nhau 6-8 tuần. Không tiêm quá 3 đợt một năm vì thuốc gây tổn thương sụn khớp nếu dùng quá liều.

+ Acid hyaluronic (AH) dưới dạng hyaluronate: 1 ống/1 tuần x 3-5 tuần liên.

Thuốc điều trị triệu chứng tác dụng chậm

+ Các thuốc chống thoái hóa khớp tác dụng chậm (SYSADOA – Symptomatic Slow Acting Drugs for OA): Thuốc chống thoái hóa tác dụng chậm bao gồm Glucosamine sulfat, Diacerein, Chondroitin và các chất không xà phòng hóa của quả bơ và đậu nành. Nhóm thuốc này đặc trưng bởi hiệu quả giảm đau triệu chứng xuất hiện muộn (trung bình 1-2 tháng sau khi sử dụng) và được duy trì cả sau khi ngừng điều trị (sau vài tuần đến 2-3 tháng).

Liều sử dụng glucosamine sunphat là 1500 mg, chondroitin 1200 mg và diacerein 100 mg mỗi ngày [19].

+ Hyaluronic Acid (HA) có tác dụng bao phủ và bôi trơn bề mặt sụn khớp, ngăn cản sự mất proteoglycan, gián tiếp làm tăng cường chế tiết ra hyaluronic tự do, tự nhiên hoặc hyaluro hóa bởi các tế bào màng hoạt dịch.

Liều lượng: Tiêm khớp gối với liều trình 1 ống/gối/tuần trong 3-5 tuần liên.

Huyết tương giàu tiểu cầu: Liệu pháp huyết tương giàu tiểu cầu tự thân tiêm nội khớp là một biện pháp mới trong điều trị thoái hóa khớp.

Liệu pháp tế bào gốc mô mỡ: Phương pháp này hiện đang được áp dụng trong điều trị THK gối, là sự phát triển tiềm năng thay thế cho việc thay khớp nhân tạo trong điều trị thoái hóa khớp gối.

** Điều trị ngoại khoa*

Được chỉ định khi điều trị nội khoa thất bại

- Điều trị khớp dưới nội soi: bao gồm nội soi rửa khớp đơn thuần, nội soi cắt lọc tổ chức tổn thương, nội soi khớp có bào khớp thường được chỉ định khi không đáp ứng với điều trị nội khoa. Ngoài ra, qua nội soi khớp, có thể khoan các lỗ nhỏ qua bề mặt sụn thoái hóa sâu xuống vùng dưới xương để tăng tưới máu tại chỗ, nhờ vậy bề mặt sụn bị thoái hóa có thể được phủ bởi sụn mới tạo thành.

- Phẫu thuật thay khớp nhân tạo: bao gồm thay khớp gối một phần hay toàn bộ chỉ định trong những trường hợp thoái hóa khớp gối nặng, thất bại với các điều trị nội khoa bảo tồn và cả nội soi khớp, có giới hạn chức năng khớp gối rõ rệt trong vận động hàng ngày [18].

1.2. Tổng quan thoái hóa khớp gối theo Y học cổ truyền

1.2.1. Định nghĩa

Theo Y học cổ truyền thoái hóa khớp gối được mô tả trong chứng tý với bệnh danh là Hạc tất phong [24],[25].

1.2.2. Nguyên nhân

1.2.2.1. *Do ngoại nhân*: chủ yếu là do phong, hàn, thấp gây ra chứng tý: “phong, hàn, thấp ba thứ khí kết hợp gây ra chứng tý” (Tổ Ván, chương Tý luận). Ngoài ra còn do lục dâm gây bệnh. Theo Nội kinh thì “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”.

Trong ba khí đó, nếu Phong khí thắng thời là Hành Tý (Phong Tý), Hàn khí thắng thời là Thống tý (Hàn Tý), Thấp khí thắng thời là Trước tý (Thấp tý).

1.2.2.2. Do nội thương: Nguyên nhân gây bệnh của chứng Tý là do vệ khí dinh huyết không điều hòa. Trong Tố Vấn, chương Tý luận có viết: “Vệ khí dinh huyết nghịch thì gây bệnh, khí thuận thì khỏi bệnh” [24],[25].

Do nguyên khí suy yếu, hoặc có sẵn khí huyết hư suy, hoặc do bị bệnh lâu ngày làm tổn thương khí huyết hoặc tuổi già thiên quý hư suy, công năng tạng phủ suy giảm, Can Thận hư, tà khí thừa cơ xâm phạm gây bệnh. Như mục Chư Tý Môn sách Tế sinh phương viết: “Do thể trạng yếu, tấu lý sơ hở khiến cho nhiễm phải tà khí phong hàn thấp mà hình thành chứng Tý” [24],[25].

1.2.2.3. Do bất nội ngoại nhân: Chứng Tý hay gặp ở những người làm việc hoặc sống ở nơi khí hậu lạnh ẩm thấp. Sách Tố Vấn cho rằng ngoài nguyên nhân ngoại nhân và nội nhân thì ẩm thực thất điều, lao động quá độ, thói quen sinh hoạt không điều độ cũng là những điều kiện thuận lợi gây ra chứng Tý. Ngoài ra đàm trọc, ứ huyết cũng là nguyên nhân gây ra chứng Tý, do ăn uống không điều độ, lâu ngày làm cho tỳ vị mất chức năng vận hoá thuỷ cốc, làm cho thuỷ thấp đình trệ lại, thấp sinh đàm hoặc sau sang chân dẫn đến ứ huyết, đàm ứ gây tắc trở kinh lạc làm cho khí huyết vận hành không thông, cơ nhục, cân mạch không được nhu dưỡng, công năng phòng vệ kém, phong hàn tà thừa cơ xâm nhập sinh ra chứng Tý.

1.2.3. Cơ chế bệnh sinh

Trên cơ sở cơ thể đã có sẵn khí huyết hư suy, hoặc bệnh lâu ngày làm tổn thương khí huyết hoặc tuổi già thiên quý hư suy ảnh hưởng đến công năng tạng phủ làm cho can thận hư, tà khí phong hàn thấp thừa cơ xâm nhập mà

gây nên bệnh. Hoặc là phong hàn thấp tà uất lâu hóa nhiệt, hoặc kinh lạc có tích nhiệt, lại có phong hàn thấp tà xâm nhập gặp nguyên khí hư suy mà sinh bệnh. Như sách Kim quỹ yếu lược viết: “Tạng phủ kinh lạc vốn bị tích nhiệt, lại bị tà khí phong hàn thấp ứ nấu, nhiệt bị hàn uất, khí không lưu thông lâu ngày, hàn uất cũng hóa nhiệt thì lại càng đau nhức âm ỉ khó chịu” [26].

1.2.4. Các thể lâm sàng và điều trị

1.2.4.1. Thể phong hàn thấp tý

- **Triệu chứng:**

Sau khi nhiễm ngoại tà (phong, hàn, thấp) xuất hiện đau, sưng nề, không nóng đỏ, hạn chế vận động khớp gối một hoặc hai bên, trời lạnh ẩm đau tăng, chườm ấm đỡ đau, kèm sợ lạnh, sợ gió, không sốt, rêu lưỡi trắng nhớt. Mạch phù hoãn [27],[24].

- **Chẩn đoán:**

+ Chẩn đoán bát cương: Biểu, thực, hàn.

+ Chẩn đoán kinh lạc: Bệnh tại khớp, gân, cơ, kinh lạc.

+ Chẩn đoán nguyên nhân: Ngoại nhân (phong, hàn, thấp).

- **Pháp:** Trừ thấp, khu phong, tán hàn, chỉ thống.

- **Phương:**

- Nếu do phong là chính gọi là phong tý (hành tý):

Triệu chứng: Các khớp đau di chuyển, co duỗi khó, sợ gió, rêu lưỡi trắng mỏng, mạch phù.

Pháp điều trị: Khu phong là chính, tán hàn, hành khí hoạt huyết, trừ thấp

Bài thuốc: Phòng phong thang (Tuyên minh luận phương)

Phòng phong	12g	Hạnh nhân	10g
Đương quy	12g	Cam thảo	08g
Tần giao	04g	Cát căn	10g
Quế chi	06g	Ma hoàng	12g
Bạch linh	12g	Hoàng cầm	09g

Cách dùng: Tất cả các vị thuốc làm thành thang, sắc uống ngày 1 thang, uống chia 2 lần sau ăn.

- Nếu do thấp là chính gọi là thấp tý (trước tý):

Triệu chứng: Các khớp nhức mỏi, đau một chỗ, tê bì, đau các cơ, bệnh lâu ngày, vận động khó, miệng nhạt, rêu lưỡi trắng dính, mạch nhu hoãn, người nặng nề, mệt mỏi.

Pháp điều trị: Trừ thấp là chính, tán hàn khu phong, hành khí hoạt huyết.

Dùng bài Ý dĩ nhân thang

Ý dĩ	30g	Bạch truật	08g
Bạch thược	08g	Đương qui	12g
Quế chi	10g	Ma hoàng	06g
Cam thảo	04g	Sinhkhương	06g

Sắc uống ngày 1 thang, chia 2 lần khi thuốc còn ấm.

- Nếu do hàn là chính gọi là hàn tý (thống tý):

Triệu chứng: Đau dữ dội một khớp, trời lạnh đau tăng, chườm nóng đỡ đau, tay chân lạnh, sợ lạnh, rêu lưỡi trắng mỏng, mạch huyền khẩn hoặc nhu hoãn.

Pháp điều trị: Tán hàn là chính, khu phong, trừ thấp, hành khí hoạt huyết.

Dùng bài Ô đầu thang:

Hắc phụ tử	30g	Ma hoàng	08g
Bạch thược	12g	Hoàng kỳ	20g
Cam thảo	04g	Mật ong	80g

Sắc uống ngày 1 thang, chia 2 lần uống ấm.

1.2.4.2. *Thể phong hàn thấp tý kèm can thận hư*

• *Triệu chứng:*

Bệnh nhân đau mỏi khớp gối từ lâu, vận động co duỗi khó khăn, có thể biến dạng khớp. Sau khi nhiễm phải ngoại tà (phong, hàn, thấp) xuất hiện đau

tăng lên, khớp gối sưng nề, không nóng đỏ, hạn chế vận động khớp gối một hoặc hai bên, kèm đau mỗi lưng gối, ù tai, ngủ kém, râu lưỡi trắng nhợt. Mạch trầm hoãn [27],[24].

- *Chẩn đoán:*

- Chẩn đoán bát cương: Biểu lý tương kiêm, hư trung hiệp thực, hàn.

- Chẩn đoán tạng phủ/kinh lạc: Can thận hư/Bệnh tại khớp, cân, cơ, kinh lạc.

- Chẩn đoán nguyên nhân: Ngoại nhân (phong, hàn, thấp), bất nội ngoại nhân (nội thương).

- *Pháp:* Khu phong, tán hàn, trừ thấp, chỉ thông, bổ can thận

- *Phương:*

- * *Điều trị bằng thuốc*

- *Cổ phương:* Dùng bài Độc hoạt tang ký sinh thang

Độc hoạt	10g	Tang ký sinh	16g
Phòng phong	12g	Tần giao	12g
Đương qui	12g	Quế tâm	04g
Tế tân	06g	Phục linh	12g
Xuyên khung	18g	Xích thược	12g
Cam thảo	06g	Thục địa	12g
Ngưu tất	12g	Đỗ trọng	12g
Đảng sâm	12g		

Sắc uống ngày 1 thang, chia 2 lần.

+ Hoặc dùng bài Tam tỳ thang: Là bài Độc hoạt tang ký sinh thang gia thêm Hoàng kỳ, Tục đoạn.

1.2.4.3. *Thể phong thấp nhiệt tý kèm can thận hư*

- *Triệu chứng:*

Người bệnh đau mỗi khớp gối từ lâu, vận động co duỗi khó khăn, có thể có biến dạng khớp. Đợt này xuất hiện sưng, đau, nóng hoặc đỏ, một hoặc

khớp gối hai bên, đau cự án. Thường kèm theo phát sốt, sợ gió, miệng khô khát, phiền táo bứt rứt không yên. Tiểu vàng lượng ít, lưỡi đỏ, rêu vàng bản. Mạch hoạt sắc [27],[24].

• *Chẩn đoán:*

- Chẩn đoán bát cương: Biểu lý tương kiêm, hư trung hiệp thực, nhiệt.

- Chẩn đoán tạng phủ/kinh lạc: Can thận hư/bệnh tại khớp, cân, cơ, kinh lạc.

- Chẩn đoán nguyên nhân: Bất nội ngoại nhân (nội thương), ngoại nhân (phong, thấp, nhiệt).

• *Pháp:* Thanh nhiệt, khu phong, trừ thấp, chỉ thống, bổ can thận

• *Phương:*

* *Điều trị bằng thuốc*

- *Cổ phương:*

+ Dùng bài Ý dĩ nhân thang hợp với bài Nhị diệu tán

Ý dĩ nhân	12g	Qué chi	06g
Cam thảo	06g	Thược dược	06g
Ma hoàng	06g	Hoàng bá	12g
Bạch truật	12g	Thương truật	12g
Đương qui	12g		

Sắc uống ngày 1 thang, chia 2 lần.

Dùng bài Bạch hồ qué chi thang gia giảm (Kim quỹ yếu lược)

Sinh thạch cao	30g	Ngạnh mễ	10g
Tri mẫu	10g	Cam thảo	06g
Qué chi	04g	Ý dĩ	16g

1.3. Tổng quan về các mô hình thực nghiệm

1.3.1. Tổng quan về mô hình xác định độc tính cấp

1.3.1.1. Mô hình liều cố định

Nguyên tắc: Mô hình thử liều cố định được các nước thuộc OECD áp dụng và ban hành chính thức năm 2001 (OECD 420). Thử nghiệm được thực hiện với các mức liều xác định 5, 50, 300, 2000, 5000mg/kg hay 1,0/kg ĐVTN. Lựa chọn liều thử đầu tiên liều thử trên một nhóm 5 ĐVTN. Thử nghiệm tiếp tục cho đến khi xác định mức độ độc dựa trên đáp ứng ĐVTN chết hoặc không và các triệu chứng ngộ độc, khả năng hồi phục quan sát được. Xác định giá trị LD50 gần đúng (nếu có). Phép thử phù hợp với tất cả trường hợp cần xác định độc tính cấp.

Thử nghiệm chính thức

- Mức liều khởi đầu trong thử nghiệm chính thức được xác định từ thử nghiệm sơ bộ, thường là mức liều bắt đầu quan sát được các triệu chứng ngộ độc. Không dùng các mức liều đã gây chết trong giai đoạn thử sơ bộ để khởi đầu trong thử nghiệm chính thức.

- Số lượng ĐVTN: 5 con/mức liều (mỗi nhóm), bao gồm cả 01 con đã dùng thử ở thử nghiệm sơ bộ. Thử nghiệm sẽ dừng lại khi có đủ thông tin về các mức liều theo quy định chung. Trung bình cần khoảng 3-4 nhóm động vật, số nhóm mà mức liều thử có thể ít hơn nếu mẫu thử biểu hiện độc tính rõ ràng hoặc không độc.

- Khoảng thời gian nghỉ giữa các đợt thử ở mức liều khác nhau phải đủ để kết luận ĐVTN dùng nhóm liều trước đó sống sót, thường từ 3-4 ngày. Khoảng thời gian này có thể điều chỉnh cho phù hợp với các trường hợp thí nghiệm.

- Trường hợp mẫu có độc tính cao: khi có 01 ĐVTN dùng liều 5mg/kg bị chết, thử lại trên con vật thứ 2 với mức liều này.

+ Nếu con thứ 2 chết, dừng thử nghiệm, phân loại chất này vào nhóm 1 của GSH.

+ Nếu con thứ 2 còn sống, thử lần lượt thêm nhiều nhất 3 con nữa cùng mức liều 5mg/kg.

+ Nếu có thêm 01 con nữa chết, dừng thí nghiệm (không kể số lượng ĐVTN đã dùng là bao nhiêu), phân loại chất đó vào loại 1 của GSH, nếu không có thêm con nào chết, phân loại chất đó vào loại 2 của GSH.

- Trường hợp mẫu có độc tính thấp hoặc không độc: tiến hành thử với các mức liều tăng dần để xác định được các thông tin và tăng với mức liều giới hạn.

Ghi chép và báo cáo các biểu hiện quan sát được theo quy định chung. Tùy kết quả thử nghiệm và bảng phân loại GSH để xếp loại mức độ độc của mẫu thử.

- Thử giới hạn: Khi những thông tin từ các tài liệu, báo cáo đã có và kết quả thử sơ bộ cho phép dự đoán mẫu thử có thể không độc, có nghĩa là chỉ có thể gây độc ở mức liều cao hơn mức liều giới hạn thử thông thường, có thể thực hiện phép thử giới hạn. Tiến hành thử trên lần lượt 5 con vật dùng mẫu thử ở mức liều giới hạn 5,0kg hoặc 10,0g/kg (có thể bao gồm cả 1 con đã thử sơ bộ). Dừng thí nghiệm nếu không quan sát thấy biểu hiện ngộ độc nào ở mức liều này [28].

1.3.1.2. Mô hình Tăng - Giảm

Nguyên tắc: Mô hình thử Tăng - Giảm được các nước thuộc OECD (Organization for Economic Co-operation and Development - Tổ chức Hợp tác và Phát triển kinh tế) áp dụng và ban hành chính thức năm 2001 (OECD 425). Thử nghiệm được tiến hành trên các mức liều được tính theo hệ số bước nhảy liều, thực hiện lần lượt trên từng ĐVTN theo tiến trình tăng hoặc giảm liều và tiếp tục cho đến khi đạt điều kiện dừng lại. Đánh giá kết quả bằng

quan sát các biểu hiện và triệu chứng ngộ độc theo quy định chung và tính giá trị LD50 gần đúng (nếu có) theo quy định riêng của phương pháp.

Phương pháp này áp dụng phù hợp cho các chất có thể gây chết nhanh trong 1-2 ngày không phù hợp cho các chất gây chết từ từ trong 5 ngày hoặc hơn. Ngoài ra, có thể áp dụng phương pháp này trong trường hợp cần thử trên loài động vật không gặm nhấm.

Thử nghiệm chính thức:

- Xác định mức liều thử: các mức liều thử được chọn với hệ số bước nhảy liều là giá trị antilog của 1/độ dốc ước tính (của đường cong liều - đáp ứng). Liều khởi đầu là mức liều thấp hơn gần nhất với mức liều LD50 ước tính. Tùy theo mức độ độc dự đoán mà lựa chọn mức liều khởi đầu và cấp số liều với giá trị độ dốc nhỏ; ngược lại, với chất có độc cao, chọn giá trị độ dốc lớn. Khi không có thông tin về liều gây chết của mẫu thử, mức liều khởi đầu thường chọn 175mg/kg bước nhảy liều chọn ứng với giá trị độ dốc là 2 (tức là hệ số bước nhảy liều là 3,2).

- Khoảng thời gian nghỉ giữa các mức liều phải đủ để kết luận ĐVTN dùng nhóm liều trước đó sống sót, thường là 48 giờ, có thể thay đổi tùy trường hợp.

- Tiến hành thử nghiệm trên từng con vật theo các mức liều đã xác định trong khoảng thời gian đủ để quan sát và xác định tình trạng sống/chết của con vật. Quan sát và ghi chép những thông tin theo quy định chung.

- Dừng thử nghiệm khi thỏa mãn một trong các điều kiện sau:

+ 3 ĐTVN liên tiếp sống sót ở mức liều giới hạn trên (2,0/g; 5,0/g hoặc 10g/kg).

+ Có 5 cặp đảo ngược trong 6 ĐVTN đã thử liên tiếp.

+ Có ít nhất 4 ĐVTN được thử sau khi xuất hiện cặp đảo ngược đầu tiên và giá trị tỷ lệ li tính được vượt qua giới hạn cho phép.

- Quan sát và ghi chép tất cả những biểu hiện ngộ độc có thể quan sát được. Tính giá trị LD50 gần đúng theo kết quả quan sát được về tình trạng của các con vật tại thời điểm dừng.

Thử nghiệm giới hạn: Khi người làm thí nghiệm có thông tin cho thấy mẫu thử có thể không độc, tức là chỉ có thể gây độc ở mức liều cao hơn giới hạn thử thông thường thì có thể áp dụng thử nghiệm giới hạn. Thử nghiệm giới hạn ở một trong các mức liều 2,0g/kg hoặc 5,0g/kg hoặc 10g/kg (với các thuốc có nguồn gốc thực vật).

Tiến hành theo các bước như sau:

- Cho con thử nhất uống mẫu thử ở mức liều giới hạn đã chọn. Nếu con đó chết thì tiến hành thử nghiệm chính thức để xác định LD50.

- Nếu con đó sống sót, cho lần lượt 4 con nữa dùng mẫu thử.

- Nếu có 3 con chết thì dừng thử nghiệm giới hạn, tiến hành thử nghiệm chính thức theo nguyên tắc giảm liều. Trong trường hợp này, LD50 nhỏ hơn mức liều giới hạn.

- Nếu có ít nhất 3 con sống thì LD50 lớn hơn mức liều giới hạn đã thử, dừng thử nghiệm và theo dõi tiếp cho đủ thời gian quy định hoặc tiến hành thử nghiệm chính thức ở các mức liều cao hơn để tính được giá trị LD50 nếu thấy cần thiết hoặc giảm để xác định mức liều không gây triệu chứng ngộ độc gì [28].

1.3.1.3. Mô hình thử theo Behrens

Nguyên tắc: Mô hình được Behrens đề xuất từ năm 1929 với lập luận “Những con vật đã sống ở một mức liều thử nào đó thì sẽ sống với tất cả những mức liều thấp hơn và những con vật đã chết ở một mức liều sẽ chết ở tất cả các mức liều cao hơn”.

Tiến hành: Thí nghiệm được bố trí với các nhóm động vật, mỗi nhóm được dùng một mức liều, khoảng cách giữa các liều thử nghiệm phải bằng

nhau và số động vật thí nghiệm trong các nhóm bằng nhau. Số nhóm thử được bố trí sao cho thu được các số liệu đủ để tính kết quả, trong đó có ít nhất 1 nhóm không có ĐVTN nào bị chết, và một nhóm có tối thiểu 80% số ĐVTN bị chết, và có ít nhất 2 nhóm thử với 2 mức liều cho kết quả tương ứng giữa 2 mức liều trên.

Tính giá trị LD50 theo quy định của phương pháp [28].

1.3.1.4. Mô hình theo Litchfield - wilcoxon

Xác định độc tính cấp và LD₅₀ của thuốc thử trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon:

Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhịn ăn qua đêm. Từng lô chuột nhắt trắng, mỗi lô 10 con, được uống thuốc nghiên cứu theo liều tăng dần. Tìm liều cao nhất không gây chết chuột (0%), liều thấp nhất gây chết chuột hoàn toàn (100%) và các liều trung gian. Theo dõi tình trạng chung của chuột và số lượng chuột chết ở mỗi lô trong 72 giờ. Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD50 của thuốc thử. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng chung của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống thuốc nghiên cứu [28].

1.3.2. Tổng quan về các mô hình thoái hóa khớp thực nghiệm.

Hiện nay có hai mô hình gây thoái hóa khớp chính, là phương pháp phẫu thuật và phương pháp sử dụng hóa chất.

1.3.2.1. Mô hình tiêm monosodium iodoacetate (MIA) vào khớp gối

Mô hình thực nghiệm được sử dụng phổ biến nhất là dùng chất ức chế chuyển hóa mono-iodoacetate (MIA) tiêm vào khớp gối của chuột cống.

Viêm xương khớp được gây ra thông qua một mũi tiêm iodoacetate ở khớp gối. Động vật (chuột) thường được lựa chọn do: đặc tính cấu tạo, tốc độ sinh sản cao, tuổi thọ trung bình ngắn và di truyền tương đương với con người [29]. Chuột được chia thành hai nhóm thí nghiệm dựa trên liều iodoacetate đơn chất: 0,2 mg và 1 mg. Những thay đổi về mô bệnh học ở sụn

khớp và gân xương bánh chè được kiểm tra sau 3 ngày, 1 tuần, 2 tuần, 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần sau khi tiêm iodoacetate [30].

Trong nhóm 1 mg, các kết quả giải phẫu mô bệnh học đại diện của tình trạng thoái hóa khớp đã được quan sát thấy trong phần sụn khớp của gân xương bánh chè theo thời gian. Tình trạng viêm màng hoạt dịch trong cả hai nhóm cao nhất ở thời điểm 3 ngày sau tiêm và giảm dần theo thời gian.

* Mô tả thay đổi mô bệnh học của sụn khớp trong mô hình gây thoái hóa khớp gối bằng iodoacetate 0.2mg: Bề mặt sụn khớp không bị bất thường không được phát hiện từ 3 ngày đến 4 tuần, nhưng sự bất thường nhẹ được quan sát thấy sau 8 tuần [30].

Mô tả thay đổi mô bệnh học của sụn khớp trong mô hình gây thoái hóa khớp gối bằng iodoacetate 1mg: Các thay đổi mô bệnh học xương khớp giai đoạn đầu của rung và nứt đã được quan sát thấy ở xương bánh chè sau 4 tuần. Ở tuần thứ 8 và 12, những thay đổi về xương ở giai đoạn cuối của quá trình bào mòn, bào mòn và thay thế sụn khớp thông qua mô sợi đã được phát hiện [30].

Ở chuột, mô hình monosodium iodoacetate (MIA) được thiết lập tốt, và viêm khớp phản ứng giống như viêm khớp thoái hóa ở người về mặt mô học và các hành vi liên quan đến đau [31],[32]. MIA là một chất ức chế chuyển hóa phá vỡ con đường glycolysis hiếu khí của tế bào, do đó, gây chết tế bào bằng cách ức chế hoạt động của glyceraldehyd-3-phosphate dehydrogenase trong chondrocytes [33]. MIA tiêm nội khớp dẫn đến giảm số lượng tế bào sụn và các thay đổi về mô học và hình thái khớp, tương tự như những thay đổi trong viêm khớp ở người [31]. Ngoài những thay đổi mô bệnh học ở sụn khớp, tiêm MIA nội khớp gây ra những thay đổi mô bệnh học ở màng hoạt dịch. Đây có thể được coi là mô hình lý tưởng đánh giá thoái hóa và viêm khớp gối [34].

1.3.2.2. Mô hình phẫu thuật cắt bỏ sụn khớp

Chuột được gây mê bằng isoflurane, cạo sạch lông vùng khớp gối để chuẩn bị cho phẫu thuật. Tiến hành cắt bỏ dây chằng và sụn khớp. Sau 1, 2, 3 hoặc 6 tuần, giết chuột, đồng thời cắt rời phần đầu gối và xương chày, nhuộm bằng dung dịch 0,125 % Evan's blue trong nước muối sinh lý. Khớp gối sau đó được cố định trong dung dịch formalin 10% trong 48 giờ trước khi lấy tiêu bản đọc kết quả. Mô tả tổn thương:

- 6 tuần sau khi cắt dây chằng nhưng không cắt sụn khớp, chỉ xuất hiện mất protein tối thiểu

- 1 tuần sau khi cắt dây chằng, cắt sụn khớp, có sự tái tạo sụn mới và sự tăng sinh sớm sụn ở vùng cận biên

- 2 tuần sau khi cắt dây chằng, cắt sụn khớp, có hiện tượng chảy máu kéo dài trên 2/3 bề mặt của sụn khớp và 1/3 ngoài có chảy máu nghiêm trọng; xuất hiện tình trạng loãng xương.

- 3 tuần sau khi cắt dây chằng, cắt sụn khớp, có sự thoái hóa sụn rõ rệt ở 1/3 ngoài

- 6 tuần sau khi cắt dây chằng, sụn khớp, thoái hóa sụn nghiêm trọng được quan sát thấy ở phần ngoài của xương chày và loãng xương rõ rệt kết hợp dày màng đáy [35], [36].

1.3.2.3. Phẫu thuật rút ngắn dây chằng xương bánh chè

* *Phẫu thuật rút ngắn dây chằng xương bánh chè*

- Chuột được gây mê bằng cách tiêm pentobarbital trong phúc mạc và thực hiện phẫu thuật đầu gối (phẫu thuật cắt ngắn dây chằng hoặc không).

- Dự phòng bằng kháng sinh với penicillin (150 IU/kg) được dùng trước và sau 3 ngày phẫu thuật.

- Cạo sạch lông vùng da phẫu thuật và sát trùng.

- Rạch một đường 1 cm từ xương bánh chè đến ống xương chày; sau đó dây chằng xương bánh chè được tách ra.

- Một sợi dây Kirschner có chiều dài 7 mm và đường kính 2 mm được sử dụng với chỉ khâu nylon cỡ 1-0 được đặt trên rãnh (khoảng giữa 1 mm ở hai đầu) và được chèn dưới gân bánh chè từ trung gian đến vùng bên, khâu chéo ở đầu tận cùng của gân xương bánh chè.

- Chỉ khâu sau đó được đưa vào dưới cả hai rãnh và dây chằng xương bánh chè được thắt chặt với đầu gối ở vị trí mở rộng tối đa.

- Cuối cùng, đóng da bằng chỉ khâu nylon 3-0 [37],[38].

** Phẫu thuật không rút ngắn dây chằng xương bánh chè*

Trong nhóm chuột này, dây chằng xương bánh chè vẫn còn nguyên và chỉ có một vết rạch da được thực hiện [39].

- Đường rạch dài 1 cm

- Tách gân xương bánh chè

- Dây Kirschner, dài 7 mm và đường kính 2 mm, có rãnh với chỉ khâu nylon 1-0 ở cả hai đầu ở khoảng cách 1 mm, được chèn dưới gân bánh chè từ giữa đến bên.

- Các đường khâu chéo nhau ở đầu tận cùng của gân bánh chè.

- Chỉ khâu được thông qua cả hai rãnh và dây chằng ở dây chằng xương bánh chè được thắt chặt với đầu gối ở vị trí mở rộng tối đa.

- Đóng da bằng chỉ khâu nylon 3-0.

Sau 10 tuần, tiến hành chụp X-quang và cắt lớp vi tính để đánh giá tổn thương [40].

* Hình ảnh mô học xương bánh chè sau phẫu thuật (nhuộm HE): Thay đổi cấu trúc, xuất hiện tế bào viêm và thoái hóa sụn kèm xơ hóa [41].

* Hình ảnh mô học xương bánh chè sau phẫu thuật và chịu trọng tải tại khớp (nhuộm Safranin O): Bất thuốc màu Safranin O giảm, có vết nứt ngang,

thể hiện sự bất thường trên bề mặt sụn; sưng và phì đại sụn khớp, tăng sinh mô sợi và xuất hiện các chondrocyte [41].

1.4. Tổng quan về bài thuốc “Xương khớp nam thang”.

1.4.1. Nguồn gốc, xuất xứ.

Cao lỏng “Xương khớp nam thang” là sản phẩm được chiết xuất từ bài thuốc “Xương khớp nam thang” là bài thuốc kinh nghiệm của khoa YHCT-Bệnh viện 103 chữa bệnh thoái hóa khớp. Cao lỏng được bào chế theo phương pháp chiết xuất dược liệu với nước cất, chiết nóng (100°C, 2 lần), dịch chiết được loại tạp, cô đặc sau đó cô quay đến cao 3:1.

1.4.2. Thành phần

Bài thuốc “Xương khớp nam thang” gồm 8 vị thuốc sau:

STT	Tên vị thuốc	Tên khoa học [42],[43]	Khối lượng
1	Thiên niên kiện	<i>Rhizoma Homalomenae occultae</i>	12g
2	Dây đau xương	<i>Caulis Tinosporae sinensis</i>	12g
3	Lá lốt (toàn cây)	<i>Herba Piperis lolot</i>	12g
4	Đinh lăng	<i>Radix Polysciacis</i>	12g
5	Hà thủ ô đỏ	<i>Radix Fallopieae Multiflorae</i>	12g
6	Ngưu tất nam	<i>Radix Achyranthis bidentatae</i>	10g
7	Cây xấu hổ	<i>Mimosa pudica L</i>	10g
8	Mạch môn	<i>Radix Ophiopogonis japonici</i>	10g
Tổng			90g

Các vị thuốc được sử dụng trong nghiên cứu được bào chế theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V [42].

1.4.3. Phân tích bài thuốc

Trong bài Thiên niên kiện, dây đau xương có tác dụng trừ phong thấp, cường gân cốt, thư cân hoạt lạc làm quân. Lá lốt ôn trung tán hàn, hạ khí chỉ

thống, trừ phong thấp. Đinh lăng vị ngọt, tính bình có tác dụng bổ khí, lợi sữa, giải độc. Hà thủ ô đỏ tác dụng dưỡng huyết, bổ can thận, nhuận tràng thông tiện. Ngưu tất nam hoạt huyết thông kinh, mạnh gân cốt, bổ can thận làm thân. Mạch môn dưỡng vị sinh tân dịch, nhuận phế thanh tâm làm tá. Cây xấu hổ có tác dụng trị phong thấp đau nhức, tê liệt tay chân, thông kinh hoạt lạc làm sủ.

Tác dụng: Ích can thận, khu phong, tán hàn, trừ thấp, thông kinh hoạt lạc.

Hạc tất phong thể phong hàn thấp kèm can thận hư pháp điều trị là khu phong, trừ thấp, tán hàn, chỉ thống, bổ can thận. Bài thuốc “Xương khớp nam thang” có tác dụng ích can thận, khu phong, tán hàn, trừ thấp, thông kinh hoạt lạc phù hợp với pháp điều trị của thể bệnh này.

1.5. Một vài nghiên cứu liên quan đến tác dụng điều trị thoái hóa khớp theo y học cổ truyền.

1.5.1. Trên thế giới

Cây xấu hổ: Nghiên cứu vào năm 2001 tại Đại học Ấn Độ cho thấy dịch tiết từ rễ khô của cây xấu hổ có chứa hoạt chất Minosa có khả năng chống lại nọc của rắn độc. Dịch tiết từ lá có thể hỗ trợ chống co giật được gây ra bởi Pentylentetrazol và Strychnin. Nghiên cứu tại Đại học Veracruz (Mexico) cho thấy chiết xuất từ lá khô có tác dụng chống lại dấu hiệu của trầm cảm [44]. Nghiên cứu của Đàm Bảo Trung và cộng sự cho thấy cây xấu hổ có tác dụng ức chế thần kinh trung ương, tác dụng chấn kinh, giải độc axit asenơ và tác dụng giảm đau. Ngoài ra còn có tác dụng bảo vệ gan, lợi mật [44].

Năm 2019, Hui Xiong và cộng sự đã báo cáo nghiên cứu về tác dụng của *Kuan-Jin-Teng* (Dây đau xương) trong chống viêm khớp đối với chuột bị viêm khớp do collagen bằng cách ức chế sản xuất các cytokine chống viêm và điều hòa đường truyền tín hiệu MAPK. Kết quả cho thấy, Dây đau xương có tác dụng chống viêm khớp do ức chế sản xuất các cytokine tiền

viêm như NO, TNF- α , IL-1 β , và IL-17, IL - 6 và điều chỉnh giảm con đường tín hiệu MAPK [45].

Ngưu tất có tác dụng chống viêm rõ rệt đối với giai đoạn cấp tính và mạn tính của phản ứng viêm thực nghiệm. Ngưu tất có tác dụng thúc đẩy quá trình tổng hợp protein [10]. Cây giúp bảo vệ các chức năng của tế bào chondrocytes thông qua điều chỉnh các chu trình hoạt động của tế bào. Từ đó, bảo vệ sụn khớp, cải thiện và làm chậm quá trình thoái hóa khớp [46].

1.5.2. Tại Việt Nam

Năm 2020, Nguyễn Thị Bích Hồng và cộng sự đã nghiên cứu đề tài “Đánh giá độc tính và hiệu quả điều trị của cao lỏng Ích gối khang trên bệnh nhân thoái hóa khớp gối”. Kết quả nghiên cứu trên thực nghiệm cho thấy chế phẩm có tác dụng điều trị thoái hóa khớp gối trên thực nghiệm và lâm sàng thông qua: Làm giảm đường kính khớp gối, giảm đau và cải thiện hoạt động khớp gối trên mô hình sử dụng máy đo ngưỡng đau theo phương pháp Randall Selitto và trên máy đo ngưỡng đau sử dụng kim Von frey. Làm giảm các chỉ số IL - 1 β và TNF - α . Tác dụng trên mô bệnh học cấu trúc sụn khớp: cải thiện cấu trúc sụn khớp. Trên lâm sàng thuốc làm cải thiện chỉ số VAS, giảm điểm WOMAC và cải thiện chức năng vận động khớp gối [47].

Nguyễn Thị Thanh Hà (2020) tiến hành nghiên cứu độc tính và tác dụng điều trị thoái hóa khớp gối của viên hoàn cứng TD0015 trên thực nghiệm”. Kết quả cho thấy TD0015 liều 3,6g/kg có tác dụng chống viêm cấp rõ rệt ở chuột cống trắng trên mô hình gây phù chân chuột, thể hiện ở tất cả thời điểm. TD0015 liều 2,4g/kg/ngày và liều 7,2g/kg/ngày có tác dụng chống viêm mạn tính tương đương methylprednisolon liều 10mg/kg/ngày. Tác dụng điều trị thoái hoá khớp: cải thiện cấu trúc sụn khớp, giảm các cytokine tiền viêm [48].

Đinh Thị Lam (2014) nghiên cứu trên 60 bệnh nhân thoái hóa khớp gối được điều trị bằng chế phẩm glucosamin kết hợp với thuốc uống Độc hoạt ký

sinh thang, tỷ lệ bệnh nhân có mức độ tốt sau 60 ngày điều trị đánh giá theo thang điểm Lequesne ở nhóm nghiên cứu là 26,67% [49].

Nguyễn Thị Bích (2014) tiến hành điều trị THKG bằng bài thuốc Tam tý thang kết hợp với bài tập vận động khớp gối tại khoa YHCT bệnh viện Đống Đa và bệnh viện đa khoa YHCT Hà Nội sau 60 ngày kết luận đây là một phương pháp có tác dụng tốt, dễ dàng áp dụng rộng rãi, tác dụng giảm đau và cải thiện chức năng khớp gối lâu dài, thang điểm VAS giảm từ $6,83 \pm 1,34$ xuống còn $3,21 \pm 1,14$, thang điểm Lequesne từ $14,8 \pm 2,86$ xuống còn $7,93 \pm 2,74$ [50].

Năm 2020, Đào Thế Anh và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu đề tài “Nghiên cứu tác dụng điều trị thoái hóa khớp gối của cao đặc KNC trên động vật thực nghiệm”. kết quả cho thấy Cao đặc KNC liều 0,94g cao đặc/kg/ngày và 1,88g cao đặc/kg/ngày dùng đường uống trong 7 tuần trên chuột cống trắng gây thoái hóa khớp gối bằng Monosodium iodoacetate (MIA) có tác dụng chống viêm, giảm đau, chống thoái hóa khớp gối. Thuốc làm giảm viêm thông qua làm giảm chất trung gian gây viêm PGE2 và các cytokines tiền viêm TNF- α , IL-1 β , và IL-6 trong huyết thanh chuột [51].

Chương 2.

CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu nghiên cứu

2.1.1. Thuốc nghiên cứu

Bảng 2.1. Thành phần cao lỏng “Xương khớp nam thang”.

STT	Tên vị thuốc	Tên khoa học	Khối lượng
1	Thiên niên kiện	<i>Rhizoma Homalomenae occultae</i>	12g
2	Dây đau xương	<i>Caulis Tinosporae sinensis</i>	12g
3	Lá lót (toàn cây)	<i>Herba Piperis lolot</i>	12g
4	Đình lăng	<i>Radix Polysciacis</i>	12g
5	Hà thủ ô đỏ	<i>Radix Fallopieae Multiflorae</i>	12g
6	Ngưu tất nam	<i>Radix Achyranthis bidentatae</i>	10g
7	Cây xấu hổ	<i>Mimosa pudica L</i>	10g
8	Mạch môn	<i>Radix Ophiopogonis japonici</i>	10g
Tổng			90g

Tất cả các vị thuốc trong bài thuốc đều đạt tiêu chuẩn trong Dược điển Việt Nam V và được sản xuất theo tiêu chuẩn cơ sở công ty dược phẩm Phú Tín.

Dịch chiết nước bài thuốc “Xương khớp nam thang” (XKNT) được bào chế theo phương pháp chiết xuất dược liệu với nước cất, chiết nóng (100°C, 2 lần), dịch chiết được loại tạp, cô đặc sau đó cô quay đến cao 3:1.

Liều dùng của thuốc được tính theo gam dược liệu. Tổng bài thuốc là 90g, được sử dụng trên người mỗi ngày 1 thang (90g=30ml dịch chiết). Như vậy liều dùng trên người là $90/50\text{kg}/24\text{h} = 1,8\text{g}/\text{kg}/24\text{h}$ (0,6 ml dịch chiết/kg/24h). Quy đổi ra liều trên chuột nhất trắng (hệ số quy đổi là 12) thì liều dự

kiến trên chuột nhắt trắng là 21.6g/kg/24h (7,2ml dịch chiết/kg/24h). Quy đổi ra liều trên chuột cống (hệ số 7) là 12.6g/kg/24h (4,2ml dịch chiết/ kg/24h).

2.1.2. Thuốc và hóa chất sử dụng trong nghiên cứu

- Monosodium iodoacetate (MIA) (cat. #I2512; Sigma, St. Louis, MO, USA); nước muối sinh lý (Braun, Việt Nam).

- Các kit ELISA xét nghiệm chất trung gian gây viêm PGE₂ và các cytokines tiền viêm TNF- α , IL-1 β , và IL-6 trong huyết thanh.

- Một số hóa chất khác.

2.1.3. Thuốc tham chiếu

- Indomethacin 25mg.

2.1.4. Trang thiết bị sử dụng trong nghiên cứu

- Cân phân tích Sartorius độ chính xác 0,0001g - Đức.

- Hệ thống ELISA.

- Kim cong đầu tù dùng cho chuột uống thuốc, sản xuất tại Nhật Bản.

- Ống micropipette chuyên dụng để lấy máu hóc mắt.

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

2.2. Đối tượng nghiên cứu

- Nghiên cứu độc tính cấp

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss*, cả 2 giống, 60 con, khoẻ mạnh, trọng lượng 18 – 22g do do Ban chăn nuôi - Học viện Quân y cung cấp.

- Nghiên cứu mô hình thoái hóa khớp

Chuột cống trắng trưởng thành, dòng *Wistar*, 50 con, không phân biệt giống, 9 tuần tuổi, cân nặng 180 ± 20 g do Ban chăn nuôi – Học viện Quân Y cung cấp.

Tất cả động vật thực nghiệm đều được nuôi dưỡng trong điều kiện phòng thí nghiệm ít nhất 1 tuần trước khi làm thí nghiệm, ăn thức ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu, nước (đun sôi để nguội) uống tự do. Hàng ngày theo dõi ghi chép diễn biến kết quả thí nghiệm.

2.3. Thời gian và địa điểm tiến hành nghiên cứu

- Nghiên cứu được thực hiện tại: Bộ môn Dược lý - Học viện Quân y.
- Thời gian: Từ tháng 03/2023 đến tháng 12/2023.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Độc tính cấp

2.4.1.1. Thiết kế nghiên cứu

Xác định độc tính cấp và LD₅₀ của thuốc thử trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon và hướng dẫn của WHO.

2.4.1.2. Cỡ mẫu

Mẫu nghiên cứu là 60 chuột nhắt trắng được chia làm 6 lô, mỗi lô 10 con và được uống dịch chiết “Xương khớp nam thang” với liều tăng dần.

2.4.1.3. Chỉ tiêu theo dõi

- Số chuột chết/có biểu hiện bất thường trong suốt 7 ngày và tỷ lệ chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc.
- Liều thuốc thử.
- Các chỉ số liên quan đến tình trạng chung của chuột: ăn, ngủ, vận động, bài tiết...
- Các chỉ số liên quan đến dấu hiệu nhiễm độc: nôn, co giật, kích động, bài tiết...

2.4.1.4. Công cụ sử dụng trong nghiên cứu

- Cân điện tử của Nhật, độ chính xác 0,001 gam.
- Kim đầu tù cho chuột uống thuốc.
- Cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1ml.

2.4.1.5. Phương pháp tiến hành

Chuẩn bị mẫu thử

Dịch chiết “Xương khớp nam thang” được pha loãng đến các nồng độ thích hợp, dùng để nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD₅₀ của bài thuốc “Xương khớp nam thang” trên thực nghiệm.

Chuẩn bị chuột nghiên cứu

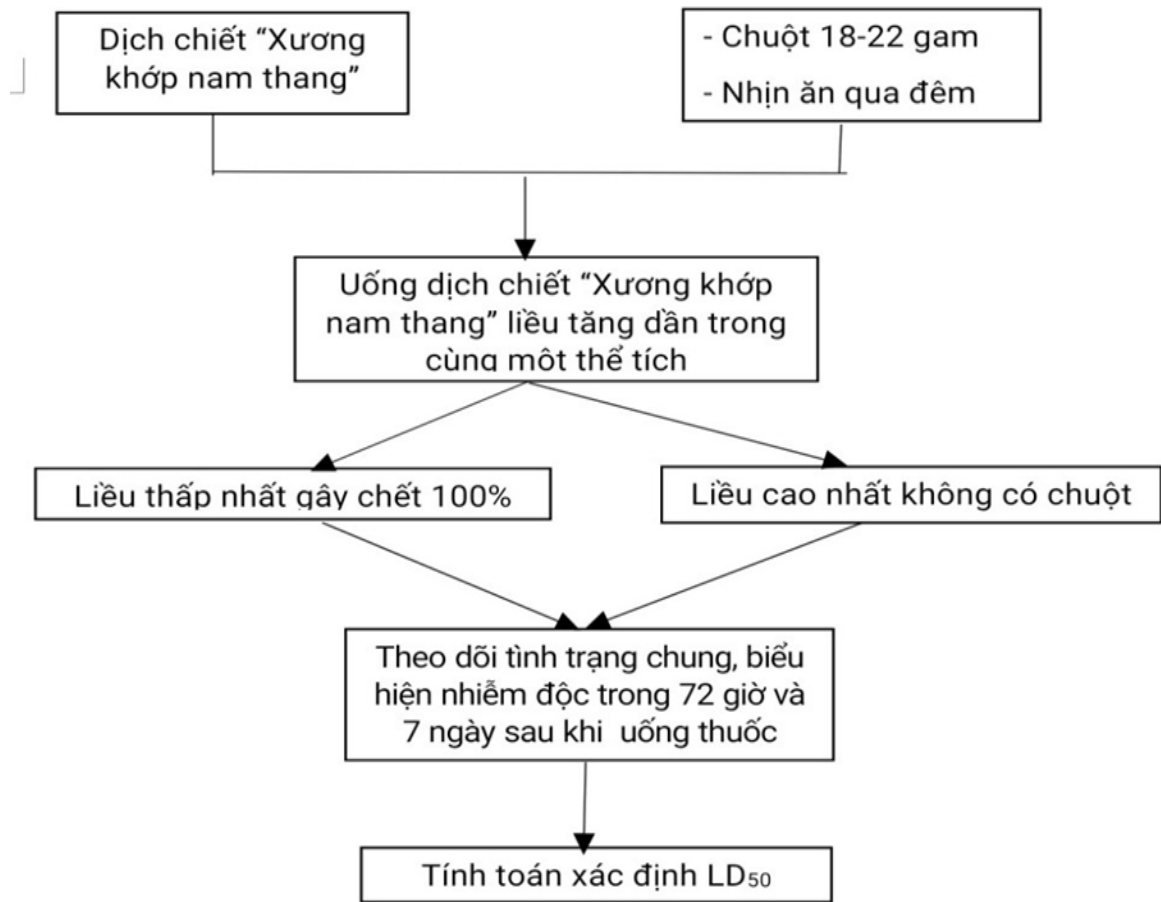
Chuột được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Sau 12 giờ nhịn ăn, chuột được uống thuốc cưỡng bức, thuốc thử được đưa thẳng vào dạ dày chuột bằng kim cong đầu tù. Cho chuột uống thuốc với thể tích 0,25ml/10g thể trọng/lần nhưng với các liều tăng dần, tối đa 3 lần/24 giờ, mỗi lần uống cách nhau ít nhất 3 giờ. Tìm liều cao nhất không gây chết chuột, liều thấp nhất gây chết 100% số chuột và các liều trung gian.

Phương pháp đánh giá kết quả

Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết...) và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc.

Tất cả chuột chết (nếu có) được mổ để đánh giá tổn thương đại thể và xác định nguyên nhân gây độc. Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD₅₀ của thuốc thử.

Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống dịch chiết “Xương khớp nam thang”.



Sơ đồ 2.1. Sơ đồ nghiên cứu độc tính cấp

2.4.2. Mô hình gây thoái hoá khớp

2.4.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu thực nghiệm, có đối chiếu với nhóm chứng.

Tiến hành nghiên cứu trên chuột cống trắng gây thoái hóa khớp gối bằng Monosodiumiodoacetate (MIA) theo phương pháp nghiên cứu của Ikufumi Takahashi và cộng sự (2018) [30].

2.4.2.2. Chọn mẫu và cỡ mẫu

Năm mươi chuột cống trắng trưởng thành sau khi nuôi 7 ngày tại phòng nuôi động vật thí nghiệm của Học viện quân y đã loại trừ những chuột không đạt tiêu chuẩn, được thực hiện mô hình thử nghiệm. Chuột được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con.

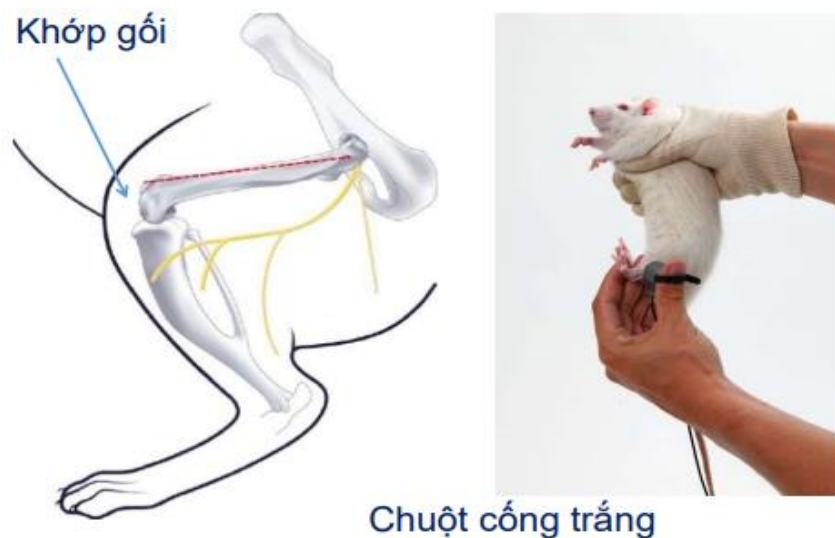
2.4.2.3. Phương pháp tiến hành

Gây mô hình thoái hóa khớp gối

Chuột cống trắng chủng *Wistar*, 9 tuần tuổi, cân nặng $180 \pm 20g$, được sử dụng cho nghiên cứu.

Quá trình gây thoái hóa khớp gối trên chuột cống như sau:

- Monosodium iodoacetate (MIA) 1,0mg được hòa tan trong 30 μ L nước muối vô trùng.
- Gây mê chuột bằng isoflurane (gây mê đường hô hấp).
- Đầu gối ở chân sau bên phải của chuột được làm sạch lông và sát trùng.
- Rạch da ở trung tâm khớp gối để bộc lộ dây chằng xương bánh chè.
- Chuột được đặt nằm ngửa, cẳng chân đặt tạo góc 90⁰ ở khớp gối.
- Sờ nắn phía dưới xương bánh chè để xác định dây chằng xương bánh chè. Dùng kim 29gauge, 0,5inch để tiêm MIA (1,0mg/30 μ L) vào khớp gối tại vị trí ở mặt trong dây chằng xương bánh chè (kim không tiến quá xa vào các dây chằng chéo).



Hình 2.1. Minh họa vị trí tiêm khớp gối [48]

Phương pháp tiến hành thử nghiệm trên chuột cống

Chuột cống trắng chủng *Wistar*, 50 con, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, được chia ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 10 con.

- Lô chứng: không gây thoái hóa, uống nước cất.
- Lô mô hình: gây thoái hóa khớp gối, uống nước cất.
- Lô trị 1: gây thoái hóa khớp gối, uống XKNT liều 12,6 g/kg/24h.
- Lô trị 2: gây thoái hóa khớp gối, uống XKNT liều 25,2 g/kg/24h.
- Lô tham chiếu: gây thoái hóa khớp gối, uống indomethacin liều 2 mg/kg/ngày.

Một tuần sau khi tiêm MIA gây thoái hóa khớp gối, các chuột bắt đầu được cho uống thuốc thử và nước cất với các mức liều khác nhau cho đến hết 8 tuần.

2.4.2.4. Phương pháp đánh giá kết quả

***Đánh giá tác dụng giảm đau, chống viêm và chống thoái hóa khớp gối của bài thuốc “Xương khớp nam thang” trên chuột cống trắng.**

Đánh giá sự thay đổi khả năng chịu đựng trọng lượng của chân sau bằng thiết bị đo chuyên dụng (Incapacitance tester), theo phương pháp được mô tả bởi S. E. Bove M.S. và SC (2003) [31].

Tính tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng} = \frac{\text{Trọng lượng trên chân sau bên phải}}{\text{Trọng lượng trên chân sau bên phải + trái}} \times 100$$

***Đánh giá tác dụng của bài thuốc “Xương khớp nam thang” trên một số chất trung gian hóa học gây viêm và mô bệnh học**

Các cytokine tiền viêm

Lấy máu, ly tâm máu 2000 vòng trong 15 phút ở 4°C, tách lấy huyết thanh để xét nghiệm chất trung gian gây viêm PGE₂ và các cytokines tiền viêm TNF-α, IL-1β, và IL-6.

*Xét nghiệm mô bệnh học khớp gối

Sau 7 tuần dùng thuốc, chuột được giết và khớp gối chân sau bên phải được cắt ra, cố định trong Formalin 10%, làm tiêu bản mô bệnh học khớp gối.

Tiến hành đánh giá sự thay đổi mô bệnh học sử dụng bảng chấm điểm đánh giá mô bệnh học sụn xương khớp theo phương pháp mô tả bởi Pritzker và cộng sự (2006) [52] (bảng 2.2) và bảng chấm điểm đánh giá tình trạng viêm khoang mỡ Hoffa (Infrapatellar fat pad) theo phương pháp mô tả bởi Udo M. và cộng sự (2016) [53] (bảng 2.3).

Bảng 2.2. Bảng chấm điểm đánh giá mô bệnh học sụn xương khớp
(theo phương pháp mô tả bởi Pritzker và cộng sự (2006) [52])

Mức độ (Grade)	Giai đoạn (Stage)			
	S1	S2	S3	S4
G1	1	2	3	4
G2	2	4	6	8
G3	3	6	9	12
G4	4	8	12	16
G5	5	10	15	20
G6	6	12	18	24

Điểm đánh giá mô bệnh học sụn xương khớp = Điểm mức độ x Điểm giai đoạn

Điểm đánh giá mô bệnh học sụn xương khớp nằm trong khoảng 0-24 điểm.

***Đánh giá về mức độ (Grade)**

G 0: sụn khớp trong suốt không liên quan đến viêm khớp, bề mặt sụn nhẵn. G 1: bề mặt còn nguyên vẹn. G 2: gián đoạn bề mặt. G 3: các vết nứt dọc kéo dài vào vùng giữa. G 4: xói mòn. G5: Sụn hyaline không được khoáng hóa bị bào mòn hoàn toàn. Bề mặt khớp là sụn hoặc xương đã khoáng hóa. Gãy xương vi mô xuyên qua tám xương có thể dẫn đến sụn xơ phục hồi

chiếm giữ các khoảng trống trên bề mặt. G6: biến dạng. Các quá trình vi gãy xương, sửa chữa và tái tạo xương làm thay đổi đường viền của bề mặt khớp.

***Đánh giá về giai đoạn (Stage)**

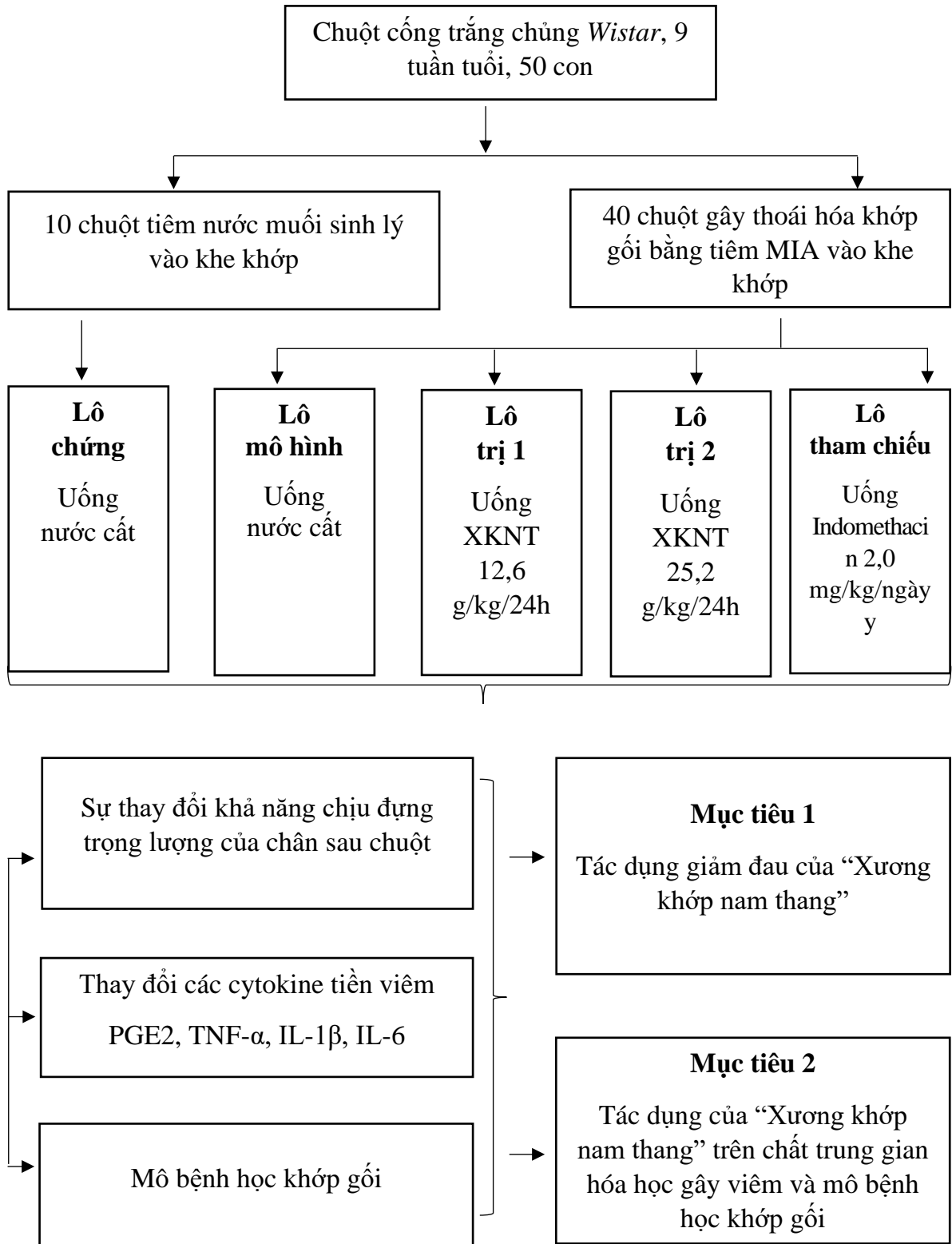
Có 4 giai đoạn viêm khớp: giai đoạn 1 thể hiện viêm dưới 10%; giai đoạn 2 viêm từ 10 đến dưới 25%; giai đoạn 3 viêm từ 25 đến dưới 50%; giai đoạn 4 viêm trên 50%.

Bảng 2.3. Bảng chấm điểm đánh giá tình trạng viêm khoang mỡ Hoffa

(theo phương pháp mô tả bởi Udo M. và cộng sự (2016) [53])

Điểm	Dấu hiệu mô học
Xâm nhập tế bào ở bề mặt của IFP	
0	Bình thường
1	Số lượng tế bào tăng lên, xuất hiện các tế bào đa nhân
2	Tế bào lót dày, thấp (<độ dày gấp 3 lần màng hoạt dịch bình thường)
3	Tế bào lót dày, cao (>dày gấp 3 lần màng hoạt dịch bình thường)
Điểm	Dấu hiệu mô học
Xơ hóa trong cơ thể của IFP	
0	Không có tổn thương xơ hóa
1	Tổn thương xơ hóa ở đệm mỡ dưới xương bánh chè, thấp
2	Tổn thương xơ hóa tăng lên, cao
3	Miếng đệm mỡ dưới xương bánh chè chứa đầy tổn thương xơ hóa và không có tế bào mỡ

Tổng điểm đánh giá nằm trong khoảng 0-6 điểm.



Sơ đồ 2.2. Sơ đồ nghiên cứu thoái hoá khớp

2.5. Phương pháp xử lý và phân tích số liệu

Các số liệu được trình bày dưới dạng Mean \pm SD. So sánh thống kê bằng test T-student, sử dụng phần mềm SPSS 20.0. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.6. Sai số và biện pháp khắc phục sai số

- Sai số các phương pháp thu thập số liệu.
- 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 đã được chuẩn hóa và có độ chính xác cao.
 - + Xử lý số liệu bằng phần mềm chuyên dụng trên máy tính.
 - + Các tiêu chuẩn và chỉ tiêu rõ ràng để đưa ra kết quả chính xác và sát với mục tiêu
 - + Lưu trữ số liệu, thông tin bằng sổ ghi chép, chụp ảnh.

2.7. 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.

Nghiên cứu 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.

Việc lựa chọn động vật thí nghiệm, điều kiện nuôi, chăm sóc và sử dụng động vật đều tuân thủ chặt chẽ theo “Hướng dẫn nội dung cơ bản thẩm định kết quả nghiên cứu tiền lâm sàng thuốc tân dược, thuốc cổ truyền, vắc xin và sinh phẩm y tế” của Bộ y tế.

Trung thực trong xử lý số liệu.

Chương 3.
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Độ tính cấp của dịch chiết “Xương khớp nam thang”

3.1.1. Kết quả thử nghiệm sơ bộ

Kết quả được trình bày ở bảng 3.1.

Bảng 3.1. Kết quả đánh giá thử nghiệm thăm dò

Chuột thí nghiệm	Liều dùng (g/kg thể trọng)	Kết quả theo dõi trong 72 giờ đầu	Kết quả theo dõi từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 7
Chuột 1	75,0	Sau uống thuốc chuột giảm vận động, ăn uống, sau khoảng 6-8h chuột nhanh chóng trở về trạng thái bình thường, đi ngoài phân bình thường, không có chuột nào chết cũng như có biểu hiện độc tính.	Các chuột hoạt động, vận động bình thường, đi ngoài phân bình thường, không có chuột nào chết cũng như có biểu hiện độc tính.
Chuột 2	150,0		
Chuột 3	300,0		

Nhận xét

Mẫu thử (dịch chiết bài thuốc “Xương khớp nam thang”) được cho chuột uống ở các mức liều 75,0g/kg; 150,0g/kg; 300,0g/kg (tính theo dược liệu khô) ở cùng thể tích 0,25mL/10g/lần x 3 lần (tức 75mL/kg).

Đánh giá tình trạng chuột trong thời gian 72h sau uống thuốc cho thấy: sau uống thuốc chuột giảm vận động, ăn uống, sau khoảng 6-8h chuột nhanh chóng trở về trạng thái bình thường, đi ngoài phân bình thường, không có chuột nào chết cũng như có biểu hiện độc tính.

Đánh giá tình trạng chuột trong thời gian 7 ngày sau uống thuốc cho thấy: các chuột hoạt động, vận động bình thường, đi ngoài phân bình thường, không có chuột nào chết cũng như có biểu hiện độc tính.

Như vậy với các mức liều cho uống, chưa thấy có chuột nào có biểu hiện độc tính. Vì vậy liều thử chính thức được chọn là ở các mức liều tương đương hoặc cao hơn so với các mức liều đã dùng trong thử nghiệm thăm dò.

3.1.2. Kết quả thử nghiệm chính thức

Kết quả được trình bày ở bảng 3.2.

Bảng 3.2. Kết quả đánh giá thử nghiệm chính thức

Lô chuột	Số chuột thí nghiệm	Liều dùng (g/kg thể trọng)	Thể tích cho uống	Số chuột sống/ chết sau 72 giờ	Số chuột sống/ chết sau 7 ngày
Lô 1	10	75,0	0,25 mL/10g x 3 lần	10/0	10/0
Lô 2	10	150,0	0,25 mL/10g x 3 lần	10/0	10/0
Lô 3	10	225,0	0,25 mL/10g x 3 lần	10/0	10/0
Lô 4	10	300,0	0,25 mL/10g x 3 lần	10/0	10/0
Lô 5	10	375,0	0,25 mL/10g x 3 lần	10/0	10/0

Nhận xét

Mẫu thử (dịch chiết bài thuốc “Xương khớp nam thang”) được cho chuột ở các lô uống với các mức liều khác nhau, ở cùng thể tích 0,25mL/10g/lần x 3 lần (tức 75mL/kg). Chuột được uống từ mức liều thấp nhất là 75,0 g/kg thể trọng cho đến mức liều cao nhất là 375,0g/kg thể trọng, các mức liều trung gian là 150,0g/kg, 225,0g/kg, 300,0g/kg (tính theo dược liệu khô).

Liều 375,0g/kg là mức liều mà ở đó dung dịch mẫu thử pha ở mức độ đậm đặc tối đa có thể cho phép thuốc qua kim thuận lợi để cho chuột uống.

Kết quả theo dõi tình trạng chuột không có chuột thí nghiệm nào bị chết sau uống thuốc 72 giờ. Ở các mức liều cho uống, ban đầu chuột giảm vận động, ăn uống, nhưng sau khoảng 6-8h chuột nhanh chóng trở về trạng thái bình thường. Các chuột đi ngoài phân bình thường, lông mượt, mắt trong, quan sát hoạt động của chuột thấy chuột bình thường.

Theo dõi tiếp các chuột cho đến hết 7 ngày (168 giờ) sau uống thuốc thấy các chuột hoạt động, ăn uống bình thường, chất thải bình thường, không có chuột nào chết.

So với liều dự kiến có tác dụng ở chuột nhắt trắng (21,6g/kg), liều 375,0g/kg cao gấp 17,36 lần. Như vậy chuột đã được cho uống đến mức liều cao gấp 17,36 lần liều dự kiến có tác dụng mà không có chuột nào chết cũng như không có biểu hiện của độc tính.

Kết quả nghiên cứu cho thấy chưa tìm thấy LD₅₀ của bài thuốc “Xương khớp nam thang” theo đường uống trên chuột nhắt trắng với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24h là 375,0g/kg thể trọng.

3.2. Đánh giá tác dụng điều trị thoái hóa khớp gối khi dùng dịch chiết “Xương khớp nam thang” trên mô hình thoái hóa khớp gối

Sau khi tiêm MIA vào khớp gối phải của chuột, không có chuột nào có dấu hiệu nhiễm trùng, sưng đầu gối hoặc chết trong thời gian thử nghiệm.

Quan sát hoạt động của chuột thấy ở lô mô hình có biểu hiện chuột giảm vận động so với ở lô chứng, được xem là biểu hiện của tình trạng đau khi vận động nên chuột ít vận động hơn.

Các lô dùng XKNT và thuốc tham chiếu indomethacin qua quan sát không thấy rõ biểu hiện giảm vận động so với ở lô chứng, chứng tỏ có sự cải thiện làm giảm đau giúp hoạt động vận động trở về tương đối bình thường so với lô chứng.

3.2.1. Kết quả về tác dụng giảm đau của “Xương khớp nam thang” trên chuột cống trắng.

Tác dụng giảm đau của mẫu nghiên cứu được đánh giá thông qua chỉ số đánh giá sự thay đổi khả năng chịu đựng trọng lượng của chân sau chuột. Kết quả được trình bày ở bảng 3.3, bảng 3.4 và bảng 3.5.

Bảng 3.3. Tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng của chân sau chuột ở thời điểm trước tiêm MIA và 1 tuần sau tiêm MIA

Lô nghiên cứu	n	Tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng (%) ($\bar{X} \pm SD$)		P _{b-a}
		Trước tiêm MIA (a)	Sau 1 tuần tiêm MIA (b)	
Lô chứng (1)	10	50,76 ± 2,54	50,68 ± 3,75	> 0,05
Lô mô hình (2)	10	50,12 ± 2,61	29,57 ± 2,96	< 0,001
Lô trị 1 (3)	10	50,25 ± 3,18	29,23 ± 4,16	< 0,001
Lô trị 2 (4)	10	50,12 ± 3,03	29,18 ± 4,24	< 0,001
Tham chiếu (5)	10	50,68 ± 2,91	29,32 ± 4,35	< 0,001
P _{2,3,4,5-1}		> 0,05	< 0,001	

Nhận xét

- Tại thời điểm ban đầu (trước khi tiêm MIA), tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng của chuột ở tất cả các lô đều dao động quanh 50 (%). Đây là trạng thái bình thường của chuột, chuột đứng cân bằng trên cả 2 chân. Kết quả này cho thấy sự đồng đều của chuột nghiên cứu. Tại thời điểm ban đầu (trước khi tiêm MIA), chuột ở các lô nghiên cứu đều ở trạng thái bình thường với tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng dao động quanh 50 (%).

- Ở lô chứng, tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng tại các thời điểm đo không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), với giá trị dao động quanh 50%. Lô chứng không tiêm MIA nên không gây viêm, thoái hóa khớp gối, không gây đau nên tại tất cả các thời điểm đo chuột đều ở trạng thái bình thường với tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng dao động quanh 50 (%).

- Tại thời điểm 1 tuần sau tiêm MIA, tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng đo được ở lô mô hình (lô 2) cũng như ở các lô có tiêm MIA vào khớp gối phải của chuột (lô 3, 4, 5) giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (không tiêm MIA) cũng như so với thời điểm trước khi tiêm MIA (XPĐ) với $p < 0,001$. Đáp ứng với đau của chuột được đánh giá thông qua tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng ở 2 chân sau của chuột. Bình thường chuột đứng cân bằng, phân phối chịu đựng trọng lượng của chuột dao động quanh 50%. Khi chuột bị đau chân phải (ở đây là khớp gối phải), phân phối chịu đựng trọng lượng dồn sang bên trái (bên không đau), giảm đi ở bên phải (bên đau), tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng của chuột giảm. Kết quả tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng ở các lô chuột có tiêm MIA vào khớp gối phải của chuột giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (không tiêm MIA) cũng như so với thời điểm trước khi tiêm MIA (XPĐ) chứng tỏ MIA tiêm vào khớp gối phải của chuột đã gây viêm, thoái hóa khớp gối từ đó gây đau khớp gối phải.

- So sánh giữa các lô tiêm MIA (lô 2, 3, 4, 5), tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng tại thời điểm sau 1 tuần tiêm MIA, là thời điểm ngay trước khi dùng thuốc giữa các lô này không có sự khác biệt ($p > 0,05$), dao động từ 29,18 % đến 29,57%. Điều này cho thấy sự ổn định của mô hình và sự tương đồng giữa các lô chuột nghiên cứu.

Bảng 3.4. Sự thay đổi khả năng chịu đựng trọng lượng của chân sau chuột sau 2 tuần và 4 tuần.

Lô nghiên cứu	n	Tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng (%) ($\bar{X} \pm SD$)			P _{c,d-b}
		Trước uống thuốc (b)	Sau 2 tuần uống thuốc (c)	Sau 4 tuần uống thuốc (d)	
Lô mô hình (2)	10	29,57 ± 2,96	30,98 ± 3,15	31,82 ± 3,24	> 0,05
Lô trị 1 (3)	10	29,23 ± 4,16	36,81 ± 3,62	40,37 ± 3,95	< 0,01
Lô trị 2 (4)	10	29,18 ± 4,24	38,26 ± 3,64	43,09 ± 4,42	< 0,01
Tham chiếu (5)	10	29,32 ± 4,35	37,42 ± 3,75	42,03 ± 4,31	< 0,01
P _{3,4,5-2}		> 0,05	< 0,01		-

Nhận xét:

- Tại thời điểm trước uống thuốc, tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng ở các lô tiêm MIA (lô 2, 3, 4, 5) không có sự khác biệt ($p > 0,05$).

- Tại thời điểm sau dùng thuốc 2 tuần và 4 tuần, tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng ở các lô dùng XKNT (lô 3, 4) và lô dùng indomethacin (lô 5) tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình cũng như so với trước dùng thuốc, với $p < 0,01$. XKNT cũng như indomethacin có tác dụng làm giảm viêm đau ở khớp gối phải của chuột nên làm tăng tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng. Ở lô mô hình, tại các thời điểm c, d có tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng tăng hơn nhưng không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) so với thời điểm a. Giai đoạn này được xem là giai đoạn tiến triển cấp tính của quá trình viêm thoái hóa khớp, biểu hiện viêm đau còn rõ rệt nên ở lô mô hình không điều trị không thấy có dấu hiệu của việc giảm cảm giác đau. XKNT và indomethacin có tác dụng làm giảm đau rõ rệt trên khớp gây viêm, thoái hóa ở giai đoạn tiến triển cấp tính, thể hiện qua chỉ tiêu làm tăng tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng đo tại thời điểm c, d so với lô mô hình cũng như so với trước dùng thuốc với $p < 0,01$.

- So sánh giữa 2 lô dùng XKNT với nhau cũng như so sánh các lô dùng XKNT với lô dùng indomethacin, tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng ở các lô này không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.5. Sự thay đổi khả năng chịu đựng trọng lượng của chân sau chuột sau 6 tuần và 7 tuần

Lô nghiên cứu	n	Tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng (%) ($\bar{X} \pm SD$)			p _{e,f-a}
		Trước uống thuốc (b)	Sau 6 tuần uống thuốc (e)	Sau 7 tuần uống thuốc (f)	
Lô mô hình (2)	10	29,57 ± 2,96	35,86 ± 3,45	37,16 ± 3,81	< 0,01
Lô trị 1 (3)	10	29,23 ± 4,16	41,83 ± 4,09	43,12 ± 4,24	< 0,001
Lô trị 2 (4)	10	29,18 ± 4,24	44,92 ± 5,01	45,33 ± 4,86	< 0,001
Tham chiếu (5)	10	29,32 ± 4,35	42,64 ± 4,73	43,98 ± 4,62	< 0,001
p _{3,4,5-2}		> 0,05	< 0,01		-

Nhận xét:

- Tại thời điểm sau dùng thuốc 6 tuần và 7 tuần, tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng ở các lô dùng XKNT (lô 3, 4) và lô dùng indomethacin (lô 5) tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p < 0,01$) cũng như so với trước dùng thuốc ($p < 0,001$). XKNT cũng như indomethacin có tác dụng làm giảm viêm đau ở khớp gối phải của chuột nên làm tăng tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng. Ở lô mô hình, các thời điểm e, f có tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng tăng hơn có ý nghĩa thống kê so với thời điểm b với $p < 0,01$. Tại các thời điểm này tiến triển viêm thoái hóa khớp chuyển sang giai đoạn tiến triển mạn tính, mức độ đau khớp giảm đi mặc dù không được điều trị. Tuy nhiên khi được điều trị bằng XKNT cũng như indomethacin, tại thời điểm e và f tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng tăng cao rõ rệt với $p < 0,001$, và tăng cao có ý nghĩa thống kê so với ở lô mô hình không điều trị ($p < 0,01$). Như vậy XKNT và indomethacin có tác dụng làm giảm đau rõ rệt trên khớp gây viêm, thoái hóa ở cả giai đoạn tiến triển mạn tính, thể hiện qua chỉ tiêu làm tăng tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng đo tại thời điểm c, d so với lô mô hình cũng như so với trước dùng thuốc với $p < 0,001$.

- So sánh giữa 2 lô dùng XKNT với nhau cũng như so sánh các lô dùng XKNT với lô dùng indomethacin, tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng ở các lô này không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2.2. Kết quả về tác dụng của “Xương khớp nam thang” trên một số chất trung gian hóa học gây viêm và mô bệnh học khớp gối trên thực nghiệm

3.2.2.1. Sự thay đổi nồng độ cytokine tiền viêm ở các lô nghiên cứu

Kết quả được trình bày ở các bảng từ bảng 3.6 đến bảng 3.9

Bảng 3.6. Sự thay đổi nồng độ PGE2 trong huyết thanh chuột

Lô nghiên cứu	n	PGE2 (pg/mL) ($\bar{X} \pm SD$)	% tăng so với lô 1	% giảm so với lô 2	p
Lô chứng (1)	10	48,96 ± 6,62	-	-	$p_{2,3,4,5-1} < 0,001$
Lô mô hình (2)	10	328,06 ± 40,15	570,06	-	
Lô trị 1 (3)	10	193,41 ± 22,46	295,04	41,04	$p_{3,4,5-2} < 0,01$
Lô trị 2 (4)	10	175,94 ± 20,31	259,35	46,37	$p_{3-4} > 0,05$
Tham chiếu (5)	10	180,85 ± 21,58	269,38	44,87	$p_{3,4,5} > 0,05$

Nhận xét:

- So với ở lô chứng, nồng độ PGE2 ở lô mô hình tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$, với % tăng là 570,06 %.

- So với lô mô hình, nồng độ PGE2 ở các lô dùng XKNT liều 12,6g/kg/24h và 25,2g/kg/24h và ở lô dùng Indomethacin 2 mg/kg/ngày đều giảm rõ (giảm so với lô mô hình là 41,04%; 46,37% và 44,87 %, tương ứng). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- So sánh giữa 2 lô dùng XKNT ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có nồng độ PGE2 giảm rõ hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh giữa 2 lô dùng XKNT với lô dùng indomethacin, nồng độ PGE2 giữa các lô khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.7. Sự thay đổi nồng độ TNF- α trong huyết thanh chuột

Lô nghiên cứu	n	TNF- α (pg/mL) ($\bar{X} \pm SD$)	% tăng so với lô 1	% giảm so với lô 2	p
Lô chứng (1)	10	20,12 \pm 1,98	-	-	p _{2,3,4,5-1} < 0,001
Lô mô hình (2)	10	59,36 \pm 6,03	195,03	-	
Lô trị 1 (3)	10	33,85 \pm 4,38	68,24	42,98	p _{3,4,5-2} < 0,01
Lô trị 2 (4)	10	30,91 \pm 3,52	53,63	47,93	p _{3,4} > 0,05
Tham chiếu (5)	10	31,37 \pm 3,71	55,91	47,15	p _{3,4,5} > 0,05

Nhận xét:

- So với ở lô chứng, nồng độ TNF- α ở lô mô hình tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$, với % tăng là 195,03%.

- So với lô mô hình, nồng độ TNF- α ở các lô dùng XKNT liều 12,6g/kg/24h và 25,2g/kg/24h và ở lô dùng Indomethacin 2 mg/kg/ngày đều giảm rõ (giảm so với lô mô hình là 42,98%; 47,93% và 47,15%, tương ứng). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- So sánh giữa 2 lô dùng XKNT ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có nồng độ TNF- α giảm rõ hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh giữa 2 lô dùng XKNT với lô dùng indomethacin, nồng độ TNF- α giữa các lô khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.8. Sự thay đổi nồng độ IL-1 β trong huyết thanh chuột

Lô nghiên cứu	n	IL-1 β (pg/mL) ($\bar{X} \pm SD$)	% tăng so với lô 1	% giảm so với lô 2	p
Lô chứng (1)	10	21,05 \pm 2,68	-	-	$p_{2,3,4,5-1} < 0,001$ $p_{3,4,5-2} < 0,01$ $p_{3,4} > 0,05$ $p_{3,4,5} > 0,05$
Lô mô hình (2)	10	81,24 \pm 9,63	285,94	-	
Lô trị 1 (3)	10	40,59 \pm 5,91	92,83	50,04	
Lô trị 2 (4)	10	37,12 \pm 5,06	76,34	54,31	
Tham chiếu (5)	10	38,61 \pm 6,18	83,42	52,47	

Nhận xét:

- So với ở lô chứng, nồng độ IL-1 β ở lô mô hình tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$, với % tăng là 285,94%.

- So với lô mô hình, nồng độ IL-1 β ở các lô dùng XKNT liều 12,6g/kg/24h và 25,2g/kg/24h và ở lô dùng Indomethacin 2 mg/kg/ngày đều giảm rõ (giảm so với lô mô hình là 50,04%; 54,31% và 52,47%, tương ứng). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- So sánh giữa 2 lô dùng XKNT ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có nồng độ IL-1 β giảm rõ hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh giữa 2 lô dùng XKNT với lô dùng indomethacin, nồng độ IL-1 β giữa các lô khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.9. Sự thay đổi nồng độ IL-6 trong huyết thanh chuột

Lô nghiên cứu	n	IL-6 (pg/mL) ($\bar{X} \pm SD$)	% tăng so với lô 1	% giảm so với lô 2	p
Lô chứng (1)	10	25,26 \pm 2,82	-	-	$p_{2,3,4,5-1} < 0,001$ $p_{3,4,5-2} < 0,01$ $p_{3-4} > 0,05$ $p_{3,4,5} > 0,05$
Lô mô hình (2)	10	59,96 \pm 6,94	137,37	-	
Lô trị 1 (3)	10	43,15 \pm 5,06	70,82	28,04	
Lô trị 2 (4)	10	41,02 \pm 4,68	62,39	31,59	
Tham chiếu (5)	10	41,63 \pm 4,75	64,81	30,57	

Nhận xét:

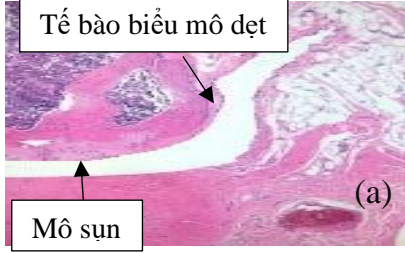
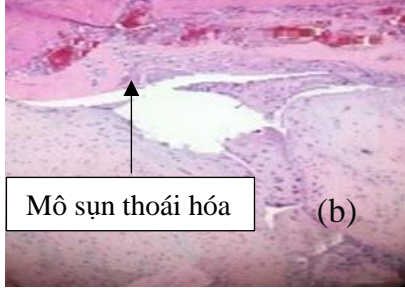


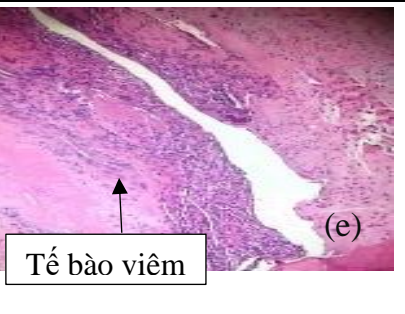
- So với ở lô chứng, nồng độ IL-6 ở lô mô hình tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$, với % tăng là 137,37%.

- So với lô mô hình, nồng độ IL-6 ở các lô dùng XKNT liều 12,6g/kg/24h và 25,2g/kg/24h và ở lô dùng Indomethacin 2 mg/kg/ngày đều giảm rõ (giảm so với lô mô hình là 28,04%; 31,59% và 30,57%, tương ứng). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- So sánh giữa 2 lô dùng XKNT ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có nồng độ IL-6 giảm rõ hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh giữa 2 lô dùng XKNT với lô dùng indomethacin, nồng độ IL-6 giữa các lô khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2.2.2. Hình ảnh mô bệnh học khớp gối ở các lô chuột nghiên cứu

	<p>Lô chứng (a). Hình ảnh mô bệnh học khớp gối bình thường (HE x 100) (C3 - lô chứng, chuột 3). Khớp gối với màng hoạt dịch mỏng được lót bởi biểu mô đẹt. Sụn khớp không bị tổn thương thoái hóa.</p>
	<p>Lô mô hình (b). Hình ảnh viêm thoái hóa khớp gối (HE x 100) (M5 - lô mô hình, chuột 5). Khớp gối với màng hoạt dịch dày, bị xâm nhiễm nhiều tế bào viêm là lympho và đại thực bào. Có nơi màng hoạt dịch bị hoại tử xơ huyết. Các mao mạch máu sung huyết. Mô sụn bị xơ hóa và thoái hóa hyalin.</p>
	<p>Lô trị 1 (c): Hình ảnh viêm tăng sinh màng hoạt dịch khớp gối (HE x 100) (T1.5 - lô trị 1, chuột 5). Khớp gối với màng hoạt dịch dày với các tế bào sợi tăng sinh, xâm nhiễm tế bào viêm là lympho và đại thực bào. Các mao mạch máu sung huyết.</p>
	<p>Lô trị 2 (d): Hình ảnh viêm tăng sinh màng hoạt dịch khớp gối (HE x 100) (T2.7 - lô trị 2, chuột 7). Khớp gối với màng hoạt dịch dày với các tế bào sợi tăng sinh, xâm nhiễm nhiều tế bào viêm là lympho và đại thực bào. Các mao mạch máu sung huyết.</p>
	<p>Lô tham chiếu (e). Hình ảnh viêm thoái hóa khớp gối (HE x 100) (TC5 - lô tham chiếu, chuột 5). Khớp gối với màng hoạt dịch dày với các tế bào sợi tăng sinh, xâm nhiễm nhiều tế bào viêm là lympho và đại thực bào. Các mao mạch máu sung huyết. Mô sụn xơ hóa, thoái hóa hyalin nhẹ.</p>

Hình 3.1. Hình ảnh mô bệnh học khớp gối sau tiêm MIA 08 tuần

(HE x 100)

Nhận xét:

- Các chuột ở lô chứng có hình ảnh mô bệnh học khớp gối bình thường, với biểu hiện: màng hoạt dịch mỏng được lót bởi biểu mô dẹt, không bị thâm nhiễm bởi các tế bào viêm; sụn khớp không bị tổn thương thoái hóa hoặc xơ hóa.

- Chuột ở lô mô hình có hình ảnh viêm thoái hóa khớp gối rõ với biểu hiện: khớp gối có màng hoạt dịch dày, bị xâm nhiễm nhiều tế bào viêm là lympho và đại thực bào; có nơi màng hoạt dịch bị hoại tử cơ huyết; các mao mạch máu sung huyết; mô sụn bị xơ hóa và thoái hóa hyalin.

- Chuột ở các lô dùng XKNT (lô trị 1, lô trị 2) vẫn còn hình ảnh màng hoạt dịch dày, xâm nhiễm tế bào viêm, xung huyết mao mạch, tuy nhiên mức độ giảm nhiều so với ở lô mô hình, và chủ yếu được chẩn đoán là viêm tăng sinh màng hoạt dịch khớp gối. Các biểu hiện hoại tử, xơ hóa, thoái hóa nhìn thấy rõ ở lô mô hình thì ở các lô dùng XKNT hầu như không có hoặc nếu có chỉ là hình ảnh mô sụn xơ hóa, thoái hóa hyalin nhẹ.

Lô dùng XKNT liều 25,2g/kg/24h có mức độ giảm tổn thương khớp gối có xu hướng tốt hơn so với lô dùng XKNT liều 12,6g/kg/24h.

- Chuột ở lô dùng indomethacin (lô tham chiếu) 2 mg/kg/ngày thấy hình ảnh viêm khớp gối (màng hoạt dịch dày, xâm nhiễm tế bào viêm, xung huyết mao mạch) giảm rõ so với lô mô hình. Vẫn thấy có hình ảnh hoại tử, xơ hóa, thoái hóa khớp nhẹ ở chuột dùng indomethacine (mặc dù có giảm so với lô mô hình).

3.2.2.3. Kết quả điểm đánh giá tổn thương mô bệnh học khớp

Kết quả được trình bày ở bảng 3.10 và 3.11

Bảng 3.10. Điểm đánh giá tổn thương mô bệnh học sụn xương khớp

Lô nghiên cứu	n	Điểm đánh giá (Mean ± SD)	% giảm so với (2)	p
Lô chứng (1)	10	0,00 ± 0,00	-	$p_{3,4,5-2} < 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$ $p_{3,4-5} > 0,05$
Lô mô hình (2)	10	18,10 ± 2,88	-	
Lô trị 1 (3)	10	13,20 ± 2,49	27,07	
Lô trị 2 (4)	10	12,90 ± 2,42	28,73	
Lô tham chiếu (5)	10	13,90 ± 2,69	23,20	

Nhận xét:

- Ở lô chứng, hình ảnh mô bệnh học khớp gỏi chuột bình thường, không có chuột nào có biểu hiện tổn thương, điểm trung bình đánh giá tổn thương mô bệnh học sụn xương khớp bằng 0.

- Ở lô mô hình, điểm trung bình đánh giá tổn thương mô bệnh học sụn xương khớp là 18,10 (mức điểm tối đa là 24).

- So với lô mô hình, điểm trung bình đánh giá tổn thương mô bệnh học sụn xương khớp ở các lô uống XKNT cũng như ở lô uống indomethacin giảm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$, tỷ lệ giảm so với lô mô hình lần lượt là 27,07%; 28,73% và 23,20%.

- So sánh giữa 2 lô dùng XKNT với nhau, cũng như so sánh 2 lô dùng XKNT với lô dùng indomethacin, điểm trung bình đánh giá tổn thương mô bệnh học sụn xương khớp của chuột ở các lô này không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.11. Kết quả bảng chấm điểm đánh giá tình trạng viêm khoang mỡ Hoffa

Lô nghiên cứu	n	Điểm đánh giá (Mean ± SD)	% giảm so với (2)	p
Lô chứng (1)	10	0,00 ± 0,00	-	$p_{3,4,5-2} < 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$ $p_{3,4,5} > 0,05$
Lô mô hình (2)	10	4,20 ± 1,14	-	
Lô trị 1 (3)	10	2,90 ± 0,99	30,95	
Lô trị 2 (4)	10	2,30 ± 0,95	45,24	
Lô tham chiếu (5)	10	3,10 ± 1,10	26,19	

Nhận xét:

- Ở lô chứng, hình ảnh mô bệnh học khớp gối chuột bình thường, không có chuột nào có biểu hiện viêm khoang mỡ Hoffa. Điểm trung bình đánh giá tình trạng viêm khoang mỡ Hoffa bằng 0.

- Ở lô mô hình, điểm trung bình đánh giá tình trạng viêm khoang mỡ Hoffa là 4,20 (mức điểm tối đa là 6).

- So với lô mô hình, điểm trung bình đánh giá tình trạng viêm khoang mỡ Hoffa ở các lô uống XKNT cũng như ở lô uống indomethacin giảm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$, tỷ lệ giảm so với lô mô hình lần lượt là 30,95%; 45,24% và 26,19%.

- So sánh giữa 2 lô dùng XKNT với nhau, cũng như so sánh 2 lô dùng XKNT với lô dùng indomethacin, điểm trung bình đánh giá tình trạng viêm khoang mỡ Hoffa của chuột ở các lô này không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Chương 4.

BÀN LUẬN

4.1. Bàn luận về độc tính cấp của bài thuốc “Xương khớp nam thang” chuột nhất trắng.

Theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới, ngoại trừ các bài thuốc cổ phương được chiết xuất theo phương pháp truyền thống, tất cả các thuốc có nguồn gốc từ dược liệu đều phải đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn trên động vật thực nghiệm trước khi đưa vào thử nghiệm trên người. “Xương khớp nam thang” là bài thuốc nghiệm phương, do đó dịch chiết bài thuốc “Xương khớp nam thang” là đối tượng cần được đánh giá về độc tính cấp.

Chuột nghiên cứu được lựa chọn bao gồm cả chuột đực và chuột cái, kết quả nghiên cứu vì thế bao hàm cho cả 2 giống. Đường đưa thuốc sử dụng là đường uống, theo đúng như đường dự kiến sử dụng trên người. Khi sử dụng đường uống, để bảo đảm cho chuột dùng được một lượng thuốc lớn với độ chính xác cao, việc đưa thuốc cưỡng bức vào dạ dày chuột qua kim cong đầu tù chuyên dụng được thực hiện. Thao tác này có thể gây tổn hại đường thực quản dạ dày gây xuất huyết hoặc thủng dạ dày, hoặc có thể đưa nhầm thuốc vào đường hô hấp gây sặc thuốc, suy hô hấp làm chuột chết. Ngoài ra thao tác bắt chuột nếu thực hiện không tốt sẽ gây tổn thương chuột, thậm chí có thể làm chết chuột. Chính vì vậy thao tác này được tiến hành bởi một kỹ thuật viên có kinh nghiệm, bảo đảm việc đưa thuốc vào dạ dày ruột với một lượng chính xác mà không gây tổn thương gì cho chuột.

Việc theo dõi đánh giá tình trạng chung của chuột, cũng như số chuột chết ở mỗi lô đòi hỏi các nghiên cứu viên có kinh nghiệm và phải theo dõi thường xuyên liên tục, tránh việc để sót các dấu hiệu bị độc. Khi tiến hành công việc theo dõi này, chúng tôi luôn phân thành ca với mỗi ca ít nhất có 2 nghiên cứu viên có kinh nghiệm, và việc theo dõi được tiến hành liên tục.

Việc phẫu tích chuột được chuẩn bị sẵn sàng để nếu có chuột chết cần phải tiến hành phẫu tích ngay nhằm đánh giá nguyên nhân gây chết chuột. Các nguyên nhân gây chết chuột có thể là do độc tính của thuốc như gây kích thích thần kinh làm chuột co giật, suy hô hấp và chết; hoặc gây suy gan, suy thận; nhưng cũng có thể do đi lỏng nhiều gây rối loạn điện giải mà chết; do tắc ruột; do tổn thương gây chảy máu trong. Trong nghiên cứu về độc tính cấp của dịch chiết bài thuốc “Xương khớp nam thang”, không có chuột nào bị chết nên không có bất kỳ các nguyên nhân nào kể trên.

Kết quả nghiên cứu độc tính cấp đường uống của dịch chiết bài thuốc “Xương khớp nam thang” trên chuột nhắt trắng cho thấy với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24h là 375g/kg thể trọng, gấp 17,36 lần liều dự kiến có tác dụng, các chuột vẫn khỏe mạnh, lông mượt, mắt trong, ăn uống và hoạt động bình thường, không có chuột nào chết.

Việc chưa tìm thấy LD₅₀ của dịch chiết bài thuốc “Xương khớp nam thang” theo đường uống trên chuột nhắt trắng với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24h là 375g/kg thể trọng, gấp 17,36 lần mức liều dự kiến có hiệu quả, cùng với việc không phát hiện thấy các biểu hiện bất thường của tình trạng bị độc khi dùng mẫu thử liều cao, chứng tỏ bài thuốc “Xương khớp nam thang” không có độc tính cấp. Đây là kết quả mong đợi, kết quả này là phù hợp vì bài thuốc có thành phần là những vị đã được viết trong Dược điển Việt Nam là không có độc và vẫn được sử dụng trên lâm sàng hàng nghìn năm để khu phong, tán hàn, trừ thấp, hoạt huyết thông lạc, bổ huyết, bổ can thận.

4.2. Bàn luận về tác dụng giảm đau, chống viêm, chống thoái hóa khớp gối của bài thuốc “Xương khớp nam thang” trên chuột cống trắng.

Việc điều trị thoái hóa khớp hiện nay chủ yếu tập trung vào điều trị chống viêm, giảm đau trong các đợt tiến triển, phục hồi chức năng vận động của khớp, hạn chế và ngăn ngừa tình trạng biến dạng khớp...Nhiều nghiên

cứu đã cho thấy các thuốc y học cổ truyền có tác dụng chống viêm tốt, là một tiêu chí quan trọng trong điều trị thoái hóa khớp.

Trong nghiên cứu của chúng tôi đã sử dụng mô hình gây thoái hoá khớp do MIA gây ra theo Ikufumi Takahashi và cộng sự, mô hình này đã được gây thành công trên nhiều loài động vật khác nhau và được nhiều tác giả trên thế giới sử dụng.

Mô hình gây thoái hóa khớp gối thực nghiệm bằng monosodiumiodoacetate MIA là mô hình điển hình có độ nhạy cao, dễ dàng tiến hành, được sử dụng phổ biến nhất và phù hợp với điều kiện thí nghiệm tại Việt Nam. Mô hình MIA dùng chất ức chế chuyển hóa MIA tiêm vào khớp gối của chuột, có tác dụng ức chế hoạt tính của glyceraldehyde-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 sản 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 xương dưới sụn, tạo ra tình trạng bệnh tương tự thoái hóa khớp trên lâm sàng [54]. Mức độ nặng của viêm khớp phụ thuộc vào nồng độ và thời gian tiêm MIA. Mô hình gây bệnh lý thoái hóa khớp gối trên chuột cống bằng MIA tiêm nội khớp cho phép đánh giá được tác dụng chống viêm của chế phẩm trên đúng tổn thương viêm trong thoái hóa khớp, đồng thời đánh giá được tác dụng làm giảm tổn thương trên mô bệnh học khớp gây thoái hóa.

❖ Tác dụng trên sức chịu đựng trọng lượng chân sau của chuột.

Nghiên cứu lựa chọn Indomethacin làm thuốc tham chiếu. Indomethacin là thuốc chống viêm giảm đau không steroid, dẫn xuất từ acid indolacetic. Indomethacin có tác dụng giảm đau, hạ sốt, chống viêm và chống ngưng tập tiểu cầu. Tác dụng giảm đau và chống viêm của indomethacin có liên quan mật thiết với nhau, liều chống viêm/liều giảm đau = 1/1. Indomethacin có tác dụng chống viêm mạnh hơn phenylbutazon 20-80 lần và mạnh hơn

hydrocortison 2-4 lần. Cơ chế tác dụng của thuốc indomethacin được giải thích chủ yếu qua ức chế prostaglandin synthetase, do đó ngăn cản tạo prostaglandin, thromboxan và các sản phẩm khác của enzym cyclooxygenase. Đối kháng rõ với prostaglandin. Thuốc có tác dụng trên cả giai đoạn đầu và cuối của viêm, nên phù hợp với mô hình viêm cấp và mạn tính [55].

Kết quả nghiên cứu cho thấy:

Sau khi tiêm MIA, tình trạng viêm tại ổ khớp tiến triển mạnh (tiến triển viêm cấp tính), tuy nhiên sau đó tiến triển viêm giảm dần ở tuần thứ 7, 8 sau tiêm, còn lại chủ yếu là tổn thương thoái hóa khớp (tiến triển viêm mạn tính). Ở giai đoạn tiến triển viêm mạn tính (tuần thứ 7, 8 sau tiêm), chuột vẫn đau khớp nhiều (tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng giảm so với lô chứng với $p < 0,001$), tuy nhiên có giảm hơn ($p < 0,01$) so với khi đang tiến triển viêm cấp tính (1 tuần sau tiêm MIA). “Xương khớp nam thang” cũng như thuốc tham chiếu Indomethacine thể hiện tác dụng chống viêm, giảm đau, làm tăng tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng ($p < 0,001$ và $p < 0,01$ so với lô mô hình).

❖ Sự thay đổi nồng độ các cytokine tiền viêm

Prostaglandin E2 (PGE₂) là chất trung gian chính gây viêm trong các bệnh như viêm khớp dạng thấp và viêm xương khớp. Prostaglandin được tổng hợp từ axit arachidonic thông qua hoạt động của các enzym cyclooxygenase (COX) và enzyme tổng hợp prostaglandin E cuối cùng (PGES), cấu thành hoặc phản ứng với chấn thương, kích thích hoặc phân tử tín hiệu đặc hiệu của tế bào. Thuốc chống viêm không steroid (NSAID) và thuốc ức chế chọn lọc cyclooxygenase-2 (COX-2) làm giảm sản xuất PGE₂ để giảm viêm gập trong các bệnh này, nhưng có độc tính có thể bao gồm cả xuất huyết tiêu hóa và xu hướng huyết khối [56].

Viêm xương khớp là bệnh mãn tính phổ biến nhất của khớp người và hiện được coi là bệnh có khả năng không hồi phục ảnh hưởng đến khớp. Cơ

sở của những thay đổi bệnh lý liên quan đến tất cả các mô hình thành khớp, ở giai đoạn đầu, nó có tính chất viêm với mức độ nghiêm trọng khác nhau. Những hiện tượng này được thúc đẩy bởi nhiều chất trung gian khác nhau, trong đó vai trò chính được quy cho các tương tác trong mạng lưới cytokine. Tác dụng quan trọng nhất của cytokine liên quan đến việc làm xáo trộn quá trình dị hoá và đồng hoá, đặc biệt quan trọng trong các mô thường phải chịu tải trọng cơ học cao. Nhóm quan trọng nhất kiểm soát bệnh dường như là các cytokine gây viêm bao gồm IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-15, IL-17 và IL-18. Nhóm thứ hai có tác dụng đối kháng được hình thành bởi các cytokine được gọi là cytokine kháng viêm như IL-4, IL-10, IL-13. Nhóm các cytokine gây viêm là nhóm quan trọng nhất tham gia vào cơ chế bệnh sinh của THK [57].

Interleukin-1 beta (IL-1 β) được coi là một trong những cytokine chính liên quan đến cơ chế bệnh sinh của viêm khớp; nó gây ra các phản ứng viêm và tác dụng dị hóa một cách độc lập cũng như được kết hợp với các chất trung gian khác đối với sụn khớp và các thành phần khác của khớp. Sự tổng hợp của nó trong khớp được chi phối bởi tế bào sụn, nguyên bào xương, các tế bào hình thành màng hoạt dịch và các tế bào đơn nhân trước đây đã có trong khớp hoặc xâm nhập vào cấu trúc của nó trong phản ứng viêm. Bệnh nhân viêm khớp có nồng độ IL-1 β tăng cao ở cả dịch khớp, màng hoạt dịch, sụn và lớp xương dưới sụn. Tác dụng của IL-1 β được biểu hiện bằng tác dụng đáng kể của nó đối với quá trình chuyển hóa tế bào và chất nền ngoại bào. Tác dụng của IL-1 β ngăn chặn tế bào sụn tổng hợp các thành phần chất nền ngoại bào, can thiệp vào quá trình tổng hợp các protein cấu trúc quan trọng như collagen loại II và aggrecan. Ngoài ra, IL-1 β ảnh hưởng đến hoạt động của tế bào sụn trong quá trình tổng hợp enzyme từ nhóm metalloproteinase (MMP). Từ đó có thể thấy tác dụng đa dạng của IL-1 β Đối với sụn bằng cách ức chế khả năng phục hồi của nó, tăng cường sự thoái hoá của nó bởi các enzyme và tác động bất lợi trực tiếp lên tế bào sụn [57].

Yếu tố hoại tử khối u alpha (TNF- α), cùng với IL-1 β , được coi là một cytokine gây viêm chính liên quan đến các quá trình sinh lý bệnh xảy ra trong quá trình viêm khớp. Tác dụng của TNF- α trong hầu hết các trường hợp trùng khớp với tác dụng của IL-1 β , và trong trường hợp có nhiều hiện tượng xảy ra trong quá trình viêm khớp thì có sự hiệp lực rõ rệt giữa hai cytokine. TNF- α ảnh hưởng đến việc ngăn chặn quá trình tổng hợp các thành phần proteoglycan của tế bào sụn, protein liên kết với proteoglycan và collagen loại II. Tác động rõ ràng của TNF- α và IL-1 β đối với việc giảm hiệu quả của chuỗi hô hấp, và do đó làm giảm ATP được tạo ra trong ty thể nằm trong tế bào sụn. Ngoài ra, IL-1 β và TNF- α kích thích sản xuất NOS, COX-2 và PGE2 synthase, do đó làm tăng lượng sản phẩm của chúng [57].

Interleukin-6 (IL-6) là một cytokine kích hoạt mạnh mẽ hệ thống miễn dịch và tăng cường phản ứng viêm, mặc dù xem xét một số tác dụng của nó, nó có thể được phân loại là tương tác chống viêm. Tác dụng của IL-6 đối với sụn khớp không khác biệt so với các cytokine khác và khi phối hợp với chúng sẽ làm giảm sản xuất collagen loại II và tăng sản xuất enzyme từ nhóm MMP. IL-6 được coi là cytokine chính, gây ra những thay đổi ở lớp xương dưới sụn. IL-6 thúc đẩy sự hình thành các nguyên bào hủy xương và do đó làm tiêu xương đồng thời cho thấy tác dụng hiệp đồng với IL-1 β và TNF- α [57].

Interleukin-17 (IL-17) là một nhóm các cytokine có tác dụng gây viêm. Các tế bào chính trong khớp bị ảnh hưởng bởi IL-17 là tế bào sụn. Nguồn IL-17 chủ yếu được kích thích bởi tế bào T CD4⁺ và tế bào mast xâm nhập màng hoạt dịch và toàn bộ khớp thông qua mạch máu. IL-17 đã được chứng minh là có tác dụng ức chế quá trình tổng hợp proteoglycan bởi tế bào sụn và thúc đẩy quá trình sản xuất các enzym thuộc nhóm MMPs. Hơn nữa, IL-17 ảnh hưởng đến việc tiết ra các cytokine khác và các hợp chất ảnh hưởng tiêu cực đến sụn, chẳng hạn như IL-1 β , TNF- α , IL-6, NO và PGE2 [57].

Khi tiêm MIA vào khớp gối để gây thoái hóa khớp, nồng độ chất trung gian gây viêm PGE2 và các cytokines tiền viêm TNF- α , IL-1 β , IL-6 trong huyết thanh ở lô mô hình tăng rõ rệt so với lô chứng ($p < 0,001$), hoàn toàn phù hợp với các tác giả khác [29],[34]. Kết quả này chứng tỏ nồng độ cytokine gắn liền với bệnh sinh thoái hóa khớp. Tác dụng ức chế tăng sinh PGE2 và các cytokines tiền viêm TNF- α , IL-1 β , IL-6 được xem như một trong những cơ chế tác dụng của bài thuốc “Xương khớp nam thang” trong điều trị thoái hóa khớp.

Theo nghiên cứu của Nguyễn Thị Bích Hồng và cộng sự (2020) cho thấy chế phẩm cao lỏng Ích gối thang có tác dụng điều trị thoái hóa khớp gối trên thực nghiệm và lâm sàng thông qua: Làm giảm đường kính khớp gối, giảm đau và cải thiện hoạt động khớp gối trên mô hình sử dụng máy đo ngưỡng đau theo phương pháp Randall Selitto và trên máy đo ngưỡng đau sử dụng kim Von frey. Làm giảm các chỉ số IL - 1 β và TNF - α . Tác dụng trên mô bệnh học cấu trúc sụn khớp: cải thiện cấu trúc sụn khớp [47].

Nguyễn Thị Thanh Hà (2020) tiến hành nghiên cứu độc tính và tác dụng điều trị thoái hóa khớp gối của viên hoàn cứng TD0015 trên thực nghiệm. Kết quả cho thấy TD0015 liều 3,6g/kg có tác dụng chống viêm cấp rõ rệt ở chuột cống trắng trên mô hình gây phù chân chuột, thể hiện ở tất cả thời điểm. TD0015 liều 2,4g/kg/ngày và liều 7,2g/kg/ngày có tác dụng chống viêm mạn tính tương đương methylprednisolon liều 10mg/kg/ngày. Tác dụng điều trị thoái hoá khớp: cải thiện cấu trúc sụn khớp, giảm các cytokine tiền viêm [48].

Các dược liệu trong bài thuốc “Xương khớp nam thang” có tác dụng ích can thận, khu phong, tán hàn, trừ thấp, thông kinh hoạt lạc và cũng đã được chứng minh tác dụng điều trị thoái hóa khớp với nhiều cơ chế khác nhau, là cơ sở khẳng định thêm cho tác dụng của bài thuốc, đồng thời cũng là cơ sở giúp tìm hiểu thêm về cơ chế tác dụng của bài thuốc. Các nghiên cứu trong và ngoài nước đã chỉ ra rằng thành phần dược liệu có trong bài thuốc “Xương

khớp nam thang” có tác dụng chống thoái hóa khớp thông qua giảm nồng độ các cytokin tiền viêm.

Thiên niên kiện (*Rhizoma Homalomenae occultae*) vị khô, tân, cam, tính ôn, quy vào kinh can, thận, tác dụng trừ phong thấp, cường gân cốt. Trong thân rễ có khoảng 0,25% tinh dầu. Trong tinh dầu có chừng 36,8% l-linalol, một ít terpineol và chừng 2% este tính theo linalyl acetat. Ngoài ra còn có sabinen, limonen, a-terpinen, acetaldehyt, aldehyd propionic [58]. Thân rễ của *Homalomena occultae* được gọi là *Qian-nian-jian* trong Y học cổ truyền Trung Quốc (TCM), được tiêu thụ rộng rãi ở Trung Quốc do những lợi ích sức khỏe của nó trong việc điều trị bệnh viêm khớp dạng thấp và tăng cường gân và xương. Một cuộc điều tra về hóa chất thực vật trên loại TCM nổi tiếng này đã thu được 19 sesquiterpenoid (1 –19) với nhiều khung cacbon vòng khác nhau bao gồm isodaucane (2, 8 và 9), guaiane (3), eudesmane (4 và 10 –15), đối lập (5, 16 và 17), và aromadendrane (18 và 19) loại. Cấu trúc của các hợp chất mới Homalomenin A-E (1–5), được xác định bằng dữ liệu quang phổ đa dạng. Hợp chất 1 sở hữu bộ xương và hợp chất sesquiterpenoid quý hiếm 5 đại diện cho ví dụ đầu tiên về sesquiterpenoid 1,4-oxa-oppositane. Các chủng phân lập này đã được đánh giá về tác dụng ức chế đối với sự biểu hiện COX-2 mRNA, protein COX-2 và quá trình sản xuất prostaglandin E2 (PGE2) trong tế bào Raw264.7, chứng minh rằng các hợp chất 5,18,19 cho thấy hoạt động chống viêm mạnh mẽ bằng cách ngăn chặn sự biểu hiện COX-2 và sản xuất PGE2 do LPS gây ra theo cách phụ thuộc vào liều lượng [59].

Dây đau xương (*Caulis Tinosporae sinensis*) vị đắng, tính lương, quy vào kinh can, tác dụng khu phong trừ thấp, thư cân hoạt lạc. Toàn cây dây đau xương chứa alkaloid. Trong dây đau xương có chứa tinosinen. Trong cành người ta tìm thấy 2 chất dinorditerpen glucosid: tinosinesid A và B [60]. Tác dụng của phần EtOAc trong chiết xuất etanolic từ thân cây *Tinospora sinensis* Merr (KJT) đối với các cytokine gây viêm và con đường MAPK đã được

nghiên cứu trên mô hình viêm khớp do collagen (CIA). Hoạt động chống viêm khớp của KJT đã được nghiên cứu trong mô hình CIA. Mô hình CIA được thành lập với việc tiêm CII bò được nhũ hóa trong tá dược Freund vào chuột Wistar. Hoạt động chống viêm khớp của KJT đã được nghiên cứu bằng cách chấm điểm bệnh viêm khớp lâm sàng, kiểm tra độ sưng tấy ở bàn chân và đo mức độ tăng cảm giác đau, cũng như phân tích X quang và mô học ở chuột CIA. Tác động của KJT đối với việc kích hoạt con đường MAPK, sản xuất các cytokine gây viêm (TNF- α , IL-1 β và IL-17) ở khớp mắt cá chân, huyết thanh và lá lách ở chuột CIA đã được kiểm tra bằng phương pháp Western blot, nhuộm hóa mô miễn dịch, ELISA và PCR thời gian thực định lượng tương ứng. Cuối cùng, tác dụng của KJT đối với việc sản xuất oxit nitric (NO) và các cytokine gây viêm cũng như sự điều hòa quá trình phosphoryl hóa của p38 và Erk đã được phát hiện trong các tế bào đại thực bào chuột RAW264.7 được kích thích bằng lipopolysaccharit (LPS). KJT làm giảm đáng kể tình trạng sưng tấy, 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. Hơn nữa, KJT đã ngăn chặn việc sản xuất TNF- α , IL-1 β và IL-17 ở khớp mắt cá chân, huyết thanh và lá lách, đồng thời đảo ngược quá trình điều chỉnh tăng quá trình phosphoryl hóa p38 và Erk ở chuột CIA. KJT cũng đã được chứng minh là có tác dụng ức chế sản xuất NO và các cytokine gây viêm (TNF- α , IL-1 β và IL-6), cũng như ức chế quá trình phosphoryl hóa p38 và Erk trong các tế bào RAW264.7 được kích thích bằng LPS [45].

Lá lốt (*Herba Piperis lolot*) vị cay, tính ấm, mùi thơm, quy kinh tỳ, phế, tác dụng ôn trung tán hàn, hạ khí, chỉ thông, trừ phong thấp. Lá, thân và rễ chứa alcaloid và tinh dầu. Tinh dầu có 35 thành phần trong đó 25 thành phần đã được nhận dạng, thành phần chủ yếu là β -caryophylen. Rễ chứa tinh dầu, trong đó thành phần chính là bornyl acetate. Cao lỏng lá lốt có tác dụng

giảm đau, chống viêm và trị các bệnh viêm cấp tính về răng miệng. Lá lốt có tác dụng gây giãn mạch ngoại biên và ức chế hoạt tính gây co thắt cơ trơn ruột của histamin và acetylcholin [58]. Thành phần hóa học trong tinh dầu từ lá cây *Herba Piperis lolot* được xác định bằng phân tích GC/MS. Hoạt tính chống bệnh gút và chống tiểu đường của tinh dầu được xác định thông qua các xét nghiệm ức chế chống lại các enzyme xanthine oxidase, α -glucosidase và α -amylase [61].

Đinh lăng (*Radix Polysciacis*) vị ngọt, tính bình, quy vào kinh phế, tỳ, thận, tác dụng bổ khí, lợi sữa, giải độc. Vỏ rễ và lá đinh lăng chứa alcaloid, saponin, các vitamin B1, B2, B6, vitamin C, 20 acid amin, glycosid, phyrosrerol, tanin, acid hữu cơ, tinh dầu và nhiều nguyên tố vi lượng và 21,10% đường [60]. Theo nghiên cứu 2019, *Polyscias fruticosa* (EEPL) ức chế đáng kể sự biệt hóa tế bào xương do RANKL gây ra bằng cách giảm số lượng tế bào xương, sự hình thành vòng Actin của tế bào xương và sự tiêu xương. EEPL đã ngăn chặn quá trình phosphoryl hóa do RANKL gây ra của p38 và JNK MAPK, cũng như sự biểu hiện của c-Fos và NFATc1. Chuột được điều trị bằng EEPL đã bảo vệ đáng kể chuột khỏi sự hình thành hủy xương và phá hủy xương do LPS gây ra [62].

Hà thủ ô đỏ (*Radix Fallopieae Multiflorae*) vị đắng, chát, hơi ngọt, tính âm, quy kinh can, thận, tác dụng dưỡng huyết, bổ can thận, nhuận tràng thông tiện, làm xanh tóc. Hà thủ ô có tác dụng chống viêm trên mô hình thực nghiệm, gây phù cấp tính và viêm mạn tính, gây viêm dị ứng và viêm đa khớp bằng BCG [60]. Hà thủ ô đỏ là một loại thuốc thực vật của Trung Quốc có lịch sử lâu đời, được sử dụng rộng rãi để điều trị nhiều loại bệnh mãn tính trên lâm sàng, và đã được mệnh danh là "trẻ hóa và kéo dài tuổi thọ" ở nhiều nơi. 2,3,4',5-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside (TSG, $C_{20}H_{22}O_9$) là hoạt chất chính và duy nhất được phân lập. Các nghiên cứu dược lý hiện đại đã xác nhận rằng TSG thể hiện các hoạt động quan trọng trong điều trị các bệnh khác

nhau, bao gồm các bệnh viêm nhiễm, bệnh thoái hóa thần kinh, bệnh tim mạch, gan nhiễm mỡ, loãng xương, trầm cảm và bệnh thận tiểu đường. TSG cho thấy khả năng chống viêm, chống oxy hóa, bảo vệ thần kinh, bảo vệ tim mạch, bảo vệ gan, chống loãng xương, tăng cường trí nhớ và hoạt động chống lão hóa vượt trội thông qua việc điều chỉnh nhiều cơ chế phân tử, như NF- κ B, AMPK, PI3K-AKT, JNK, ROS-NO, Bcl-2/Bax/Caspase-3, ERK1/2, TGF- β /Smad, Nrf2, eNOS/NO và SIRT1 [63]. Một nghiên cứu hoạt động thúc đẩy sự biệt hóa tạo xương của TSG trong tế bào gốc trung mô chuột (MSC) và ở cá ngựa vằn. Kết quả chứng minh TSG thúc đẩy hoạt động phosphatase kiềm ở nồng độ 1,56-25 μ g/ml, đồng thời làm tăng hàm lượng Osteocalcin 7 ngày sau điều trị với 6,25-25 μ g/ml trong MSC. Hơn nữa, các thí nghiệm trên cá ngựa vằn chỉ ra rằng các nồng độ TSG khác nhau (3,12-12,5 μ g/ml) bảo vệ chống lại sự mất xương thêm do 10 μ mol/l dexamethasone (Dex), mô phỏng mô hình loãng xương (OP). Kết quả cung cấp bằng chứng khoa học hỗ trợ tiềm năng sử dụng TSG để bảo vệ xương trong các bệnh thoái hóa, chẳng hạn như OP [64].

Cây xấu hổ (*Mimosa pudica* L) là dược liệu phổ biến ở Việt Nam. Cây xấu hổ vị ngọt, hơi se, có độc; tính hơi hàn; quy kinh phế; tác dụng trị phong thấp đau nhức, thông kinh hoạt lạc. Nghiên cứu của Đàm Trung Bảo và cộng sự cho thấy *Mimosa pudica* (L.) có tác dụng giảm đau hiệu quả đã được thử nghiệm theo 3 phương pháp: Mâm đồng (ở 56°C), phương pháp gây đau bằng axetylcolin và phương pháp kích điện [65]. Năm 2014, nghiên cứu của Neeraj K.Patel và cs về *Mimosa pudica* (L.) đã phân lập mười bốn hợp chất từ chiết xuất etyl axetat (MPE) hoạt tính của toàn bộ cây *Mimosae pudica* (L.) và đánh giá tác dụng của chúng đối với oxit nitric (NO), yếu tố hoại tử khối u alpha (TNF- α) và các hoạt động ức chế interleukin 1 beta (IL-1 β) trong lipopolysaccharit (LPS). Kết quả cho thấy: Trong số các hợp chất được thử nghiệm, L-mimosine, crocetin, crocin, và axit jasmonic được xác định là chất

ức chế NO mạnh khi thử nghiệm trên đại thực bào. Tương tự, đối với sự ức chế TNF- α và IL-1 β , bao gồm bốn hợp chất này và ethyl gallate, axit gallic và axit caffeic được cho là hoạt động mạnh hơn với nồng độ tối đa bằng một nửa, trong khi các hợp chất khác mô tả hiệu ứng trung bình và nhẹ. Ngoài ra, ở liều 40 mg/kg, L-mimosine, axit jasmonic, crocin, và dạng khử ester của nó, crocetin được phát hiện là làm giảm đáng kể ($p < 0,05$ và $0,001$) lần lượt là 60,7%, 48,9%, 48,4% và 43,6% sản xuất TNF-khử este hóa ở chuột cái *Sprague Dawley*. Điều này cho thấy tác dụng chống viêm của *Mimosa pudica* *L in vitro* cũng như *in vivo* thông qua việc giảm các chất trung gian gây viêm do LPS gây ra [66].

Ngưu tất (*Radix Achyranthis bidentatae*) là vị thuốc quý được sử dụng trong các bệnh lý xương khớp của y học cổ truyền Việt Nam. Ngưu tất vị đắng, chua, tính bình, quy kinh Can, Thận, tác dụng bổ can thận, mạnh gân cốt. Ngưu tất chứa hoạt chất saponin, rhamnose, ecdysterone, inokosteron có tác dụng chống viêm rõ rệt đối với giai đoạn cấp tính và mạn tính của phản ứng viêm thực nghiệm. Các chế phẩm solamin và Ngưu linh thiêm trong có ngưu tất và một số dược liệu khác đã được áp dụng để điều trị thấp khớp với kết quả là có tác dụng chống viêm và giảm đau rõ rệt trên lâm sàng. Kết quả tốt đối với đau lưng cấp do lạnh và sang chân, viêm đa khớp dạng thấp chưa có biến dạng về khớp [58]. Căng thẳng lưới nội chất (ERS) có liên quan đến quá trình tự hủy của tế bào sụn trong viêm khớp. Polysaccharit *Achyranthes bidentata* (ABPS) được chiết xuất từ *Achyranthes Bidentata*, nó làm giảm căng thẳng lưới nội chất trong viêm xương khớp thông qua con đường lncRNA NEAT1/miR-377-3p. Căng thẳng lưới nội chất (ERS) đã được xác định là một yếu tố quan trọng dẫn đến quá trình chết theo chương trình của tế bào sụn trong viêm xương khớp (OA). Các thí nghiệm *in vitro* và *in vivo* cho thấy ABPS đã ức chế ERS tế bào sụn bằng cách điều chỉnh sự biểu hiện của

lncRNA NEAT1 và miR-377-3p. ABPS đã ức chế sự biểu hiện của các yếu tố liên quan đến ERS bằng cách điều chỉnh mạng lưới điều tiết ceRNA bao gồm lncRNA NEAT1 và miR-377-3p, do đó ngăn chặn quá trình chết theo chương trình của tế bào sụn. Theo các nghiên cứu lâm sàng, người ta xác định rằng ABPS có tác dụng chống dị ứng, giảm viêm khớp và điều hòa miễn dịch[67]. Nghiên cứu cũng cho thấy chiết xuất *Achyranthes bidentata* (ABE) bảo vệ các chức năng của tế bào sụn thông qua việc ngăn chặn quá trình đường phân và quá trình chết theo chương trình thông qua trục truyền tín hiệu MAPK/AKT. ABE ngăn chặn hoạt động apoptosis và glycolytic của tế bào sụn *in vitro* thông qua việc điều chỉnh nhiều gen, chẳng hạn như Plk2, Casp1/12 và Cers1 cũng như Pkm2, Eno1/3 và Pkg2. Về mặt cơ học, ABE đã kích hoạt đường truyền tín hiệu MAPK và ngăn chặn đường truyền tín hiệu AKT, do đó, làm giảm quá trình đường phân để duy trì sự sống của tế bào sụn [46].

Mạch môn (*Radix Ophiopogonis japonici*) vị ngọt, hơi đắng, tính hơi lạnh, quy kinh tâm, phế, vị. Đã nghiên cứu và chứng minh rằng mạch môn có tác dụng chống viêm rõ rệt cả hai giai đoạn cấp tính và bán mạn tính của phản ứng viêm thực nghiệm. Một chiết xuất metanol từ củ của *Ophiopogon japonicus* được phát hiện có khả năng ức chế mạnh mẽ việc sản xuất NO. Trong 5 hợp chất được phân lập từ dịch chiết metanol của *O. japonicus* củ, hai trong số chúng cho thấy hoạt động chống viêm đầy hứa hẹn bằng cách ức chế sản xuất NO [68]. Trong 15 loại homoisoflavonoid được phân lập từ rễ củ của *Ophiopogon japonicus*, các hợp chất 2-15 đã được đánh giá về tác dụng ức chế sản xuất NO do lipopolysaccharide gây ra trong dòng tế bào vi mô tế bào đệm BV-2 ở chuột. Các hợp chất 2, 4, 6, 7, 10, 11 cho thấy tác dụng ức chế mạnh khả năng sản sinh NO với giá trị IC(50) lần lượt là 20,1, 17,0, 7,8, 5,1, 19,2 và 14,4 μM [69].

Như vậy các dược liệu trong bài thuốc “Xương khớp nam thang” đã được chứng minh tác dụng điều trị thoái hóa khớp với nhiều cơ chế khác nhau: chống oxy hóa, giảm đau, chống viêm, chống loãng xương.

*** Sự thay đổi mô bệnh học khớp gối**

Quá trình thoái hóa tác động đến cả sụn, xương và màng hoạt dịch khớp trong đó tế bào sụn khớp là tế bào quan trọng nhất đáp ứng với sự thay đổi trong quá trình thoái hóa khớp .

Tế bào sụn là một trong các thành phần cơ bản tạo nên sụn, chứa nhiều proteoglycan, fibrin, sợi collagen. Chất căn bản của sụn có 3 thành phần trong đó nước chiếm 80%, các sợi collagen và proteoglycan chiếm 5 - 10%. Proteoglycan là chất có khả năng chịu sức ép lên sụn và giữ lại một lượng lớn dung môi. Sợi collagen bản chất là các phân tử acid amin, kiểm soát khả năng chịu đựng sức co giãn của sụn. Sợi collagen bị phân hủy bởi enzym collagenase. Khi khớp gối bị tổn thương, các proteoglycan mất dần, các sợi collagen bị thoái hóa làm thay đổi cấu trúc và sự toàn vẹn chức năng của tổ chức. Tế bào sụn đóng vai trò chủ yếu trong quá trình này, đó là làm tăng bất thường các enzyme proteolytic, đặc biệt là matrix metalloprotease (MMPs). Các enzyme này gây biến đổi thoái hóa các bó sợi làm nên thành phần của sụn. Trong THK, các enzym collagenase, stromelysin I và gelatinase xuất hiện là thoái hóa các phân tử lớn của chất căn bản, trong khi các phân tử kết dính trong đó có nhiều enzyme họ odamalysin có thể đóng vai trò trung tâm trong việc phá hủy cấu trúc của các phân tử kết dính. Các mảnh proteoglycan ít có hiệu quả giữ các phân tử nước hơn bình thường, làm giảm tác động các quá tải cơ học.

Xương dưới sụn là thành phần nằm ngay bên dưới sụn khớp (đầu xương), có vai trò hỗ trợ sụn khớp trong việc chống sốc cơ học, điều chỉnh áp lực trong khoang khớp để khớp có thể vận động bình thường. Xương dưới sụn cũng còn có vai trò cung cấp một phần dinh dưỡng cho lớp sụn nằm gần mặt

xương dưới sụn, thúc đẩy quá trình chuyển hóa diễn ra tại sụn khớp. Giai đoạn đầu của thoái hóa khớp có sự tăng tái cấu trúc xương và mất xương dưới sụn, giai đoạn muộn lại có sự chậm tái cấu trúc và xơ cứng dưới sụn. Xương dưới sụn bị cứng, sau đó bị nhồi máu, và phát triển nang dưới sụn. Các quá trình sửa chữa xương gây ra xơ xương dưới sụn và hình thành gai xương ở rìa khớp. Xương dưới sụn bị hư tổn khiến lớp sụn mất đi điểm tựa chịu lực và một nguồn cung cấp dinh dưỡng. Mặt khác, sụn thoái hóa với các vết loét, nứt gãy, cũng lại là yếu tố làm hủy hoại xương dưới sụn. Do đó, mục tiêu ngăn chặn quá trình thoái hóa khớp bao gồm làm giảm sự hủy hoại của hai thành phần này [8].

Màng hoạt dịch đóng một vai trò quan trọng trong chức năng của khớp, nuôi dưỡng tế bào sụn qua dịch khớp, khe khớp và loại bỏ các chất chuyển hóa, sản phẩm giáng hóa từ cấu trúc nền [70]. Tổn thương màng hoạt dịch là biểu hiện thứ phát và muộn hơn thường biến đổi xơ hoá màng hoạt dịch và bao khớp, đôi khi có viêm tràn dịch ổ khớp thứ phát do các mảnh sụn nhỏ bị bong trở thành các di vật nhỏ trong ổ khớp kích thích giống như viêm khớp do vi tinh thể. Hoạt dịch bị viêm nhẹ và dày lên và tạo ra hoạt dịch có độ nhớt ít hơn và thể tích lớn hơn. Nguyên nhân gây ra tổn thương màng hoạt dịch là do các yếu tố tấn công cơ học tác động trực tiếp lên mặt sụn gây ra sự hoạt hóa và giải phóng các enzyme làm thoái biến chất cặn bã, dẫn đến phá hủy sụn khớp. Sự mất cân bằng giữa tổng hợp và thoái hóa của sụn khớp kéo theo sự tích nước tại mô sụn, do đó làm giảm độ chắc và độ đàn hồi của sụn. Các mảnh vỡ của sụn rơi vào trong ổ khớp sẽ dẫn tới viêm màng hoạt dịch. Hiện tượng mất cân bằng này lại càng gia tăng bởi các cytokines, đặc biệt là chất trung gian interleukin 1 (IL-1) có khả năng kích thích các tế bào sụn tiết enzym, làm tăng cường sự tiêu hủy của sụn, ức chế tế bào sụn tổng hợp collagen và proteoglycan, kết quả dẫn đến hủy hoại sụn không hồi phục [8].

Khoang mỡ Hoffa là mô mỡ hiện diện trong khớp gối, dưới xương bánh chè, vị trí của nó gần với sụn khớp và màng hoạt dịch. Đây là nơi sản xuất ra nhiều cytokine và adipokine có vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh khớp gối. Tình trạng viêm khối mỡ Hoffa gây đau mặt trước gối, vị trí gần bánh chè và bánh chèo. Trên mô hình nghiên cứu cho thấy so với lô mô hình, điểm trung bình đánh giá tình trạng viêm khoang mỡ Hoffa ở các lô uống “Xương khớp nam thang” cũng như ở lô uống indomethacin giảm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. So sánh giữa 2 lô dùng “Xương khớp nam thang” với nhau, cũng như so sánh 2 lô dùng “Xương khớp nam thang” với lô dùng indomethacin, điểm trung bình đánh giá tình trạng viêm khoang mỡ Hoffa của chuột ở các lô này không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Kết quả đánh giá hình ảnh mô bệnh học khớp gối cho thấy: ở lô mô hình có hình ảnh viêm thoái hóa khớp gối rõ; ở các lô trị dùng “Xương khớp nam thang” biểu hiện viêm giảm rõ, các biểu hiện hoại tử, xơ hóa, thoái hóa khớp gối hầu như không có; ở lô tham chiếu dùng Indomethacin biểu hiện viêm giảm rõ so với lô mô hình, tuy nhiên vẫn thấy có hình ảnh tổn thương cấu trúc sụn khớp. Kết quả này cho thấy “Xương khớp nam thang” bảo vệ sụn khớp không chỉ thông qua việc ức chế tăng sinh PGE2 và các cytokines tiền viêm TNF- α , IL-1 β , IL-6, vì indomethacin cũng thể hiện rõ tác dụng này nhưng tác dụng bảo vệ sụn khớp không bằng. “Xương khớp nam thang” với sự kết hợp của nhiều dược liệu nên có nhiều cơ chế tác dụng khác nhau góp phần bảo vệ sụn khớp bị phá hủy trong bệnh sinh của thoái hóa khớp, và cần được nghiên cứu tìm hiểu thêm.

KẾT LUẬN

1. Độc tính cấp của bài thuốc “Xương khớp nam thang” trên chuột nhắt trắng

Chưa tìm thấy LD₅₀ của dịch chiết bài thuốc “Xương khớp nam thang” theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống là 375g dược liệu khô/kg thể trọng không gây chết chuột nghiên cứu.

2. Tác dụng giảm đau, chống viêm và chống thoái hóa khớp gối của bài thuốc “Xương khớp nam thang” trên chuột cống trắng

Dịch chiết bài thuốc “Xương khớp nam thang” liều 12,6 g/kg/24h và 25,2g/kg/24h dùng đường uống trong 7 tuần trên chuột cống trắng gây thoái hóa khớp gối bằng Monosodium iodoacetate (MIA) có tác dụng giảm đau, chống viêm, chống thoái hóa khớp gối, thể hiện qua các chỉ tiêu:

- Giảm đau (tăng ngưỡng đau, giảm đáp ứng đau): thông qua tác dụng làm tăng tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng của chân sau chuột ($p < 0,001$ và $p < 0,01$ so với lô mô hình; $p < 0,001$ so với trước dùng thuốc). Khi chuột bị viêm, thoái hóa khớp gối một bên, chịu đựng trọng lượng bên đau sẽ giảm so với bên đối diện, tỷ lệ phân phối chịu đựng trọng lượng giảm.

- Chống viêm, chống thoái hóa khớp gối, thông qua các tác dụng:

+ Làm giảm chất trung gian gây viêm PGE2 và các cytokines tiền viêm TNF- α , IL-1 β , IL-6 trong huyết thanh chuột ($p < 0,001$ so với lô mô hình).

- Làm giảm tổn thương viêm và thoái hóa khớp gối thông qua tác dụng làm cải thiện hình ảnh mô bệnh học khớp gối nhuộm HE, làm giảm số điểm đánh giá tổn thương mô bệnh học sụn xương khớp và tình trạng viêm khoang mỡ Hoffa của khớp gối ($p < 0,01$ so với lô mô hình).

KHUYẾN NGHỊ

- Đánh giá độc tính bán trường diễn của bài thuốc “Xương khớp nam thang”.
- Đánh giá tác dụng chống viêm, chống thoái hóa khớp của bài thuốc “Xương khớp nam thang” trên lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Trần Ngọc Ân** (2004). Hư khớp, *Bệnh học nội khoa tập II*, NXB Y học, tr 327-342.
2. **Nguyễn Vĩnh Ngọc, Trần Ngọc Ân, Nguyễn Thu Hiền** (2002). Đánh giá tình hình bệnh khớp tại Khoa cơ xương khớp – Bệnh viện Bạch Mai trong 10 năm (1991 – 2000), *Báo cáo khoa học Đại hội toàn quốc lần thứ 3, Hội thấp khớp học Việt Nam*, 263-267.
3. **Trần Ngọc Ân và Nguyễn Thị Ngọc Lan** (2004). Thoái hóa khớp và thoái hóa cột sống, *Bệnh học nội khoa tập I (dùng cho đối tượng sau đại học)*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
4. **BỘ Y TẾ** (2016). Chẩn đoán và điều trị thoái hóa khớp gối, *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị các bệnh cơ xương khớp* (Ban hành kèm theo Quyết định số 361/QĐ-BYT Ngày 25 tháng 01 năm 2014 của Bộ trưởng Bộ Y tế), Tr 124 - 127.
5. **Cầm Thị Hương** (2008), Đánh giá hiệu quả của cồn đắp thuốc Boneal Cốt Thống Linh trong điều trị thoái hóa khớp gối, Luận văn tốt nghiệp bác sỹ chuyên khoa cấp II, Trường Đại học Y Hà Nội, 47-67.
6. **Nguyễn Thị Ngọc Lan** (2012). Thoái hóa khớp, *Bệnh học cơ xương khớp nội khoa*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
7. **Goldring MB, Goldring SR.** (2007). Osteoarthritis, *J Cell Physiol*, 213, 626-634.
8. **Horton WE Jr, Bennion P, Yang L.** (2006). Cellular, molecular, and matrix changes in cartilage during aging and osteoarthritis, *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 6, 379-381.
9. **Sokolove J and C. M. Lepus** (2013). Role of inflammation in the pathogenesis of osteoarthritis: latest findings and interpretations. *Ther Adv Musculoskelet Dis*, 5 (2), 77-94.

10. **Sampson S, Reed M, Silvers H. et al** (2010). Injection of plateletrichplasma in patients with 0 khớp gối, *Phác đồ chẩn đoán và điều trị các bệnh cơ xương khớp thường gặp*, Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam, tr. 178-184.
11. **Nguyễn Ngọc Châu** (2012). *Nghiên cứu nồng độ IL-1, TNF α và mật độ khoáng xương ở bệnh nhân thoái hóa khớp*, Luận án tiến sỹ, Học viện Quân y.
12. **Howell D.S** (1998). Etiopathogenesis of osteoarthritis. *Arthritis and Allied conditions, Ed by Mc Carty D. J., Lea and Febiger (Philadenphia)*; 1594-1604.
13. **Brandt KD** (1994). Osteoarthritis, *In Stein J ed Internal Medicin 4th ed St Louis, Mo. Mo by year book, Ine*, 2489-2493.
14. **Zhang Y, Jordan J.** (2010). Epidemiology of osteoarthritis, *Clin Geriatr Med*, 26, 355-369.
15. **Cyrus Cooper, Kassim Javaid, Nigel Arden** (2018). Chapter 2: Epidemiology of osteoarthritis, *Atlas of osteoarthritis*, 3rd edition. Springer Healthcare Ltd, 18- 30.
16. **Abhishe'k A, Doherty M.** (2013). Diagnosis and clinical presentation of osteoarthritis, *Rheum Dis Clin N Am*, 39, 45- 66.
17. **Crema M.D, Guermazi A, Sayre E.C et al** (2011). The asociation of magnetic resonance imaging (MRI) detected structural pa pathology of the knee with crepitus in a population-based cohort with knee pain: The MoDEKO study, *Osteoarthritis and Cartilage*, 19, 1429-1432.
18. **Bộ Y tế** (2011). Bệnh viện Bạch Mai. *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh nội khoa*, Nhà xuất bản Y học, tr 645-646.
19. **Bộ Y tế** (2011). *Bệnh học Cơ xương khớp nội khoa*, Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam, tr.189.

20. **Trần Ngọc Ân, Nguyễn Thị Ngọc Lan, Nguyễn Mai Hồng** (2013). Thoái hóa khớp gối, *Phác đồ chẩn đoán và điều trị các bệnh cơ xương khớp thường gặp*, Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam, tr. 178-184.
21. **Nguyễn Quốc Anh, Ngô Quý Châu** (2012). Thoái hóa khớp gối, *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh Nội Khoa*, Nhà xuất bản Y học, tr 642-646.
22. **Hochberg M.C, Altman R.D., Brandt K.D. et al** (1995). Guidelines for the medical management of osteoarthritis. Part II. Osteoarthritis of the knee. American College of Rheumatology, *Arthritis Rheum*, 38, 1541 – 1546.
23. **Jordan KM, Arden NK, Doherty M et al** (2003). EULAR Recommendations 2003: an evidence based approach to the management of knee osteoarthritis: *Report of a Task Force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutic Trials (ESCISIT)*. *Ann Rheum Dis.*, 62(12), 1145-55.
24. **Hoàng Bảo Châu** (2006). Chứng tý, *Nội khoa Y học cổ truyền*, NXB Y học, tr 528-538.
25. **Khoa Y học cổ truyền, trường Đại Học Y Hà Nội** (2006). Chứng tý, *Chuyên đề nội khoa Y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, tr 486-495.
26. **Trường Đại học Y Hà Nội, khoa Y học cổ truyền** (2001). *Kim quỳ yếu lược*, Nhà xuất bản Y học, 86-92.
27. **Khoa Nội Y học cổ truyền-Trường Đại học Y Hà Nội** (2017). *Bệnh học nội khoa y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
28. **Bộ y tế** (2015). Quyết định về việc ban hành tài liệu chuyên môn “Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu”, số 141/QĐ-K2ĐT.

29. **Vũ Ngọc Bích** (2018). *Mô hình động vật trong nghiên cứu các bệnh về khớp*, Bài giảng Tế bào gốc, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Hồ Chí Minh.
30. **Ikufumi Takahashi, Taro Matsuzaki, Hiroshi Kuroki** (2018). Induction of osteoarthritis by injecting monosodium iodoacetate into the patellofemoral joint of an experimental rat model, *PLoS One*, 13(4), pp. e0196625.
31. **Bove S.E., Calcaterra S.L., Brooker R.M. et al** (2003). Weight bearing as a measure of disease progression and efficacy of antiinflammatory compounds in a model of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis, *Osteoarthritis Cartilage*, 11(11), pp. 821-830.
32. **Lampropoulou-Adamidou K., Lelovas P., Karadimas E.V. et al** (2014). Useful animal models for the research of osteoarthritis, *Eur J Orthop Surg Traumatol*, 24(3), pp. 263-271.
33. **Kuyinu E.L., Narayanan G., Nair L.S. et al** (2016). Animal models of osteoarthritis: classification, update, and measurement of outcomes, *J Orthop Surg Res*, 11, pp. 19.
34. **Takahashi I., Matsuzaki T., Hosono M.** (2017). Short-term histopathological developments in knee-joint components in a rat model of osteoarthritis induced by monosodium iodoacetate, *J Phys Ther Sci*, 29(4), pp. 590-597.
35. **M. J. Janusz A., M. Bendele K., K. Brown et al** (2002). Induction of osteoarthritis in the rat by surgical tear of the meniscus: Inhibition of joint damage by a matrix metalloproteinase inhibitor, *Osteoarthritis Cartilage*, 10(10), pp. 785-791.
36. **Stoop R., Buma P., van der Kraan P.M. et al** (2000). Differences in type II collagen degradation between peripheral and central cartilage of rat stifle joints after cranial cruciate ligament transection, *Arthritis Rheum*, 43(9), pp. 2121-2131.

37. **Aulin C., Lundback P., Palmblad K. et al** (2017). An in vivo cross-linkable hyaluronan gel with inherent anti-inflammatory properties reduces OA cartilage destruction in female mice subjected to cruciate ligament transection, *Osteoarthritis Cartilage*, 25(1), pp. 157-165.
38. **Tsai P.H., Lee H.S., Siow T. et al** (2016). Abnormal perfusion in patellofemoral subchondral bone marrow in the rat anterior cruciate ligament transection model of post-traumatic osteoarthritis: a dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging study, *Osteoarthritis Cartilage*, 24(1), pp. 129-133.
39. **Iijima H., Aoyama T., Ito A. et al** (2015). Effects of short-term gentle treadmill walking on subchondral bone in a rat model of instability-induced osteoarthritis, *Osteoarthritis Cartilage*, 23(9), pp. 1563-1574.
40. **Gou Y., Tian F., Kong Q. et al** (2018). Salmon Calcitonin Attenuates Degenerative Changes in Cartilage and Subchondral Bone in Lumbar Facet Joint in an Experimental Rat Model, *Med Sci Monit*, 24, pp. 2849-2857.
41. **Bei M., Tian F., Liu N. et al** (2019). A Novel Rat Model of Patellofemoral Osteoarthritis Due to Patella Baja, or Low-Lying Patella, *Med Sci Monit*, 25, pp. 2702-2717.
42. **Bộ Y tế** (2018). *Dược điển Việt Nam V*, NXB Y học.
43. **Bộ Y tế** (2015). *Thông tư Ban hành danh mục thuốc đông y, thuốc từ dược liệu và vị thuốc Y học cổ truyền thuộc phạm vi thanh toán của bảo hiểm y tế, số 05/2015/TT-BYT*.
44. **Ahmad H., Sehgal S., Mishra A. et al** (2012). Mimoso pudica L. (Laajvanti): An overview, *Pharmacogn Rev*, 6(12), pp. 115-124
45. **Xiong H., Ding X., Wang H. et.al.** (2019). Tibetan medicine Kuan-Jin-Teng exerts anti-arthritis effects on collagen-induced arthritis rats via inhibition the production of pro-inflammatory cytokines and down-regulation of MAPK signaling pathway. *Phytomedicine*, 57, pg 271–281.

46. **Ma D., Li Y., Xiao W. et al** (2020). Achyranthes bidentata extract protects chondrocytes functions through suppressing glycolysis and apoptosis via MAPK/AKT signaling axis, *Am J Transl Res*, 12(1), pp. 142-152
47. **Nguyễn Thị Bích Hồng** (2020). *Đánh giá độc tính và hiệu quả điều trị của cao lỏng Ích gối kháng trên bệnh nhân thoái hóa khớp gối*, Luận án Tiến sĩ y học, Trường Đại học y Hà Nội.
48. **Nguyễn Thị Thanh Hà** (2020). *Nghiên cứu độc tính và tác dụng điều trị thoái hóa khớp gối của viên hoàn cứng TD0015 trên thực nghiệm*, Luận án Tiến sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
49. **Đinh Thị Lam, Đỗ Thị Phương** (2014). Đánh giá tác dụng của chế phẩm Glucosamin trong điều trị hỗ trợ bệnh nhân thoái hoá khớp gối. *Tạp chí nghiên cứu Y dược học cổ truyền Việt Nam*, số 40, 61 – 68.
50. **Nguyễn Thị Bích** (2014). *Đánh giá kết quả điều trị thoái hóa khớp gối bằng bài thuốc Tam tý thang kết hợp với bài tập vận động khớp gối*, Luận văn thạc sỹ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
51. **Đào Thế Anh** (2020). *Nghiên cứu tác dụng điều trị thoái hóa khớp gối của cao đặc KNC trên động vật thực nghiệm*, Luận văn thạc sỹ y học, Học viện y dược học cổ truyền Việt Nam.
52. **Pritzker K.P., Gay S., Jimenez S.A. et al** (2006). Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging, *Osteoarthritis Cartilage*, 14(1), pp. 13-29
53. **Udo M., Muneta T., Tsuji K. et al** (2016), Monoiodoacetic acid induces arthritis and synovitis in rats in a dose- and time-dependent manner: proposed model-specific scoring systems, *Osteoarthritis Cartilage*, 24, pg 1284-1291.
54. **Pitcher, T., Sousa-Valente, J., & Malcangio, M.** (2016). The Monoiodoacetate Model of Osteoarthritis Pain in the Mouse. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (111), 53746.

55. **Trường Đại học Y Hà Nội** (2018). *Dược lý học lâm sàng*, NXB Y học, Hà Nội.
56. **Park, J. Y., Pillinger, M. H., & Abramson, S. B.** (2006). Prostaglandin E2 synthesis and secretion: the role of PGE2 synthases. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*, 119(3), pp. 229-240.
57. **Wojdasiewicz, P., Poniatowski, Ł. A., & Szukiewicz, D.** (2014). The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis. *Mediators of inflammation*, 2014, 561459.
58. **Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương và cộng sự** (2006). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, tập II, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, Hà Nội.
59. **Jun-Li Yang, Trong Tuan Dao, Tran Thi Hien, et al** (2019). Further sesquiterpenoids from the rhizomes of *Homalomena occulta* and their anti-inflammatory activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 29 (10), pp 1162-1167.
60. **Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương và cộng sự** (2006). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, tập I, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, Hà Nội.
61. **Tan Khanh Nguyen, Linh Thuy Thi Tran, Duc Ho Viet, et al** (2023). Xanthine oxidase, α -glucosidase and α -amylase inhibitory activities of the essential oil from *Piper lolot*: In vitro and in silico studies. *Heliyon*, 9(8): e19148.
62. **Phuong Thao Tran, Nguyen Hai Dang, Okhwa Kim, et al** (2019). Ethanol extract of *Polyscias fruticosa* leaves suppresses RANKL-mediated osteoclastogenesis in vitro and LPS-induced bone loss in vivo. *Phytomedicine*, 2019, 59:152908.
63. **Wang C, Dai S, Gong L, et al** (2022). A Review of Pharmacology, Toxicity and Pharmacokinetics of 2,3,5,4'-Tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-Glucoside. *Front Pharmacol*, 2022, 791214.

64. **Zheng Y, Li J, Wu J, et al** (2017). Tetrahydroxystilbene glucoside isolated from *Polygonum multiflorum* Thunb. demonstrates osteoblast differentiation promoting activity. *Exp Ther Med*, 14(4), pp. 2845-2852.
65. **Đỗ Tất Lợi** (2019). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
66. **Patel, N. K., & Bhutani, K. K.** (2014). Suppressive effects of *Mimosa pudica* (L.) constituents on the production of LPS-induced pro-inflammatory mediators. *EXCLI journal*, 13, pp. 1011-1021.
67. **Fu, C., Qiu, Z., Huang, Y. et al** (2022). *Achyranthes bidentata* polysaccharides alleviate endoplasmic reticulum stress in osteoarthritis via lncRNA NEAT1/ miR-377-3p pathway. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 154, 113551.
68. **Nguyen Hai Dang, Nguyen Dinh Chung, Ha Manh Tuan, et.al** (2017). 2-Benzyl-benzofurans from the tubers of *Ophiopogon japonicus*. *Chem Cent J*, 2017, 11:15.
69. **Li N, Zhang J, Zeng K, et.al** (2012). Anti-inflammatory homoisoflavonoids from the tuberous roots of *Ophiopogon japonicus*. *Fitoterapia*, 83(6), pp 1042-5.
70. **Sellam J, Berenbaum F.** (2012). The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol*, 6, 625-635

Phụ lục 1

CÁC VỊ THUỐC CÓ TRONG “XƯƠNG KHỚP NAM THANG”

1. Thiên niên kiện



Tên khoa học: *Rhizoma Homalomenae occultae*

Họ Ráy (Araceae)

Bộ phận dùng: Thân rễ

Tính vị quy kinh: Vị khổ, tân, cam, tính ôn, quy vào kinh can, thận

Công dụng: trừ phong thấp, cường gân cốt. Chủ trị: Phong hàn thấp gây nên: Thất lung và đau gối lạnh đau, chân co rút tê bại, rất tốt cho người cao tuổi, già yếu.

Thành phần hóa học: Trong thân rễ có khoảng 0,25% tinh dầu. Trong tinh dầu có chừng 36,8% l-linalol, một ít terpineol và chừng 2% este tính theo linalyl acetat. Ngoài ra còn có sabinen, limonen, a-terpinen, acetaldehyt, aldehyd propionic.

Tác dụng dược lý: tác dụng ức chế sự co thắt cơ trơn ruột chuột lang cô lập gây nên bởi histamin và acetylcholin, gây giãn mạch ngoại biên [57].

2. Dây đau xương



Tên khoa học: *Caulis Tinosporae sinensis*

Họ Tiết dê (Menispermaceae).

Bộ phận dùng: Thân

Tính vị quy kinh: Vị đắng, tính lương. Quy vào kinh can.

Công dụng: khu phong trừ thấp, thư cân hoạt lạc. Chủ trị: Phong thấp tê bại, đau nhức cơ khớp.

Thành phần hóa học: Toàn cây dây đau xương chứa alcaloid. Trong dây đau xương có chứa tinosinen. Trong cành người ta tìm thấy 2 chất dinorditerpen glucosid: tinosinesid A và B

Tác dụng dược lý: có tác dụng chống viêm; ức chế hoạt tính gây co thắt cơ trơn của histamin và acetylcholin trong thí nghiệm ruột cô lập. Dây đau xương có ảnh hưởng đến huyết áp động vật thí nghiệm, có tác dụng ức chế hệ thần kinh trung ương biểu hiện trên các hiện tượng quan sát bên ngoài của động vật, có tác dụng hiệp đồng với thuốc ngủ, tác dụng an thần và lợi tiểu [59].

3. Lá lốt



Tên khoa học: *Herba Piperis lolot*

Họ Hồ tiêu (Piperaceae).

Bộ phận dùng: Toàn cây

Tính vị quy kinh: Vị cay, tính ấm, mùi thơm. Quy kinh tỳ, phế

Công dụng: Ôn trung tán hàn, hạ khí, chỉ thống, trừ phong thấp. Chủ trị: Phong hàn thấp, chân tay lạnh, tê bại, rối loạn tiêu hóa, nôn mửa, đầy hơi, đau bụng ỉa chảy, thận và bàng quang lạnh, đau răng, đau đầu, chảy nước mũi hôi, ra mồ hôi tay chân, phù thũng.

Thành phần hóa học: Lá, thân và rễ chứa alkaloid và tinh dầu. Tinh dầu có 35 thành phần trong đó 25 thành phần đã được nhận dạng, thành phần chủ yếu là β -caryophylen. Rễ chứa tinh dầu, trong đó thành phần chính là bornyl acetate.

Tác dụng dược lý: Cao lỏng lá lốt có tác dụng giảm đau, chống viêm và trị các bệnh viêm cấp tính về răng miệng. Lá lốt có tác dụng gây giãn mạch ngoại biên và ức chế hoạt tính gây co thắt cơ trơn ruột của histamin và acetylcholin [57].

4. Đinh lăng



Tên khoa học: *Radix Polysciacis*

Họ Nhân sâm (Araliaceae).

Bộ phận dùng: Rễ

Tính vị quy kinh: Vị ngọt, tính bình. Quy vào kinh phế, tỳ, thận.

Công dụng: Bổ khí, lợi sữa, giải độc. Chủ trị: Suy nhược cơ thể và suy nhược thần kinh, tiêu hóa kém, ngủ kém, phụ nữ sau đẻ ít sữa.

Thành phần hóa học: Vỏ rễ và lá đinh lăng chứa alcaloid, saponin, các vitamin B1, B2, B6, vitamin C, 20 acid amin, glycosid, phyrosrerol, tanin, acid hữu cơ, tinh dầu và nhiều nguyên tố vi lượng và 21,10% đường.

Tác dụng dược lý: tăng hiệu lực điều trị của cloroquin trong bệnh sốt rét thực nghiệm trên động vật, giảm cholesterol trong máu, tăng co bóp tử cung và tăng tiết niệu, tác dụng an thần và ít độc [59].

5. Hà thủ ô đỏ.



Tên khoa học: *Radix Fallopiae Multiflorae*

Họ Rau răm (Polygonaceae)

Bộ phận dùng: Rễ củ.

Tính vị quy kinh: Vị đắng, chát, hơi ngọt, tính ấm. Quy kinh can, thận.

Công dụng: Dưỡng huyết, bổ can thận, nhuận tràng thông tiện, làm xanh tóc. Chủ trị: Huyết hư thiếu máu, đau lưng mỏi gối, di mộng tinh, khí hư, đại tiểu tiện ra máu, tóc bạc sớm, táo bón.

Thành phần hóa học: Hà thủ ô đỏ chứa 1,7% Antraglucosid trong đó có Crysophanol, Emodin, Rhein, 1,1% Protid, 42,2% tinh bột, 3,1% lipid, 4,5% chất vô cơ (K, Ca, Mn, Ni, Cr), 26,4% chất tan trong nước...

Tác dụng dược lý: có tác dụng chống viêm. Tăng đường máu, kích thích tiêu hoá, giữ huyết áp ổn định ở người huyết áp cao, giảm cholesterol và triglycerid huyết thanh, làm chậm sự phát triển của xơ vữa động mạch [59].

6. Ngưu tất nam



Tên khoa học: *Radix Achyranthis bidentatae*

Họ Rau dền (Amaranthaceae).

Bộ phận dùng: Rễ củ

Tính vị quy kinh: Vị đắng, chua, tính bình. Vào các kinh can, thận.

Công dụng: Dạng sống có tác dụng hành huyết tán ứ, tiêu ung lợi thấp.

Dạng chín có tác dụng bổ can ích thận, cường gân tráng cốt. Chủ trị: Ngưu tất sống chữa cổ họng sưng đau, mụn nhọt, đái rắt, đái máu, bế kinh, đẻ khó, sau đẻ sót nhau thai, chấn thương, ứ huyết. Ngưu tất sao tẩm chữa can thận hư, ù tai, đau lưng, mỏi gối, tay chân co quắp hoặc bại liệt.

Thành phần hóa học: protid, glucid, xơ, tro, acid oleanolic. Trong rễ ngưu tất có chứa chất saponin, khi thủy phân sẽ cho acid cloanic và galactose, rhamnose, glucose...

Tác dụng dược lý: có tác dụng chống viêm rõ rệt đối với giai đoạn cấp tính và mạn tính, saponin trong ngưu tất có tác dụng hạ cholesterol máu. Ngưu tất còn có tác dụng lợi tiểu, kích thích tử cung, ức chế co bóp tim và ruột, tác dụng giãn mạch [57].

7. Cây xấu hổ



Tên khoa học: *Mimosa pudica* L

Họ Trinh nữ (Mimosaceae).

Bộ phận dùng: Rễ

Tính vị quy kinh: Vị ngọt, tính hơi hàn, se và chứa một lượng độc nhỏ, quy kinh phế

Công dụng: trị phong thấp đau nhức, thông kinh hoạt lạc, kinh nguyệt không đều.

Thành phần hóa học: Rễ, lá, cành có chứa alkaloid là mimosin. Lá còn chứa crocetin, flavonoid, acid amin, acid hữu cơ, selen. Quả chứa selen. Hạt chứa 17% chất nhầy gồm: 8,7% acid palmitic, 8,9% stearic, oleic 31%, linoleic 51%, linolenic 4,4%.

Tác dụng dược lý: có tác dụng hoạt tính ức chế MAO, an thần, chống co giật, giảm đau [57].

8. Mạch môn



Tên khoa học: *Radix Ophiopogonis japonici*

Họ Mạch môn (Convallariaceae)

Bộ phận dùng: Rễ củ

Tính vị quy kinh: Vị ngọt, hơi đắng, tính hơi lạnh. Quy kinh tâm, phế, vị

Công dụng: dưỡng vị sinh tân, nhuận phế thanh tâm. Chủ trị: Phế nhiệt do âm hư, ho khan, ho lao, tân dịch thương tổn, thổ huyết, khái huyết, tâm phiền mất ngủ, tiêu khát, táo bón, lợi tiểu, chữa thiếu sữa.

Thành phần hóa học: Từ rễ củ mạch môn, 5 glucosid đã được phân lập trong đó có các genin là diosgenin, ruscogenin, choophiogenin.

Tác dụng dược lý: có tác dụng chống viêm, giảm ho rõ rệt, long đờm, tăng tiết dịch ở niêm mạc khí phế quản. Ngoài ra dịch chiết với nước của mạch môn còn có tác dụng hạ đường huyết kéo dài [57].

Phụ lục 2

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập- Tự do- Hạnh phúc

BẢN SAO

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ CAO LÔNG BÀI THUỐC

“XƯƠNG KHỚP NAM THANG”

1. **Nguồn gốc:** Cao lỏng bài thuốc “Xương khớp nam thang” là sản phẩm được chiết xuất từ bài thuốc “Xương khớp nam thang”. Cao lỏng được bào chế theo phương pháp chiết xuất được liệu với nước cất, chiết nóng (100°C, 2 lần), dịch chiết được loại tạp, cô đặc sau đó cô quay đến cao 3:1.

Công thức bài thuốc:

STT	Tên vị thuốc	Tên khoa học	Khối lượng
1	Thiên niên kiện	<i>Rhizoma Homalomenae occultae</i>	12g
2	Dây đau xương	<i>Caulis Tinosporae sinensis</i>	12g
3	Lá lốt (toàn cây)	<i>Herba Piperis lolot</i>	12g
4	Rễ đing lăng	<i>Radix Polysciacis</i>	12g
5	Hà thủ ô	<i>Radix Fallopieae Multiflorae</i>	12g
6	Ngưu tất nam	<i>Radix Achyranthis bidentatae</i>	10g
7	Rễ cây xấu hổ	<i>Mimosa pudica L</i>	10g
8	Mạch môn	<i>Radix Ophiopogonis japonici</i>	10g
Tổng			90g

2. Yêu cầu chất lượng

2.1 **Tính chất:** Cao lỏng, màu nâu, không có nấm mốc, mùi thơm, vị cay, đắng ngọt.

2.2 **Định tính:** Phải có phép thử định tính của các dược liệu Thiên niên kiện, Dây đau xương, Rễ đing lăng, Hà thủ ô, Ngưu tất nam, Mạch môn.

2.3 **Độ nhiễm khuẩn:** Tổng số vi sinh vật hiếu khí không quá 10^4 CFU/g; tổng số nấm không quá 10^2 CFU/g; không quá 10^2 CFU vi khuẩn Gram âm dung nạp mật trong 1g. Không có *Salmonella* trong 10g. Không có *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* trong 1g. Phụ lục 13.6, “Thử giới hạn nhiễm khuẩn”- ĐĐVN V.

3. Phương pháp thử

3.1 Tính chất

Thử bằng cảm quan, chế phẩm phải đạt các yêu cầu đã nêu.

3.2. Định tính

Theo phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4- ĐĐVN V)

3.3. Độ nhiễm khuẩn

Tiến hành thử theo phương pháp đĩa thạch, Phụ lục 13.6, “Thử giới hạn nhiễm khuẩn”- ĐĐVN V.

3. Đóng gói, ghi nhãn, bảo quản

- Đóng trong chai nhựa kín.
- Nhãn rõ ràng, đúng quy chế.
- Bảo quản nơi khô ráo, thoáng mát, tránh ánh sáng.

Hà Nội, ngày 16 tháng 03 năm 2023

CÔNG TY CP DƯỢC PHẨM PHÚ TÍN



GIÁM ĐỐC
ThS.BS: *Linh Minh Mẫn*



CÔNG CHỨNG VIÊN
Nguyễn Thị Nguyệt Hoa

QUY TRÌNH BÀO CHẾ CAO LÔNG BÀI THUỐC
“ XƯƠNG KHỚP NAM THANG”

(Bào chế tại công ty cổ phần dược phẩm Phú Tín,
ngày 16/03/2023, lô sx: XKNT16032023)

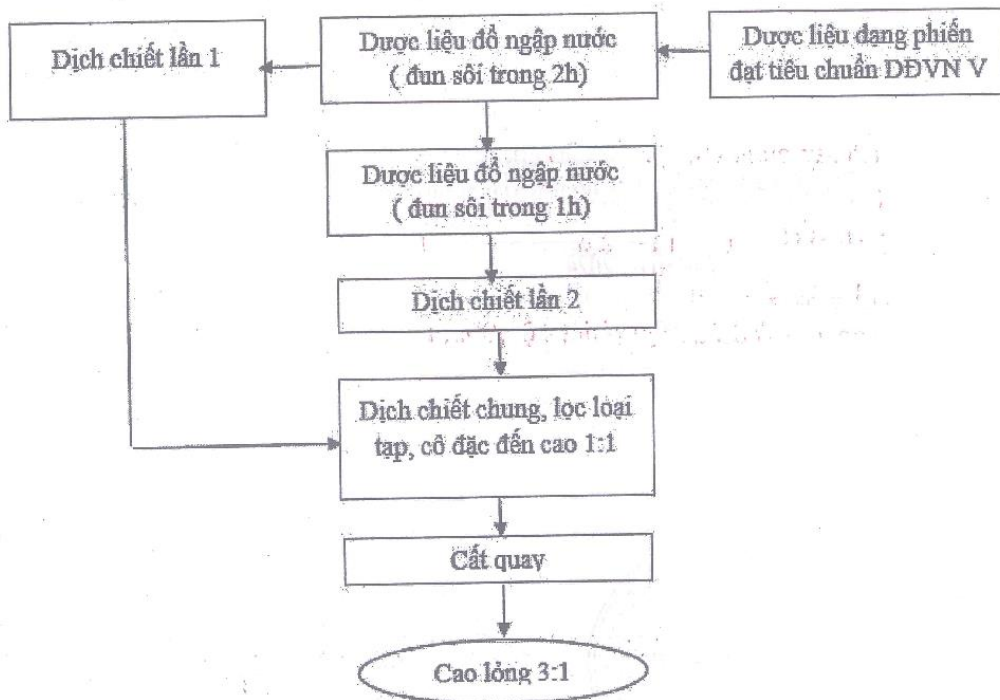
BẢN SAO

1. Thành phần bài thuốc

Bài thuốc “ Xương khớp nam thang”

STT	Tên vị thuốc	Tên khoa học	Khối lượng
1	Thiên niên kiện	<i>Rhizoma Homalomenae occulta</i>	12g
2	Dây đau xương	<i>Caulis Tinosporae sinensis</i>	12g
3	Lá lốt (toàn cây)	<i>Herba Piperis lolot</i>	12g
4	Rễ đing lăng	<i>Radix Polysciacis</i>	12g
5	Hà thủ ô	<i>Radix Fallopieae Multiflorae</i>	12g
6	Ngưu tất nam	<i>Radix Achyranthis bidentatae</i>	10g
7	Rễ cây xấu hổ	<i>Mimosa pudica L</i>	10g
8	Mạch môn	<i>Radix Ophiopogonis japonici</i>	10g
Tổng			90g

2. Sơ đồ quy trình bào chế cao lỏng



Hình 1. Quy trình bào chế cao lỏng bài thuốc “Xương khớp nam thang”.

3. Thuyết minh chi tiết quy trình:

3.1. Giai đoạn chuẩn bị:

- Kiểm tra vệ sinh và khả năng vận hành các máy móc và thiết bị liên quan,
- Kiểm tra và cân dược liệu,
- Chuẩn bị bao bì,
- Kiểm tra hồ sơ lô sản xuất kèm theo.

3.2. Giai đoạn chiết xuất:

- Dược liệu dạng phiến đạt tiêu chuẩn ĐDVN V, sau khi được cân theo tỷ lệ của bài thuốc được chuyển vào hệ thống chiết.

- Cho nước cất vào bình chiết, ngập trên dược liệu, đậy nắp kín, cài đặt các thông số và tiến hành chiết xuất theo điều kiện sau:

+ Lượng nước cất dùng chiết (lít): gấp 10 lần khối lượng dược liệu (kg).

+ Nhiệt độ chiết: 100°C.

+ Thời gian và số lần chiết: lần 1 đun sôi trong 120 phút, lần 2 đun sôi trong 60 phút.

Trong quá trình chiết xuất cần kiểm tra và kiểm soát tốt các thông số về nhiệt độ, thời gian và hoạt động của hệ thống chiết.

- Thu và xử lý dịch chiết:

Sau lần chiết đầu tiên, bơm dịch chiết sang bình trung gian qua hệ thống lọc dịch chiết. Sau đó cấp dung môi (nước cất) cho lần chiết thứ 2 và tiếp tục chiết xuất.

3.3. Quá trình cô đặc

+ Dịch chiết lần 1 và lần 2 được gộp chung và được chuyển từ bình chiết sang bình đựng trung gian nhờ bơm áp suất giảm và được lọc qua bộ lọc. Cô đặc dịch chiết đến cao lỏng ở điều kiện nhiệt độ 60°C, áp suất chân không 50 bar.

+ Tiếp tục cô quay đến cao lỏng 3:1.

Ngày 16 tháng 03 năm 2023

CÔNG TY CP DƯỢC PHẨM PHÚ TÍN



CÔNG CHỨNG VIÊN
Nguyễn Thị Nguyệt Hoa



GIÁM ĐỐC
ThS.BS: Đinh Minh Mẫn

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 độc tính cấp và tác dụng của bài thuốc "Xương khớp nam thang" trên mô hình thực nghiệm thoái hóa khớp gối" của Học viên Hồ Thị Lan 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**
CHUYÊN VĂN PHÒNG

Đại tá Chu Đức Thành