

ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG LÊN CƠ TRƠN TỬ CUNG CỦA VIÊN NÉN AN NGUYỆT KHANG TRÊN THỰC NGHIỆM

Nguyễn Thị Như Quỳnh, Đàm Đình Tranh, Đinh Thị Thu Hằng
và Trần Thanh Tùng✉

Trường Đại học Y Hà Nội

Nghiên cứu được tiến hành nhằm đánh giá tác dụng lên cơ trơn tử cung của viên nén An Nguyệt Khang trên thực nghiệm. Tác dụng lên cơ trơn tử cung của viên nén An Nguyệt Khang được đánh giá trên mô hình tử cung cô lập trên chuột cống trắng chủng Wistar và mô hình gây đau bụng kinh bằng oxytocin trên chuột nhắt chủng Swiss. Kết quả nghiên cứu trên mô hình tử cung chuột cống cô lập cho thấy viên nén An Nguyệt Khang cả 2 liều 132,4 mL/100ml Tyrod và 264,8 mg/100 mL Tyrod làm giảm rõ rệt tần số và biên độ co bóp của tử cung cô lập. Trên mô hình gây đau bụng kinh trên chuột nhắt trắng, viên nén An Nguyệt Khang liều 1,3 g/kg/ngày uống liên tục trong 7 ngày có xu hướng làm giảm cơn đau bụng trên chuột nhắt; trong khi viên nén An Nguyệt Khang liều 2,6 g/kg/ngày uống liên tục trong 7 ngày thể hiện tác dụng rõ rệt làm giảm cơn đau bụng trên chuột nhắt trắng. Như vậy, viên nén An Nguyệt Khang là sản phẩm có nguồn gốc từ dược liệu thể hiện tác dụng giảm co thắt cơ trơn tử cung và giảm đau do co thắt cơ trơn tử cung trên mô hình tử cung cô lập và mô hình đau bụng kinh trên thực nghiệm.

Từ khóa: Viên nén An Nguyệt Khang, đau bụng kinh, cơ trơn tử cung.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đau bụng kinh là hiện tượng hành kinh có đau bụng, có tính chất lặp lại và không có tổn thương vùng khung chậu nào được xác định.¹ Đây là triệu chứng phổ biến nhất ở phụ nữ trong độ tuổi sinh sản và là một trong những nguyên nhân thường xuyên gây ra đau bụng vùng khung chậu.² Theo Nagy H (2022), tỷ lệ đau bụng kinh ở phụ nữ ở độ tuổi sinh sản là từ 16,0% đến 91,0%.³ Đau bụng kinh gây ra ảnh hưởng lớn đến chất lượng cuộc sống, năng suất làm việc cũng như việc chăm sóc sức khỏe của phụ nữ; có khoảng 15% phụ nữ bị đau bụng kinh gặp phải các triệu chứng ở mức độ nghiêm trọng dẫn đến phải nghỉ học, nghỉ làm và tạm dừng các hoạt động trong cuộc sống.^{4,5}

Hiện nay đau bụng kinh chủ yếu được điều

trị bằng phương pháp nội khoa sử dụng các thuốc giảm đau như NSAIDs, thuốc tránh thai...² Tuy nhiên, những thuốc này có thể gặp các tác dụng phụ như viêm loét dạ dày – tá tràng, rối loạn tiêu hóa và rối loạn kinh nguyệt. Bên cạnh các thuốc này, các dược liệu có nguồn gốc tự nhiên cũng đã được sử dụng trong điều trị đau bụng kinh theo kinh nghiệm dân gian như Hương phụ, Đương quy...^{6,7} Tuy nhiên, cho đến nay chưa được nghiên cứu một cách có hệ thống để chứng minh tác dụng. Vì vậy, việc tìm kiếm và nghiên cứu những thuốc có tác dụng trong điều trị đau bụng kinh từ nguồn dược liệu với hiệu quả cao, ít độc tính, chi phí thấp là một vấn đề cấp thiết có giá trị khoa học và thực tiễn.

Viên nén An Nguyệt Khang (ANK) là một sản phẩm được kết hợp từ mười vị dược liệu gồm Hương phụ, Đương quy, Ngô thù du, Bạch Thược, Ngải cứu, Hoàng kỳ, Xuyên khung, Tục đoạn, Đại hoàng và Quế nhục. Tuy đã có một số nghiên cứu về tác dụng của một số loại dược liệu trong điều trị đau bụng kinh, nhưng

Tác giả liên hệ: Trần Thanh Tùng

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: tranthanhtung@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 07/08/2023

Ngày được chấp nhận: 17/09/2023

cho đến nay chưa có nghiên cứu nào đánh giá tính hiệu quả khi kết hợp các dược liệu này trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm đánh giá tác dụng trên cơ trơn tử cung của viên nén An Nguyệt Khang trên thực nghiệm.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Sản phẩm nghiên cứu

An Nguyệt Khang dạng viên nén bao phim được cung cấp từ Công ty CP Dược phẩm An Châu. Thuốc thử đạt tiêu chuẩn cơ sở. Dạng bào chế: viên nén bao phim. Quy cách đóng gói: Hộp 1 lọ x 100 viên.

Thành phần công thức An Nguyệt Khang: Mỗi viên hàm lượng 600mg cao khô dược liệu/viên được chiết xuất từ dược liệu đã qua chế biến chứa 740,8mg Hương phụ (*Rhizoma Cyperi*); 370,4mg Đương quy (*Radix Angelicae Sinensis*); 370,4mg Ngô thù du (*Frustus Evodiae rutaecarpae*); 370,4mg Bạch Thược (*Radix Pacomide Lactiflorae*); 370,4mg Ngải cứu (*Herba Artemisia vulgaris*), 370,4mg Hoàng kỳ (*Radix Astragalus membranacei*); 370,4mg Xuyên khung (*Rhizome Ligustici wallichii*); 185,2mg Tục đoạn (*Radix Dipsaci*); 123,5mg Địa hoàng (*Rehmannia glutinosa*); 61,7mg Quế nhục (*Cortex Cinnantomi*). Tá dược: Tinh bột sắn, Calci carbonat, Croscarmellose Sodium, Sodium starch glycolat, Aerosil, Talc, Magnesi stearat, HPMC E14, PG6000, Talc (trong màng bao), Titan oxyd.

Liều dùng dự kiến trên người: Mỗi lần 3 viên, ngày 3 lần.

Liều của thuốc thử dùng trên động vật nghiên cứu được quy đổi từ liều dùng dự kiến trên người (5400 mg/ngày).

Thuốc và hóa chất nghiên cứu

Ibuprofen: biệt dược Bosfen, dạng viên nén, hàm lượng 400mg, sản phẩm của Công ty cổ

phần dược phẩm Boston Việt Nam. Hyoscin butylbromid: Biệt dược Buscopan, dạng viên nén, hàm lượng 10mg, sản phẩm của Công ty TNHH Sanofi Aventis Việt Nam. Oxytocin: hàm lượng 10 UI/mL, dạng dung dịch tiêm, sản phẩm của Công ty Panpharma. Ethinyl estradiol: hàm lượng 1,5 mg/mL, dạng dung dịch tiêm, sản phẩm của Công ty TNHH Dược HANVIET. Các hóa chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học.

Dụng cụ, máy móc phục vụ nghiên cứu

Bể nuôi cơ quan cô lập và bộ ghi nhu động ruột trên cơ quan cô lập (Two-Chamber Isolated Organ Bath and 2 – Channel Recorder “Gemini” 7070) sản xuất tại Biological Reseach Apparatus, Italia. Cân kỹ thuật LX 2200C (hãng Precisa, Thụy Sĩ, số máy 7200474). Cân phân tích LX 220A (hãng Precisa, Thụy Sĩ, số máy 7000480). Bộ dụng cụ mổ chuột, kính lúp. Đồng hồ bấm giây. Kim đầu tù cho chuột uống, cốc chia vạch.

Đối tượng nghiên cứu

Mô hình tử cung cô lập: Chuột cống trắng chủng *Wistar*, thuần chủng, giống cái, trọng lượng 160 ± 20 g do Trung tâm cung cấp động vật thí nghiệm Đan Phượng - Hà Nội cung cấp.

Mô hình đau bụng kinh: Chuột nhắt trắng chủng *Swiss*, thuần chủng, giống cái, trọng lượng 20 ± 2 g do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp.

Chuột được nuôi trong điều kiện đầy đủ thức ăn và nước uống tại phòng thí nghiệm Bộ môn Dược lý, Trường đại học Y Hà Nội từ 7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu.

2. Phương pháp

Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại phòng thực nghiệm Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội. Mô bệnh học tử cung được đánh giá

tại Khoa giải phẫu bệnh, Bệnh viện Đa khoa Đức Giang.

Nghiên cứu trên mô hình tử cung cô lập

Nghiên cứu được tiến hành theo phương pháp của Li Z. và cộng sự (2017).⁸

Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhện ăn qua đêm.

Chuột được chia ngẫu nhiên vào 2 lô, mỗi lô 06 con.

- Lô 1: Dùng An Nguyệt Khang nồng độ 132,4 mg/100 mL Tyrod.

- Lô 2: Dùng An Nguyệt Khang nồng độ 264,8 mg/100 mL Tyrod.

Nghiên cứu được tiến hành như sau:

- Chuột cống trắng chủng *Wistar*, giống cái được tiêm màng bụng estradiol benzoat 0,1 mg/kg/ngày liên tục trong 2 ngày. Ngày thứ 3, giết chuột, thu lấy tử cung và cắt 1 đoạn $10 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$ theo trục dọc. Đoạn tử cung được gắn trong bể cô lập theo chiều dọc chứa dung dịch Tyrod (136 mM NaCl, 2,68 mM KCl, 1,8 mM CaCl_2 , 0,5 mM MgCl_2 , 11,9 mM NaHCO_3 , 0,32 mM NaH_2PO_4 and 5,04 mM glucose, pH 7,2) và duy trì ở nhiệt độ $37 \pm 0,2^\circ\text{C}$.

- Đánh giá độ căng của các vòng cơ được đo thông qua bộ chuyển đổi. Tiến hành đo trong vòng 10 phút để đối chứng. Sau đó, sử dụng oxytocin 1 mU/mL để kích thích co bóp tử cung.

- Thêm các nồng độ khác nhau của An Nguyệt Khang (liều 132,4 mg/100 mL Tyrod và liều 264,8 mg/100 mL Tyrod) vào dung dịch nuôi và ghi lại sự co bóp cơ trơn tử cung trong 10 phút. Đánh giá sự thay đổi tần số và biên độ của sự co bóp tử cung trước và sau khi dùng thuốc.

Nghiên cứu mô hình đau bụng kinh

Nghiên cứu tác dụng của thuốc trên chuột nhắt trắng giống cái, trưởng thành gây mô hình đau bụng kinh. Tiến hành nghiên cứu theo phương pháp của Jesunino và cộng sự (2018).⁹

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss*, giống cái, khỏe mạnh, trọng lượng 18 - 22g được chia ngẫu nhiên thành 6 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (Chứng sinh học): tiêm màng bụng NaCl 0,9% liên tiếp trong 3 ngày + uống nước cất liều 0,2 mL/10g chuột trong 7 ngày trước khi kết thúc nghiên cứu.

- Lô 2 (Mô hình): tiêm màng bụng estradiol benzoat 0,01 g/kg/ngày liên tiếp trong 3 ngày + uống nước cất liều 0,2 mL/10 g chuột trong 7 ngày trước khi kết thúc nghiên cứu.

- Lô 3 (Chứng dương 1): tiêm màng bụng estradiol benzoat 0,01 g/kg/ngày liên tiếp trong 3 ngày + uống ibuprofen 7,5 mg/kg chuột trong 7 ngày trước khi kết thúc nghiên cứu.

- Lô 4 (Chứng dương 2): tiêm màng bụng estradiol benzoat 0,01 g/kg/ngày liên tiếp trong 3 ngày + uống hyoscin butylbromid liều 4,8 mg/kg chuột trong 7 ngày trước khi kết thúc nghiên cứu.

- Lô 5 (An Nguyệt Khang liều 1): tiêm màng bụng estradiol benzoat 0,01 g/kg/ngày liên tiếp trong 3 ngày + uống An Nguyệt Khang liều 1,3 g/kg/ngày (tương đương với liều dự kiến dùng trên lâm sàng, hệ số quy đổi là 12) trong 7 ngày trước khi kết thúc nghiên cứu.

- Lô 6 (An Nguyệt Khang liều 2): tiêm màng bụng estradiol benzoat 0,01 g/kg/ngày liên tiếp trong 3 ngày + uống An Nguyệt Khang liều 2,6 g/kg/ngày (gấp 2 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng) trong 7 ngày trước khi kết thúc nghiên cứu.

Chuột được tiêm màng bụng NaCl 0,9% và estradiol benzoat liên tục trong 3 ngày. Ngày thứ 4, chuột bắt đầu được uống nước cất và thuốc thử liên tục trong 7 ngày. Vào ngày thứ 7 uống thuốc thử, 1h sau khi uống, tất cả chuột được tiêm màng bụng oxytocin 4 UI/con để gây đau bụng kinh. Cơ đau được xác định khi chuột co thắt thành bụng, co thắt vùng khung chậu, sau đó 2 chân sau duỗi ra.

Chỉ số đánh giá:

- Đếm số cơn đau trong 30 phút.
- Thời gian khởi phát cơn đau.
- Cân nặng của tử cung.
- Diện tích tử cung được đo bằng phần mềm Image J.

- Giải phẫu bệnh: lấy ngẫu nhiên 6 mẫu tử cung/lô, ngâm trong dung dịch formalin 10%. Mẫu bệnh phẩm được xử lý và kết luận về tình trạng viêm/phù nề của niêm mạc của tử cung và đánh giá sự xuất hiện/xâm nhập của tế bào mast thông qua đánh giá số lượng tế bào mast trên nội mạc tử cung tại Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Đa khoa Đức Giang.

Tiêu chuẩn đánh giá mức độ tổn thương trên giải phẫu bệnh: Các điểm tổn thương của niêm mạc tử cung được cho điểm với các mức điểm: 0 = bình thường; 1 = nhẹ (1% - 30%); 2 = vừa (31% - 70%) và 3 = nặng (> 70%).

Xử lý số liệu

Các số liệu được thu thập và xử lý trong Excel 2016 bằng phương pháp thống kê y sinh học T test-Student. Kết quả được trình bày dưới dạng $\bar{X} \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p \leq 0,05$.

III. KẾT QUẢ

1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của viên nén An Nguyệt Khang trên sự co bóp cơ trơn tử cung chuột cô lập

Sừng tử cung của chuột cống trắng được nuôi trong bể cô lập chứa dung dịch Tyrod được đo biên độ và tần số của tử cung trong 10 phút, sau đó nhỏ oxytocin vào trong bể ghi biên độ và tần số trong 10 phút tiếp và cuối cùng sẽ ghi biên độ và tần số của tử cung khi thêm lần lượt dung dịch An Nguyệt Khang ở 2 nồng độ.

Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của viên nén An Nguyệt Khang trên tần số co bóp tử cung cô lập

Lô	n	Tần số (nhu động/phút)		
		Trước dùng thuốc	Oxytocin	An Nguyệt Khang
Lô 1: An Nguyệt Khang (132,4 mg/100 mL Tyrod)	06	4,00 ± 0,89	16,17 ± 1,83 ***	11,17 ± 2,48 ****ΔΔ
Lô 2: An Nguyệt Khang (264,8 mg/100 mL Tyrod)	06	4,00 ± 1,41	14,33 ± 2,42 ***	3,50 ± 1,76 ****ΔΔΔ

Chú thích: *, **, ***: Khác biệt so với Trước dùng thuốc với $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$

Δ, ΔΔ, ΔΔΔ: khác biệt so với Oxytocin với $p < 0,05$; $p < 0,01$ và $p < 0,001$

Bảng 2. Ảnh hưởng của viên nén An Nguyệt Khang trên biên độ co bóp tử cung cô lập

Lô	n	Biên độ (mm)		
		Trước dùng thuốc	Oxytocin	An Nguyệt Khang
Lô 1: An Nguyệt Khang (132,4 mg/100 mL Tyrod)	06	8,50 ± 2,43	30,00 ± 8,20 ***	14,50 ± 3,08 **ΔΔ
Lô 2: An Nguyệt Khang (264,8 mg/100 mL Tyrod)	06	8,83 ± 2,32	29,67 ± 7,12 ***	3,67 ± 1,37 ****ΔΔΔ

Chú thích: *, **, ***: Khác biệt so với Trước dùng thuốc với $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$

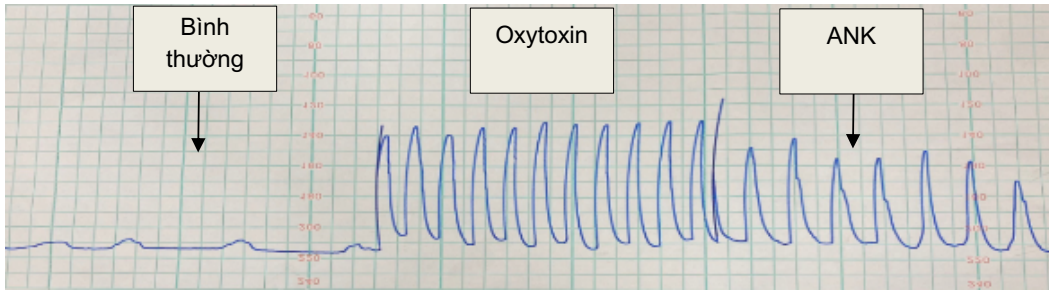
Δ, ΔΔ, ΔΔΔ: khác biệt so với Oxytocin với $p < 0,05$; $p < 0,01$ và $p < 0,001$

Kết quả trình bày ở bảng 3.1 và 3.2 cho thấy:

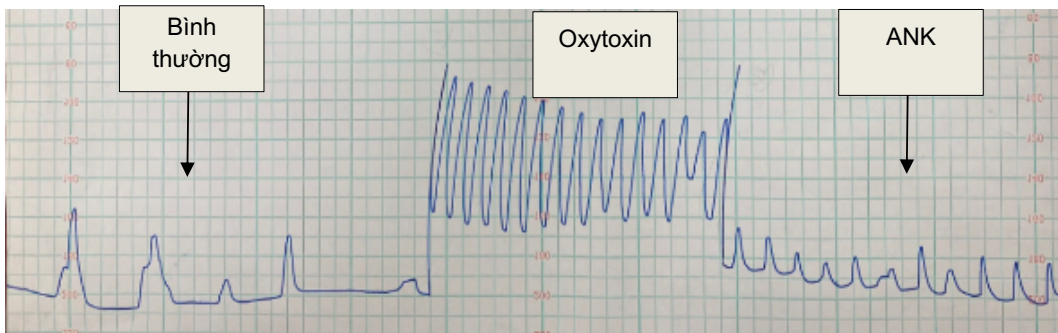
- Oxytocin làm tăng rõ rệt tần số và biên độ co bóp của tử cung chuột cô lập ($p < 0,01$).
- An Nguyệt Khang nồng độ 132,4 mg/100 mL và nồng độ 264,8 mg/100 mL Tyrod làm

giảm rõ rệt tần số (mức giảm tương ứng là 30,9% và 75,58%) và biên độ (mức giảm tương ứng là 51,67% và 87,63%) co bóp của tử cung chuột cô lập, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (lần lượt $p < 0,01$ và $p < 0,001$).

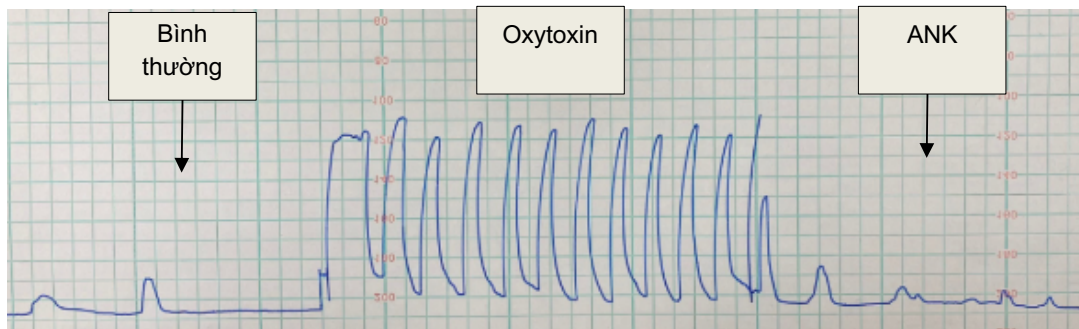
Một số hình ảnh ghi lại sự co bóp cơ trơn tử cung:



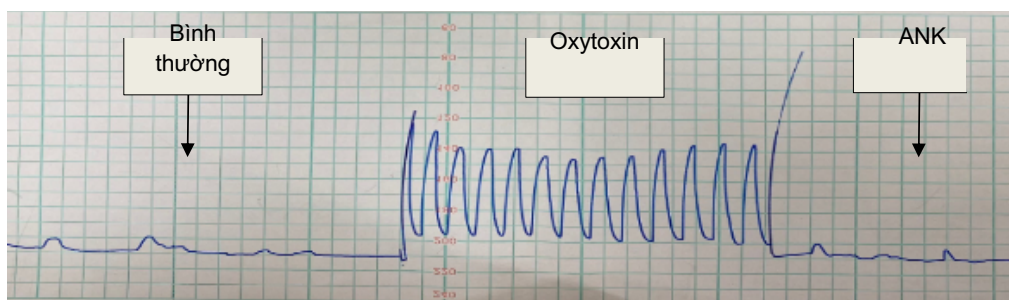
Hình 1. Hình ảnh co bóp tử cung chuột cống trước khi dùng thuốc và sau khi dùng oxytocin và An Nguyệt Khang nồng độ 132,4 mg/100 mL Tyrod



Hình 2. Hình ảnh co bóp tử cung chuột cống trước khi dùng thuốc và sau khi dùng oxytocin và An Nguyệt Khang nồng độ 132,4 mg/100 mL Tyrod



Hình 3. Hình ảnh co bóp tử cung chuột cống trước khi dùng thuốc và sau khi dùng oxytocin và An Nguyệt Khang nồng độ 264,8 mg/100 mL Tyrod



Hình 4. Hình ảnh co bóp tử cung chuột cống trước khi dùng thuốc và sau khi dùng oxytocin và An Nguyệt Khang nồng độ 264,8 mg/100 mL Tyrod

2. Kết quả nghiên tác dụng của viên nén An Nguyệt Khang lên co bóp cơ trơn tử cung trong mô hình đau bụng kinh

Bảng 3. Ảnh hưởng của viên nén An Nguyệt Khang đến thời gian khởi phát cơn đau và tổng số cơn đau trong 30 phút sau khi tiêm oxytocin trên chuột nhắt trắng

Lô nghiên cứu	n	Thời gian khởi phát cơn đau	Tổng số cơn đau (Số cơn/ 30 phút)
Lô 1: Chứng sinh học	10	18,64 ± 4,73	2,30 ± 0,82
Lô 2: Mô hình	10	2,49 ± 0,95***	19,90 ± 5,51***
Lô 3: Ibuprofen liều 30 mg/kg	10	3,08 ± 0,90	14,70 ± 5,50 ^Δ
Lô 4: Hyoscin butylbromid liều 4,8 mg/kg	10	3,55 ± 1,05 ^Δ	12,60 ± 4,25 ^{ΔΔ}
Lô 5: An Nguyệt Khang liều 1,3 g/kg/ngày	10	2,60 ± 0,70	17,60 ± 6,48
Lô 6: An Nguyệt Khang liều 2,6 g/kg/ngày	10	2,80 ± 0,99	14,20 ± 3,39 ^Δ

Chú thích: *, **, ***: khác biệt so với lô 1 (đối chứng) với $p < 0,05$; $p < 0,01$ và $p < 0,001$.

^Δ, ^{ΔΔ}, ^{ΔΔΔ}: khác biệt so với lô 2 (mô hình) với $p < 0,05$; $p < 0,01$ và $p < 0,001$.

Nhận xét:

- Lô mô hình có thời gian khởi phát cơn đau giảm đi rõ rệt so với lô chứng sinh học với $p < 0,001$ và có tổng số cơn đau trong 30 phút tăng rõ rệt so với lô chứng sinh học với $p < 0,001$.

- Viên nén An Nguyệt Khang liều 1,3 g/kg/ngày có xu hướng kéo dài thời gian khởi phát cơn đau trên chuột nhắt trắng và xu hướng làm

giảm số cơn đau so với lô mô hình, tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- Viên nén An Nguyệt Khang liều 2,6 g/kg/ngày có xu hướng kéo dài thời gian khởi phát cơn đau trên chuột nhắt trắng ($p > 0,05$) và làm giảm số cơn đau có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,05$.

Bảng 4. Ảnh hưởng của viên nén An Nguyệt Khang đến diện tích và trọng lượng tử cung của chuột nhắt trắng

Lô nghiên cứu	n	Diện tích tử cung (cm ²)	Trọng lượng tử cung (mg)
Lô 1: Chứng sinh học	10	0,70 ± 0,20	21,82 ± 7,62
Lô 2: Mô hình	10	1,25 ± 0,32***	73,83 ± 15,03***
Lô 3: Ibuprofen liều 30 mg/kg	10	1,11 ± 0,31	68,07 ± 15,32
Lô 4: Hyoscin butylbromid liều 4,8 mg/kg	10	1,03 ± 0,18	77,59 ± 21,38
Lô 5: An Nguyệt Khang liều 1,3 g/kg/ngày	10	1,08 ± 0,23	75,00 ± 13,03
Lô 6: An Nguyệt Khang liều 2,6 g/kg/ngày	10	1,16 ± 0,30	72,46 ± 13,22

Chú thích: *, **, ***: khác biệt so với lô 1 (Chứng sinh học) với $p < 0,05$; $p < 0,01$ và $p < 0,001$.

Δ, ΔΔ, ΔΔΔ: khác biệt so với lô 2 (Mô hình) với $p < 0,05$; $p < 0,01$ và $p < 0,001$.

Nhận xét:

- Ở lô mô hình, diện tích và trọng lượng tử cung tăng lên rõ rệt so với lô chứng sinh học với $p < 0,001$.

- Ibuprofen và hyoscin butylbromid không làm thay đổi có ý nghĩa thống kê diện tích và

trọng lượng tử cung so với lô mô hình ($p > 0,05$).

- An Nguyệt Khang cả 2 liều 1,3 g/kg/ngày và 2,6 g/kg/ngày không làm thay đổi có ý nghĩa thống kê diện tích và trọng lượng tử cung so với lô mô hình ($p > 0,05$).

Một số hình ảnh đại thể tử cung



Lô 1: Chứng sinh học



Lô 2: Mô hình



Lô 3: Ibuprofen



Lô 4: Hyoscin butylbromid



Lô 5: An Nguyệt Khang
liều 1,3 g/kg/ngày



Lô 6: An Nguyệt Khang
liều 2,6 g/kg/ngày

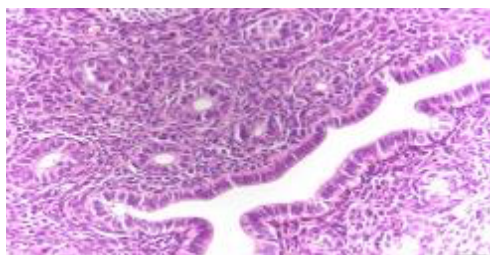
Hình 5. Một số hình ảnh đại thể tử cung chuột nhắt trắng

Nhận xét:

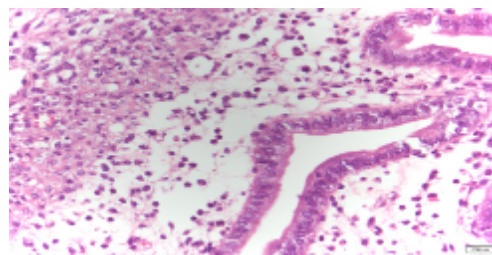
Ở lô mô hình, tử cung phù nề, tăng kích thước rõ rệt so với lô chứng sinh học. Ở các lô uống thuốc chứng dương (ibuprofen, hyoscin

butylbromid) và các lô uống thuốc thử (An Nguyệt Khang), hình ảnh đại thể tử cung không có sự khác biệt rõ rệt so với lô mô hình.

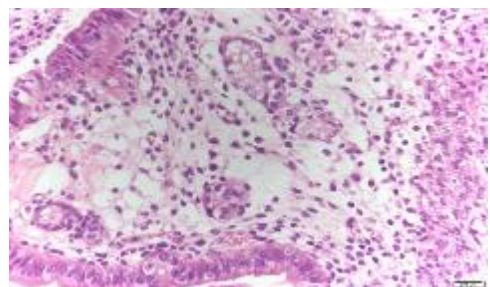
Ảnh hưởng của An Nguyệt Khang trên mô bệnh học tử cung



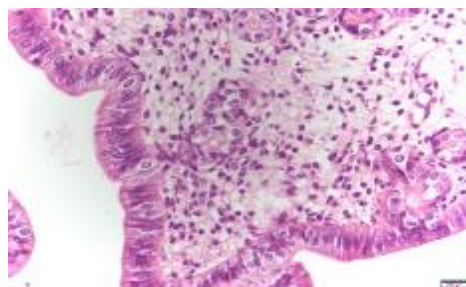
Lô 1: Chứng sinh học
(chuột số 02) (HE x 400)



Lô 2: Mô hình
(chuột số 17) (HE x 400)



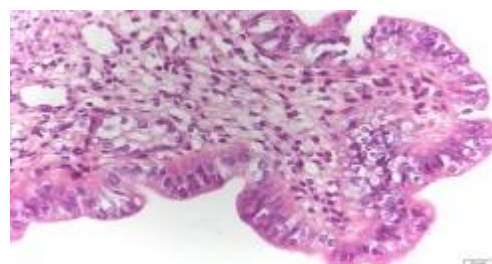
Lô 3: Ibuprofen
(chuột số 22) (HE x400)



Lô 4: Hyoscin butylbromid
(chuột số 34) (HE x 400)



Lô 5: An Nguyệt Khang liều 1,3 g/kg/ngày
(chuột số 44) (HE x400)



Lô 6: An Nguyệt Khang liều 2,6 g/kg/ngày
(chuột số 57) (HE x400)

Hình 6. Một số hình ảnh vi thể tử cung chuột nhắt trắng

Lô chứng sinh học có cấu trúc tử cung bình thường. Lô mô hình có tình trạng viêm và phù nề nặng rõ rệt so với lô chứng sinh học. Các lô chứng dương ibuprofen, hyoscin butylbromid

và các lô dùng An Nguyệt Khang đều có tác dụng làm giảm tình trạng phù nề và viêm so với lô mô hình trên hình ảnh vi thể tử cung.

Bảng 5. Ảnh hưởng của An Nguyệt Khang đến mức độ viêm và phù nề trên mô bệnh học tử cung

Lô nghiên cứu	n	Mức độ viêm	Mức độ phù nề
Lô 1: Chứng sinh học	06	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Lô 2: Mô hình	06	2,33 ± 0,82***	2,00 ± 0,89***
Lô 3: Ibuprofen liều 30 mg/kg	06	1,33 ± 0,52 ^Δ	1,17 ± 0,41
Lô 4: Hyoscin butylbromid liều 4,8 mg/kg	06	1,67 ± 0,82	1,83 ± 0,98
Lô 5: An Nguyệt Khang liều 1,3 g/kg/ngày	06	1,67 ± 0,52	1,92 ± 0,92
Lô 6: An Nguyệt Khang liều 2,6 g/kg/ngày	06	1,58 ± 0,80	1,25 ± 0,42

*Chú thích: *, **, ***: khác biệt so với lô 1 (Chứng sinh học) với $p < 0,05$; $p < 0,01$ và $p < 0,001$.*

Δ, ΔΔ, ΔΔΔ: khác biệt so với lô 2 (Mô hình) với $p < 0,05$; $p < 0,01$ và $p < 0,001$.

Ở các lô dùng các thuốc chứng dương (ibuprofen và hyoscin butylbromid), mức độ viêm và phù nề có xu hướng giảm so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa ở lô dùng ibuprofen với mức độ viêm giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p < 0,05$).

Ở các lô dùng An Nguyệt Khang liều 1,3 g/kg/ngày và 2,6 g/kg/ngày, mức độ viêm và phù nề có xu hướng giảm so với lô mô hình, tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 6. Ảnh hưởng của An Nguyệt Khang đến số lượng tế bào mast trên lát cắt vi thể tử cung

Lô nghiên cứu	n	Số lượng tế bào mast trên lát cắt vi thể tử cung
Lô 1: Chứng sinh học	06	0,00 ± 0,00
Lô 2: Mô hình	06	5,00 ± 2,00***
Lô 3: Ibuprofen liều 30 mg/kg	06	2,67 ± 1,37 ^Δ
Lô 4: Hyoscin butylbromid liều 4,8 mg/kg	06	2,50 ± 0,52 ^Δ
Lô 5: An Nguyệt Khang liều 1,3 g/kg/ngày	06	3,00 ± 1,26
Lô 6: An Nguyệt Khang liều 2,6 g/kg/ngày	06	2,50 ± 0,55 ^Δ

*Chú thích: *, **, ***: khác biệt so với lô 1 (Chứng sinh học) với $p < 0,05$; $p < 0,01$ và $p < 0,001$.*

Δ, ΔΔ, ΔΔΔ: khác biệt so với lô 2 (Mô hình) với $p < 0,05$; $p < 0,01$ và $p < 0,001$.

Ở lô mô hình, số lượng tế bào mast trên nội mạc tử cung tăng lên rõ rệt so với lô chứng sinh học với $p < 0,001$.

Ở các lô dùng thuốc chứng dương (ibuprofen và hyoscin butylbromid), số lượng tế bào mast trên nội mạc tử cung giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,05$.

Ở lô dùng An Nguyệt Khang liều 1,3 g/kg/ngày, số lượng tế bào mast trên nội mạc tử cung có xu hướng giảm so với lô mô hình, tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Ở lô dùng An Nguyệt Khang liều 2,6 g/kg/ngày, số lượng tế bào mast trên nội mạc tử cung giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,05$.

IV. BÀN LUẬN

Đau bụng kinh là triệu chứng phụ khoa phổ biến ở phụ nữ trong độ tuổi sinh sản, được đặc trưng bởi việc nội mạc tử cung sản xuất quá nhiều prostaglandin gây ra tình trạng co bóp tử cung quá mức dẫn đến thiếu máu cơ tử cung, thiếu oxy và sau đó là gây đau. Đối với các mô hình đau bụng kinh hiện có trên thế giới thường được sử dụng bởi các chất kích thích khác nhau chẳng hạn $PGF_{2\alpha}$, oxytocin, acetylcholin... để gây ra sự co bóp tử cung. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng oxytocin là chất kích thích bởi vì so với các chất kích thích khác thì oxytocin dễ áp dụng, chi phí rẻ hơn, phổ biến hơn và đồng thời oxytocin gây ra được đáp ứng co cơ trơn tử cung trên thực nghiệm.

Oxytocin là một hormon nanopeptid kích thích các cơn co thắt tử cung. Cơ chế gây ra tình trạng co thắt tử cung này là nhờ thông qua các thụ thể của oxytocin trên các tế bào nội mạc tử cung. Oxytocin có tác dụng đối đó là điều hòa tính co bóp của tử cung và kích thích tế bào nội mạc tử cung sản xuất prostaglandin. Khi oxytocin gắn với các receptor của oxytocin, các receptor này sẽ hoạt hóa phospholipase C làm giải phóng Ca^{2+} nội bào, đồng thời gây khử cực kênh Ca^{2+} nhạy cảm với điện thế, làm tăng nhập Ca^{2+} vào tế bào dẫn đến sự co bóp cơ trơn tử cung.

Tính cảm thụ của cơ trơn tử cung với oxytocin phụ thuộc nhiều vào sự có mặt của estrogen. Trong hai mô hình chúng tôi tiến hành

ở đây, chuột nhất trắng cái và chuột cống trắng cái đều được tiêm màng bụng estradiol 3 ngày trước khi bắt đầu sử dụng oxytocin để gây ra sự co bóp cơ trơn tử cung với mục đích nhằm tăng tính nhạy của của cơ trơn tử cung với oxytocin. Việc này thể hiện rõ ràng trong mô hình đau bụng kinh, số cơn đau của chuột nhất trắng trong 30 phút ở lô mô hình tăng rõ rệt so với lô chứng sinh học ($p < 0,001$). Ngoài ra, ở chuột ở lô mô hình được tiêm estradiol benzoat, chúng tôi cũng thấy rõ sự gia tăng diện tích tử cung so với lô chứng sinh học ($p < 0,001$) và trên mô bệnh học thấy được sự phù nề của lớp đệm, tân tạo tăng sinh mạch máu và sự xâm nhập của các tế bào viêm.

Trong mô hình cơ trơn tử cung cô lập, sừng tử cung của chuột cống trắng được nuôi trong bể cô lập và ghi sự co bóp của cơ trơn tử cung trong 10 phút. Sau khi thêm oxytocin, cả biên độ và tần số co bóp của tử cung tăng rõ rệt so với khi tử cung trong dung dịch nuôi ($p < 0,001$). Sau khi thêm An Nguyệt Khang lần lượt 2 liều 132,4 mL/100ml Tyrod ($p < 0,01$) và 264,8 mg/100ml Tyrod ($p < 0,001$) làm giảm rõ rệt tần số và biên độ co bóp của tử cung cô lập.

Đối với mô hình đau bụng kinh gây ra bởi oxytocin ở chuột nhất trắng cái, ở lô mô hình chúng tôi quan sát được rõ các cơn quặn đau của chuột sau khi tiêm oxytocin giống như các nghiên cứu đã được tiến hành trước đây, chuột co thắt thành bụng, co thắt vùng khung chậu, sau đó 2 chân sau duỗi ra. Kết quả nghiên cứu cho thấy An Nguyệt Khang liều 1,3 g/kg/ngày có xu hướng làm giảm cơn đau bụng trên chuột nhất trắng thông qua xu hướng kéo dài thời gian khởi phát cơn đau, xu hướng làm giảm số cơn đau trên chuột nhất trắng (giảm 11,56%), xu hướng cải thiện hình ảnh vi thể tử cung và xu hướng làm giảm số lượng tế bào mast trên nội mạc tử cung (giảm 40%) so với lô mô hình. An Nguyệt Khang liều 2,6 g/kg/ngày uống liên

tục trong 7 ngày có tác dụng làm giảm cơn đau bụng trên chuột nhất trắng thông qua xu hướng làm kéo dài thời gian khởi phát cơn đau, làm giảm rõ rệt số cơn đau trên chuột nhất trắng (giảm 28,64%), xu hướng cải thiện hình ảnh vi thể tử cung và làm giảm rõ rệt số lượng tế bào mast trên nội mạc tử cung (giảm 50%) so với lô mô hình.

Kết quả nghiên cứu phù hợp với các công bố về tác dụng của các vị dược liệu khi dùng riêng rẽ trên thế giới. Yilong Chen và cộng sự (2022) tiến hành phân tích Hương phụ và xử lý bằng phương pháp sắc ký lỏng cho thấy một hợp chất trong Hương phụ đã thể hiện tác dụng giảm rõ rệt các prostaglandin và leukotrien, từ đó thể hiện tác dụng giảm đau.¹⁰ Theo Quingxuan Xie và cộng sự (2020), z-ligustilide được phân lập trong Đương quy đã thể hiện tác dụng giảm sự co bóp tử cung sau khi sử dụng các chất kích thích tử cung co bóp như oxytocin, PGF₂₀, acetylcholin hay oxytocin.¹¹

V. KẾT LUẬN

Trên mô hình tử cung chuột cống trắng chủng *Wistar* cô lập, An Nguyệt Khang nồng độ 132,4 mg/100 mL Tyrod và nồng độ 264,8 mg/100 mL Tyrod làm giảm rõ rệt tần số và biên độ co bóp của tử cung.

Trên mô hình gây đau bụng kinh trên chuột nhất trắng chủng *Swiss*, khi uống liên tục sản phẩm nghiên cứu trong 7 ngày, An Nguyệt Khang liều 1,3 g/kg/ngày có xu hướng làm giảm cơn đau bụng trên chuột nhất trắng, trong khi đó, An Nguyệt Khang liều 2,6 g/kg/ngày có tác dụng làm giảm cơn đau bụng rõ rệt thông qua xu hướng làm kéo dài thời gian khởi phát cơn đau, làm giảm rõ rệt số cơn đau trên chuột nhất trắng, xu hướng cải thiện hình ảnh vi thể tử cung và làm giảm rõ rệt số lượng tế bào mast trên nội mạc tử cung.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Primary Dysmenorrhea Consensus Guideline. *J Obstet Gynaecol Can.* 2005; 27(12): 1117-1130.
2. Guimarães I, Póvoa AM. Primary Dysmenorrhea: Assessment and Treatment. *Rev Bras Ginecol E Obstet Rev Fed Bras Soc Ginecol E Obstet.* 2020; 42(8): 501-507.
3. Nagy H, Khan MA. Dysmenorrhea. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing; 2023. Accessed September 8, 2023.
4. Ju H, Jones M, Mishra G. The prevalence and risk factors of dysmenorrhea. *Epidemiol Rev.* 2014; 36: 104-113.
5. Dawood MY. Primary dysmenorrhea: advances in pathogenesis and management. *Obstet Gynecol.* 2006; 108(2): 428-441.
6. Sharghi M, Mansurkhani SM, Larky DA, et al. An update and systematic review on the treatment of primary dysmenorrhea. *JBRA Assist Reprod.* 2019; 23(1): 51-57.
7. Pellow J, Nienhuis C. Medicinal plants for primary dysmenorrhoea: A systematic review. *Complement Ther Med.* 2018; 37: 13-26.
8. Li Z, Wang L, Cong Y, et al. Flucrypyrim, a novel uterine relaxant, has antinociceptive and anti-inflammatory effects in vivo. *Sci Rep.* 2017; 7: 42040.
9. YANG L, CAO Z, YU B, CHAI C. An in vivo mouse model of primary dysmenorrhea. *Exp Anim.* 2015; 64(3): 295-303.
10. Chen Y, Li N, Wang D, Fan J, Chu R, Li S. Analysis of Raw and Processed Cyperi Rhizoma Samples Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry in Rats with Primary Dysmenorrhea. *J Vis Exp JoVE.* 2022; (190).
11. Xie Q, Zhang L, Xie L, et al. Z-ligustilide: A review of its pharmacokinetics and pharmacology. *Phytother Res PTR.* 2020; 34(8): 1966-1991.

Summary

EVALUATION EFFECT OF AN NGUYET KHANG TABLET ON UTERINE SMOOTH MUSCLE IN THE EXPERIMENT

The study was conducted to evaluate the effect of An Nguyet Khang tablets on uterine smooth muscle. The effect of An Nguyet Khang tablets on uterine smooth muscle was evaluated in an isolated uterus model in Wistar rats and an oxytocin-induced dysmenorrhea model in Swiss mice. The result on isolated rat uterine model showed that An Nguyet Khang tablets at both doses of 132.4 mL/100ml Tyrod and 264.8 mg/100ml Tyrod significantly reduced the frequency and amplitude of uterine contractions. With dysmenorrhea model-caused oxytocin in Swiss mice, An Nguyet Khang tablets with both doses of 1.3 g/kg/day and 2.6 g/kg/day taken continuously for 7 days tend to reduce abdominal pain. Thus, An Nguyet Khang tablets derived from medicinal herbs show a reduction of uterine smooth muscle contraction and consequently relieve pain due to uterine contraction in the isolated uterine model and dysmenorrhea model.

Keywords: An Nguyet Khang tablets, dysmenorrhea, uterine smooth muscle.