

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM

NGUYỄN THÀNH TRUNG

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP, BẢN TRƯỜNG
DIỄN VÀ TÁC DỤNG CHỐNG DỊCH ỨNG CỦA
VIÊN NANG THÔNG XOANG VƯƠNG HV
TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2020

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM

NGUYỄN THÀNH TRUNG

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP, BÁN TRƯỜNG
DIỄN VÀ TÁC DỤNG CHỐNG DỊCH ỨNG CỦA
VIÊN NANG THÔNG XOANG VƯƠNG HV
TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

Chuyên ngành Y học cổ truyền

Mã số: 8720115

Người hướng dẫn khoa học

PGS.TS. Lê Thị Thanh Nhạn

HÀ NỘI - 2020

LỜI CẢM ƠN

Hoàn thành luận văn này, với tất cả lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc, tôi xin được gửi lời cảm ơn đến Đảng ủy, Ban Giám đốc, Phòng đào tạo Sau Đại học, các Bộ môn, Khoa phòng Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam, là nơi trực tiếp đào tạo và tận tình giúp đỡ tôi trong quá trình học tập, nghiên cứu để hoàn thành luận văn.

Tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới PGS.TS. Lê Thị Thanh Nhạn, người thầy hướng dẫn luôn theo sát, thường xuyên giúp đỡ, cho tôi nhiều ý kiến quý báu, sát thực trong quá trình học tập, nghiên cứu để hoàn thành luận văn này.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban Giám đốc, Bộ môn Dược lý – Học viện Quân Y quan tâm, tạo điều kiện tốt nhất cho tôi trong việc nghiên cứu, thu thập, hoàn thiện số liệu để hoàn thành đề tài.

Tôi xin được gửi lời cảm ơn đến các thầy, các cô trong Hội đồng thông qua đề cương luận văn đã cho tôi nhiều ý kiến quý báu trong quá trình hoàn thiện luận văn này.

Tôi vô cùng biết ơn gia đình, bạn bè, anh chị em đồng đã động viên, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận văn.

Mặc dù đã cố gắng rất nhiều, nhưng luận văn không tránh khỏi những thiếu sót; tác giả rất mong nhận được sự thông cảm, chỉ dẫn, giúp đỡ và đóng góp ý kiến của các nhà khoa học, của quý thầy cô, các cán bộ quản lý và các bạn đồng nghiệp.

Xin chân thành cảm ơn!

Học viên

Nguyễn Thành Trung

LỜI CAM ĐOAN

Luận văn này do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn khoa học của PGS.TS. Lê Thị Thanh Nhạn. 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. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.

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

Hà Nội, tháng năm 2020

Người viết cam đoan

Nguyễn Thành Trung

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

TMH	Tai mũi họng
VMX	Viêm mũi xoang
YHCT	Y học cổ truyền
YHHĐ	Y học hiện đại
OVA	chicken egg albumin (Albumin trứng gà)
ALUM	Aluminum hydroxide
PBS	Phosphate-buffered saline
WHO	World Health Organization (Tổ chức Y tế Thế giới)

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Tổng quan về viêm xoang theo y học hiện đại.....	3
1.1.1. Định nghĩa và dịch tễ	3
1.1.1.1. Định nghĩa.....	3
1.1.1.2. Dịch tễ.....	3
1.1.2. Nguyên nhân	3
1.1.3. Cơ chế bệnh sinh.....	4
1.1.4. Triệu chứng chính trong viêm mũi xoang.....	5
1.1.4.1. Triệu chứng cơ năng	5
1.1.4.2. Triệu chứng thực thể.....	6
1.1.5. Tiêu chuẩn chẩn đoán viêm mũi xoang	6
1.1.6. Điều trị.....	6
1.2. Tổng quan về viêm mũi xoang theo y học cổ truyền.....	7
1.2.1. Viêm mũi xoang mạn tính theo y học cổ truyền.....	7
1.2.1.1. Bệnh danh	7
1.2.1.2. Bệnh nguyên	7
1.2.1.3. Bệnh cơ	8
1.2.1.4. Các thể bệnh.....	9
1.2.2. Một số bài thuốc điều trị viêm mũi xoang theo y học cổ truyền	10
1.3. Đại cương về phản ứng dị ứng	12
1.4. Tình hình nghiên cứu về viêm mũi xoang.....	14
1.4.1. Một số công trình nghiên cứu về viêm mũi xoang	14
1.4.2. Một số mô hình nghiên cứu độc tính cấp, bán trường diễn và chống dị ứng trên động vật thực nghiệm	15

1.4.2.1. Nghiên cứu độc tính cấp	15
1.4.2.2. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn	16
1.4.2.3. Nghiên cứu tác dụng chống dị ứng trên mô hình gây viêm mũi dị ứng ở chuột nhắt trắng.....	17
1.5. Tổng quan về viên nang Thông xoang vương HV	17
1.5.1. Xuất xứ viên nang Thông xoang vương HV	17
1.5.2. Công thức viên nang Thông xoang vương HV	18
1.5.3. Phân tích tác dụng của các vị thuốc	21
1.5.4. Những nghiên cứu đã từng thực hiện về viên nang Thông xoang vương HV	21
1.5.4.1. Nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp và mạn của viên nang Thông xoang vương HV	21
1.5.4.2. Nghiên cứu tác dụng điều trị viêm xoang của viên nang Thông xoang vương HV	22
1.6. Tổng quan về thuốc sử dụng đối chứng trong nghiên cứu.....	23
1.6.1. Hóa chất gây mô hình dị ứng	23
1.6.2. Cetirizin hydrochloride	24
CHƯƠNG 2: CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	26
2.1. Chất liệu, đối tượng nghiên cứu.....	26
2.1.1. Chế phẩm nghiên cứu.....	26
2.1.2. Động vật nghiên cứu	27
2.1.3. Hóa chất nghiên cứu.....	29
2.1.4. Dụng cụ, máy móc, thiết bị	29
2.2 Phương pháp nghiên cứu.....	30
2.2.1. Nghiên cứu độc tính cấp	30
2.2.2. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn	30

2.2.3. Nghiên cứu tác dụng chống dị ứng trên mô hình gây viêm mũi dị ứng ở chuột nhắt trắng.....	31
2.3 Phương pháp xử lý số liệu	31
2.4. Địa điểm và thời gian nghiên cứu	31
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	32
3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp	32
3.2. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn	32
3.2.1. Ảnh hưởng của Thông xoang HV lên tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng của chuột cống trắng khi dùng dài ngày.	33
3.2.1.1. Tình trạng chung	33
3.2.1.2. Sự thay đổi thể trọng của chuột	34
3.2.2. Ảnh hưởng của Thông xoang HV đối với một số chỉ tiêu huyết học của chuột.	35
3.2.3. Ảnh hưởng của Thông xoang HV đối với một số chỉ số sinh hóa của chuột.	44
.....	44
3.2.4. Đánh giá ảnh hưởng lên chức năng gan khi dùng Thông xoang vương HV dài ngày	45
3.2.5. Đánh giá ảnh hưởng lên chức năng thận khi dùng Thông xoang vương HV dài ngày	49
3.2.6. Kết quả mô bệnh học tạng của chuột thí nghiệm.....	51
3.3. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống dị ứng	55
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN	60
4.1. Về độc tính cấp, bán trường diễn của viên nang Thông xoang vương HV trên động vật thực nghiệm.	61
4.1.1. Về độc tính cấp của viên nang Thông xoang vương HV.....	61
4.1.2. Về độc tính bán trường diễn của Thông xoang vương HV.....	63
4.1.2.1. Tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng	65

4.1.2.2. Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV đến chức năng tạo máu	66
4.1.2.3. Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV đến gan.....	70
4.1.2.4. Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV đến thận.....	75
4.2. Về tác dụng chống dị ứng của viên nang Thông xoang vương HV trên động vật thực nghiệm.....	77
4.4 Bàn luận về tương đồng giữa Y học cổ truyền với Y học hiện đại về viêm mũi xoang.....	79
KẾT LUẬN	82
KIẾN NGHỊ.....	84
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
Phụ lục: HÌNH ẢNH NGHIÊN CỨU	
Phụ lục: QUY TRÌNH SẢN XUẤT TÓM TẮT VIÊN NANG THÔNG XOANG VƯƠNG HV	

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 2.1. Thành phần viên nang Thông xoang vương HV hàm lượng 500mg	26
Bảng 3.1. Độc tính cấp đường uống của Thông xoang vương HV	32
Bảng 3.2. Ảnh hưởng của Thông xoang HV đối với thể trọng chuột.....	32
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Thông xoang HV lên số lượng hồng cầu trong máu chuột	34
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Thông xoang HV lên hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột	35
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của Thông xoang HV lên hematocrit máu chuột	37
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của Thông xoang HV lên thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột.....	38
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Thông xoang HV lên số lượng bạch cầu trong máu chuột	39
Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Thông xoang HV lên tiểu cầu trong máu chuột ..	40
Bảng 3.9 Ảnh hưởng của Thông xoang HV đối với hoạt độ AST và ALT	44
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của Thông xoang HV lên chỉ số Billirubin TP trong máu chuột	45
Bảng 3.11. Ảnh hưởng của Thông xoang HV lên chỉ số Albumin trong máu chuột	49
Bảng 3.12 Ảnh hưởng của Thông xoang HV lên chỉ số cholesterol toàn phần trong máu	50
Bảng 3.13. Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV lên hàm lượng creatinin máu chuột.....	56
Bảng 3.14. Ảnh hưởng của Thông xoang HV lên thời gian cọ mũi của chuột nghiên cứu	57

Bảng 3.15. Ảnh hưởng của Thông xoang HV lên số lần hắt hơi của chuột nghiên cứu ($n = 10, \bar{x} \pm SD$).....	58
Bảng 3.16. Ảnh hưởng của Thông xoang HV lên tổng số lần hắt hơi và tổng thời gian cọ mũi của chuột trong 10 ngày nghiên cứu ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)	59
Bảng 3.17. Ảnh hưởng của Thông xoang HV lên số lượng bạch cầu ái toan xâm nhập và bề dày niêm mạc mũi của chuột ($n = 10, \pm SD$)	59

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1 Diễn biến phản ứng viêm	5
Hình 1.2 Các vị trong bài thuốc nghiên cứu	19
Hình 2.1. Viên nang Thông xoang vương HV	26

ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm mũi xoang mạn tính là một bệnh lý mạn tính phổ biến không chỉ các nước đang phát triển như Việt Nam mà ngay cả ở các nước có nền y tế phát triển thì tỉ lệ viêm mũi xoang mạn tính của người dân vẫn còn cao, như ở Mỹ là 15% [1], bệnh lý này cũng chiếm tỷ lệ 10 – 20 % ở Đức [2],[3].

Viêm mũi xoang tuy không trực tiếp đe dọa đến tính mạng người bệnh nhưng ảnh hưởng rất lớn đến chất lượng sống của người bệnh. Đồng thời, viêm mũi xoang mạn tính cũng phần nào làm giảm sút chất lượng lao động và học tập, do đó có ảnh hưởng nhất định đến kinh tế, xã hội.

Bệnh lý viêm mũi xoang xảy ra bao gồm quá trình viêm, phù nề, xuất tiết dịch, làm cản trở sinh lý bình thường của niêm mạc mũi xoang, làm xuất hiện các triệu chứng khó chịu cho người bệnh như là ngạt mũi, tắc mũi, chảy mũi, đau đầu... Quá trình này kéo dài làm thay đổi cấu trúc và sinh lý mũi xoang, ảnh hưởng đến sức khỏe và tinh thần người bệnh [4].

Y học hiện đại có nhiều phương pháp, nhiều loại thuốc điều trị viêm mũi xoang. Trong đó, chủ yếu là thuốc kháng sinh, kháng Histamin, corticoid ... dưới dạng thuốc uống, thuốc xịt, thuốc rửa trong, có hiệu quả cao trong điều trị. Tuy nhiên một trong các loại thuốc này như thuốc kháng Histamin H₁ và corticoid còn có nhiều tác dụng không mong muốn, có những bệnh nhân chống chỉ định một trong những loại thuốc này, thậm chí có những bệnh nhân dị ứng với các loại kháng sinh hoặc phát sinh hiện tượng lờn thuốc... nên cần phải thận trọng khi dùng kéo dài. Đây là một trong những tồn tại cần được khắc phục. Trong khi đó, y học cổ truyền có lịch sử lâu đời về điều trị viêm xoang mũi mạn tính, đang được lưu trữ trong các y văn cổ, và được sử dụng trên lâm sàng với hiệu quả ngày càng được khẳng định.

Bài thuốc “Thông xoang vương HV” đã được các bác sỹ tại Bệnh viện Tuệ Tĩnh sử dụng trong nhiều năm theo phương pháp kê đơn truyền thống

điều trị cho bệnh nhân viêm xoang mũi ở các mức độ khác nhau, đạt được hiệu quả cao trên lâm sàng. Trong quá trình điều trị cho bệnh nhân viêm mũi xoang mạn tính, chúng tôi nhận thấy bài thuốc có tác dụng cải thiện tốt các triệu chứng lâm sàng như hắt hơi, chảy nước mũi, nước mũi hôi... Tuy nhiên, sử dụng thuốc dưới dạng cao lỏng theo phương pháp kê đơn và sắc thuốc truyền thống còn nhiều bất tiện như bảo quản khó khăn, bất cập cho người sử dụng khi phải di chuyển... Vì vậy, chúng tôi đã cải dạng sử dụng bài thuốc dưới dạng viên nang và có tên là “Thông xoang vương HV”, với nhiều tiềm năng về điều trị cũng như giá trị kinh tế, hứa hẹn có thể đem lại một giải pháp mới trong điều trị viêm mũi xoang mạn tính.

Chúng tôi nhận thấy, cần thiết phải tiến hành những nghiên cứu để chứng minh tính an toàn của chế phẩm này, cũng như một số tác dụng cơ bản của chế phẩm, tạo cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo và để đưa viên thuốc vào sử dụng rộng rãi, vì vậy chúng tôi thực hiện nghiên cứu đề tài: *“Nghiên cứu độc tính cấp, bán trường diễn và tác dụng chống dị ứng của viên nang Thông xoang vương HV trên động vật thực nghiệm”*, với 2 mục tiêu:

1. Xác định độc tính cấp, bán trường diễn của viên nang Thông xoang vương HV trên động vật thực nghiệm.
2. Đánh giá tác dụng chống dị ứng của viên nang Thông xoang vương HV trên động vật thực nghiệm.

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan về viêm xoang theo Y học hiện đại

1.1.1. Định nghĩa và dịch tễ về viêm xoang

1.1.1.1. Định nghĩa

Theo Bộ Y tế, viêm mũi xoang được hiểu theo nghĩa rộng là viêm mũi và các xoang cạnh mũi gây ra bởi vi trùng, siêu vi trùng hay dị ứng dẫn tới phù nề, thu hẹp đường kính các lỗ xoang làm cho mủ và dịch viêm ứ đọng trong xoang do không thoát được ra ngoài. Bệnh thường biểu hiện với các triệu chứng đau nhức âm ỉ vùng mặt, ngạt mũi, giảm ngửi, ho, khịt khạc đờm, soi mũi thấy khe giữa, đôi khi cả khe trên có mủ. Người bệnh có thể bị sốt, kém tập trung, người mệt mỏi.

Phân loại viêm mũi xoang theo thời gian bị viêm gồm có: cấp tính (từ 4 tuần trở lại), bán cấp tính (4-12 tuần) và mạn tính (trên 12 tuần). Có thể phân chia thành viêm mũi xoang cấp tính tái phát (lớn hơn hoặc bằng 4 đợt trong một năm mà không có triệu chứng của viêm mũi xoang mạn tính) và viêm mũi xoang cấp tính kịch phát [4],[6].

1.1.1.2. Dịch tễ

Viêm xoang là một bệnh rất thường gặp ở nước ta, chiếm tỷ lệ 2 - 5% dân số nói chung, có xu hướng ngày một tăng lên.

Bệnh có thể gặp ở mọi lứa tuổi, không phân biệt về giới.

Xoang bị viêm sớm nhất, ngay từ lúc mới sinh, là xoang sàng, xoang hàm thường bị viêm từ lúc 4 - 5 tuổi, các xoang khác thường viêm muộn hơn.

Các yếu tố nguy cơ gây bệnh viêm xoang có rất nhiều, như môi trường ô nhiễm, thời tiết thay đổi, điều kiện ăn ở, nơi làm việc ẩm thấp, không vệ sinh, hoá chất độc hại, khói, bụi, nghề nghiệp...

Viêm xoang thường kết hợp viêm mũi, ít gặp viêm xoang đơn độc [6].

1.1.2. Nguyên nhân gây viêm mũi xoang

Viêm mũi xoang (VMX) gồm có cấp tính (từ 4 tuần trở lại), bán cấp tính (4-12 tuần) và mạn tính (trên 12 tuần).

Viêm mũi xoang mạn tính thường xảy ra sau viêm mũi xoang cấp tính, thường xảy ra do tình trạng thông khí và dẫn lưu mủ bị cản trở hoặc do sai sót trong quá trình điều trị. Hoặc do vi trùng bị tích lũy trong các xoang sàng vốn là các hốc nằm sâu, có cấu trúc sắp xếp như tổ ong. Hoặc do ngay từ đầu tình trạng viêm mũi xoang cấp không được điều trị tích cực và dứt điểm thì sẽ chuyển sang viêm mũi xoang mạn tính [7].

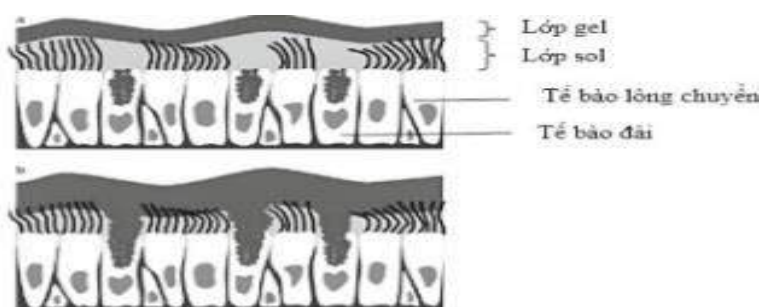
Viêm mũi xoang do nhiễm khuẩn thường thứ phát sau khi nhiễm siêu vi, sau đợt viêm mũi, viêm amidan, sâu răng... Viêm mũi xoang dị ứng do niêm mạc mũi xoang phản ứng miễn cảm với các yếu tố kích thích như khói bụi, hóa chất..., viêm mũi xoang mạn tính trên nền viêm mũi xoang dị ứng.

Nguyên nhân và yếu tố thuận lợi khác như dị hình, khối u vùng mũi xoang, chấn thương, bệnh trào ngược dạ dày – thực quản, rối loạn chuyển hóa, suy giảm miễn dịch, môi trường ô nhiễm [4], [7], [8].

1.1.3 Cơ chế bệnh sinh

3 yếu tố chủ yếu trong sinh lý bình thường của mũi xoang là: độ thông thoáng của lỗ khe, chức năng lông chuyển và chất lượng của sự chế tiết nhầy.

Lông chuyển đòi hỏi phải có dịch vừa phải để đập và hoạt động bình thường. Môi trường lông chuyển bình thường được tạo bởi lớp nhầy đôi: lớp nhầy nông quánh gọi là lớp gel, lớp thanh dịch bên dưới gọi là lớp sol.



Hình 1.2. Chết tiết nhày

Sinh bệnh học đầu tiên có ý nghĩa quan trọng nhất là phù nề lớp niêm mạc quanh lỗ thông tự nhiên. Sự tắc nghẽn lỗ thông xoang tạo ra sự kém thông khí ở các xoang bị ảnh hưởng. Khi chức năng lông chuyển bị rối loạn, lớp phủ nhày không hoạt động bình thường, yếu tố đề kháng tại chỗ bị giảm. Khi lỗ thông bị tắc, chất tiết bị ứ lại. Ban đầu, có sự ra tăng thoáng qua áp suất trong mũi theo sau áp suất âm trong mũi là hậu quả của sự giảm oxy trong xoang. Sự thở qua mũi giảm là hậu quả của nhiều yếu tố gây phù niêm mạc và giảm oxy. Hắt hơi, sổ mũi, hỉ mũi làm cho vi trùng có thể đi vào trong xoang và lần nữa sự ứ đọng chất tiết xảy ra. Chức năng lông chuyển bị giảm, độ quán tính của dịch mũi thay đổi là môi trường phát triển cho vi trùng.

Biểu mô lót trong mũi xoang với chức năng vận chuyển nhày của lông chuyển rất quan trọng với sinh lý bình thường của mũi xoang. Vì thế, hiểu các yếu tố làm suy giảm chức năng vận chuyển nhày lông chuyển để hiểu viêm mũi xoang. Trong quá trình điều trị cho bệnh nhân viêm mũi xoang, điều đầu tiên là xác định xem có yếu tố tại chỗ, tại vùng hay yếu tố toàn thân phối hợp không. Nhiễm trùng đường hô hấp trên thường cũng có thể ảnh hưởng đến niêm mạc xoang bởi biểu mô của xoang giống biểu mô của mũi.

Tóm lại, 3 quá trình chủ yếu dẫn đến viêm mũi xoang là: tắc nghẽn lỗ thông mũi xoang, ứ đọng chất tiết trong xoang và viêm nhiễm xoang.

1.1.4. Triệu chứng chính trong viêm mũi xoang

1.1.4.1. Triệu chứng cơ năng

Chủ yếu là ngạt mũi, chảy mũi, các biểu hiện dị ứng ...

Ngạt mũi, tắc mũi thường xuyên, liên tục hay từng đợt, có thể cả 2 bên mũi.

Chảy nước mũi, xì mũi hay khạc mũi nhầy hoặc đặc thường xuyên. Mũi chảy xuống họng làm cho bệnh nhân phải đằng hắng, thường thấy vướng mắc ở họng. Đây là triệu chứng cơ năng rất có giá trị chẩn đoán [7].

54% bệnh nhân có biểu hiện dị ứng, thường xuất hiện khi thay đổi thời tiết. Nhiều bệnh nhân trong năm đầu biểu hiện của một viêm mũi xoang dị ứng nhưng khi đến khám lại điển hình của một viêm mũi xoang mũi [9].

Ngoài ra có thể có đau nhức vùng mặt, mắt hoặc giảm cảm giác ngửi, kèm theo bệnh nhân có thể bị đau đầu, ho, mệt mỏi, hơi thở hôi...

1.1.4.2. Triệu chứng thực thể

Soi mũi có thể thấy dịch mũi nhầy hoặc mũi đặc ở khe giữa, đôi khi khe trên; Niêm mạc hốc mũi viêm phù nề hoặc thoái hoá thành polyp; Ngoài ra có thể thấy các cấu trúc giải phẫu bất thường như: vẹo lệch vách ngăn, bóng hơi cuốn giữa, V.A quá phát,... [9],[10].

1.1.5. Tiêu chuẩn chẩn đoán viêm mũi xoang

Dựa vào các triệu chứng chính gồm đau và nhức ở vùng mặt, sưng và nề vùng mặt, tắc ngạt mũi, chảy mũi, dịch đổi màu hoặc mũi ra mũi sau, ngửi kém hoặc mất ngửi, có mũi trong hốc mũi, sốt.

Các triệu chứng phụ gồm đau đầu, thở hôi, mệt mỏi, đau răng, ho, đau nhức ở tai

Đối với viêm mũi xoang mạn, có thể thấy các triệu chứng thực thể qua soi mũi, gồm dịch mũi nhầy hoặc mũi đặc ở khe giữa, đôi khi khe trên; Niêm mạc hốc mũi viêm phù nề hoặc thoái hoá thành polyp; Có thể thấy các cấu trúc giải phẫu bất thường như: vẹo lệch vách ngăn, bóng hơi cuốn giữa, V.A quá phát,... Các triệu chứng này kéo dài trên 12 tuần [4], [6].

1.1.6. Điều trị

Nguyên tắc điều trị gồm có lưu thông đường thở, làm sạch các hốc xoang, khôi phục hoạt động của niêm mạc mũi xoang, làm thông thoáng đường dẫn lưu tự nhiên của xoang.

Việc điều trị cần kết hợp điều trị nội khoa và ngoại khoa, cụ thể như sau:

(1) Nội khoa là phương pháp căn bản, chỉ khi điều trị nội khoa tích cực nhưng không hiệu quả mới điều trị ngoại khoa [1].

Điều trị nội khoa gồm điều trị tại chỗ và điều trị toàn thân.

Điều trị tại chỗ gồm xì sạch mũi, nhỏ mũi bằng thuốc co mạch; Khí dung bằng thuốc kháng sinh, kháng viêm (thường dùng nhóm steroid); Xông hơi nước nóng pha tinh dầu.

Điều trị toàn thân gồm làm lỏng chất xuất tiết bằng cách điều chỉnh tiết dịch nhày nhằm làm loãng lượng nhày mủ trong các xoang tạo điều kiện dẫn lưu mủ nhày ra ngoài [8],[11]; Dùng thuốc chống viêm để làm giảm phù nề, giảm tiết dịch; Dùng thuốc kháng sinh theo kháng sinh đồ, nếu không có kháng sinh đồ thì dùng kháng sinh phổ rộng điều trị bao vây; Nâng cao thể trạng, tăng sức đề kháng.

Điều trị ngoại khoa được áp dụng khi điều trị nội khoa tích cực không hiệu quả hoặc có biến chứng.

Ngày nay, phẫu thuật nội soi chức năng mũi xoang được áp dụng rộng rãi ở nước ta. Phương pháp mổ nội soi mũi xoang thời gian phẫu thuật được rút ngắn và đem lại kết quả cao hơn, tránh được nhiều tai biến [12],[13]. Tuy nhiên, phẫu thuật chỉ tạo điều kiện chứ không khỏi bệnh nên cần chú trọng các phương pháp điều trị nội khoa sau phẫu thuật và các biện pháp phòng bệnh, tránh các tác nhân kích thích dễ gây dị ứng [14], [15], [16].

1.2. Tổng quan về viêm mũi xoang theo Y học cổ truyền

1.2.1 Viêm mũi xoang mạn tính theo Y học cổ truyền

1.2.1.1 Bệnh danh

YHCT không có bệnh danh “viêm mũi xoang”. Viêm mũi xoang thuộc phạm vi các chứng “ty uyên”, “ty cừ”, “não lậu” căn cứ vào chứng trạng biểu hiện rõ nhất của bệnh nhân [17],[18].

1.2.1.2 Bệnh nguyên

Theo học thuyết thiên nhân hợp nhất, cơ thể con người luôn thay đổi cùng với sự vận hành của tự nhiên, khi âm dương trong cơ thể cân bằng thì sức khỏe thịnh vượng, mất cân bằng thì bệnh phát sinh.

Chính khí của cơ thể suy yếu, gặp lúc tà khí đang mạnh, ngoại tà xâm phạm vào cơ thể, tà khí giao tranh, chính khí không đủ mạnh để thắng tà khí hoặc thất tình thái quá, ẩm thực thất thường, lao lực quá độ... dẫn đến âm dương mất cân bằng mà phát sinh bệnh tật.

Mũi là nơi khai khiếu của phế, phế khí thông ra mũi. Viêm xoang cấp và mạn là do nhiệt độc của ngoại tà phạm phế, phát ra mũi mà thành bệnh.

Viêm mũi xoang mạn tính nằm trong hoàn cảnh tạng phủ khí huyết hao tổn: do bẩm sinh bất túc, bệnh lâu ngày không khỏi, lao động và nghỉ ngơi không hợp lý, hoặc phòng dục quá độ làm tinh huyết tạng phủ suy giảm mà phát sinh bệnh tật [18], [19].

1.2.1.3 Bệnh cơ

(1) Phong nhiệt, là ngoại tà phong nhiệt phạm phế làm ảnh hưởng chức năng tuyên phát và túc giáng khiến thanh khiếu bị bế tắc, thủy dịch không thông mà gây bệnh.

(2) Tỳ vị thấp nhiệt, là do thấp tà phạm vào tỳ vị, khí uất hóa hỏa hoặc do ăn uống thất thường làm tổn thương tỳ vị nên vận hóa, thu nạp không điều hòa dẫn đến thấp trọc nội sinh, lâu ngày hóa nhiệt. Thấp ngăn trở lưu chuyển của khí, nhiệt thượng viêm, thấp nhiệt kết hợp mà khiếu không thông nên chảy nước mũi vàng, ngạt mũi.

(3) Can đởm hỏa nhiệt, là can không chủ được sơ tiết, can khí uất lại hóa hỏa. Kinh mạch của can đởm đi tới cạnh mũi, kinh đởm có nhiệt cũng dẫn đến chứng bệnh. Ngoại tà xâm phạm can đởm theo đường kinh đến khiếu mũi làm khí huyết ngưng trệ: ngạt mũi, chảy nước mũi vàng, đau đầu.

(4) Khí trệ huyết ứ, là do thấp tà xâm nhập hoặc tạng phủ không điều hòa làm khí trệ không hành được huyết, khí huyết ứ trệ gây ra chứng bệnh (ngạt

mũi). Khí trệ huyết ứ lâu ngày, đàm kết tích tụ dẫn đến khiếu (mũi) bị ứ tắc mà gây bệnh.

(5) Tạng phủ hư tổn, gồm có phế khí hư, tỳ vị khí hư, tạng thận hư lao.

Phế khí hư, do phế khai khiếu ra mũi, phế khí thông với mũi, bệnh mũi và phế có quan hệ mật thiết với nhau. Phế khí hư, vệ khí bất túc, tà khí thừa cơ xâm phạm, phế khí không thông, bế ứ không tuyên giáng làm khí huyết, tân dịch đình trệ làm tắc trở thanh khiếu.

Tỳ vị khí hư, vì tỳ vị là gốc của hậu thiên, nguồn sinh hóa của khí huyết. tỳ hư thường do tiên thiên bất túc, ăn uống không điều độ, lao thương quá độ, lo nghĩ quá nhiều làm tỳ vị hư suy, nguồn sinh hóa khí huyết không đủ, thanh khiếu không được nuôi dưỡng tốt, thủy thấp không kiện vận mà ngưng đọng bí tắc thanh khiếu sinh các chứng bệnh sung nề (polyp, thoái hóa cuốn mũi), khí đoản, ngại nói, chán ăn.

Tạng thận hư lao, thận là gốc tiên thiên, chủ tàng tinh sinh tủy, nuôi dưỡng và quản lý các khiếu. Nguyên nhân thường do bẩm tố tiên thiên bất túc, lao lực quá độ, lao thương lâu ngày làm thận tinh không đầy đủ, các khiếu thiếu dưỡng. Thận dương hư mất chức năng khí hóa, thăng thanh giáng trọc làm thủy dịch ở dưới tràn lên thanh khiếu gây chảy nước mũi, âm phong hợp với trọc khí của thận xông lên khiếu làm ngạt mũi, đau đầu [17], [19]

1.2.1.4. Các thể bệnh

(1) Viêm mũi mạn tính do phong hàn, phong nhiệt làm phế khí mất điều hòa.

Pháp chữa: khu phong, tuyên phế.

(2) Viêm mũi dị ứng: Do phế khí và vệ khí không khống chế được phong hàn xâm nhập mà gây bệnh.

Pháp chữa: bổ khí cố biểu, khu phong tán hàn.

(3) Viêm xoang, gồm viêm xoang dị ứng và viêm xoang nhiễm trùng.

Viêm xoang dị ứng là do phong hàn kết hợp phế khí hư, vệ khí hư.

Pháp chữa: bổ khí cố biểu, khu phong tán hàn.

Viêm xoang nhiễm trùng là do phong nhiệt, nhiệt độc gây ra, có thể cấp tính hoặc mạn tính:

Cấp tính là bệnh mới phát, ngạt mũi, chảy mũi vàng, có mủ, ấn xoang hàm và xoang trán đau, viêm hốc mũi kèm theo các chứng trạng toàn thân như sợ lạnh, sốt, đau đầu.

Pháp chữa: Thanh phế nhiệt giải độc.

Mạn tính là bệnh kéo dài, xoang hàm và xoang trán ấn đau, thường chảy mũi có mủ, mũi hôi, khứu giác giảm, nhức đầu thường xuyên.

Pháp chữa: dưỡng âm, nhuận táo, thanh nhiệt giải độc [17].

Trong “Bệnh ngũ quan Y học cổ truyền”, Trần Thúy viết:

Viêm xoang có nguyên nhân do cơ địa dị ứng nhiễm khuẩn (huyết nhiệt), dị ứng do lạnh (phế khí hư và khí hư) gặp phải các tác nhân phong hàn, phong nhiệt, nhiệt độc... mà gây bệnh, được chia làm 2 thể để chữa:

(1) Viêm xoang dị ứng: thường do phong hàn kết hợp với phế khí hư và vệ khí hư. Pháp chữa: bổ phế cố biểu, khu phong tán hàn. Dùng bài: Ngọc bình phong tán.

(2) Viêm xoang nhiễm khuẩn:

-Cấp tính: bệnh mới phát, ngạt mũi, chảy nước mũi vàng, có mủ, xoang hàm và xoang trán ấn đau, sợ lạnh, sốt, nhức đầu. Pháp chữa: Thanh phế tiết nhiệt, giải độc. Dùng bài: Tân di thanh phế ẩm.

-Mạn tính: bệnh kéo dài, xoang hàm và xoang trán ấn đau, thường chảy nước mũi có mủ, mũi hôi, khứu giác giảm, nhức đầu thường xuyên. Pháp chữa: Dưỡng âm nhuận táo, thanh nhiệt giải độc [20].

1.2.2. Một số bài thuốc điều trị viêm mũi xoang theo Y học cổ truyền

(1) Tán phong thanh nhiệt tán

Tân di 100g Khương hoạt 30g

Bạch chỉ 30g Phòng phong 20g

Hoàng cầm 40g Cam thảo 20g

Chủ trị: Mũi hay chảy nước vàng đục, mũi hôi, ngọt ngạt, trán và thái dương bứt rứt khó chịu, đau thường vào thời gian cố định trong ngày, lâu ngày sẽ ra mủ hôi, đầu choáng, hoa mắt, hay quên, mệt mỏi.

Cách dùng và liều lượng: Các vị sao qua, tán bột mịn. Mỗi lần uống 10g hòa vào nước sôi, quấy đều uống cả bã trước cơn đau 30 phút.

(2) Thanh phế giải độc thang

Kim ngân hoa 20g Bồ công anh 10g

Khổ qua 10g Giáp qua 10g

Chi tử 08g Hoắc hương 08g

Thương nhĩ tử 08g Lá ngũ trảo 06g

Bạc hà 06g Bông sứ tây 06g

Chủ trị: nhức đầu trước trán, ngạt mũi, chảy nước mũi vàng đục, chân mày và quanh mắt đỏ, đau, người ớn lạnh, phát sốt.

Cách dùng và liều lượng: 01 thang cho 800ml nước vào sắc còn 200ml, để nguội chia 02 lần uống trong ngày [20].

(3) Tân chi thấu khiếu

Tân di 09g Bạc hà 07g,

Hoàng bá 15g Bạch chỉ 10g

Chủ trị: chảy nước mũi vàng, đau đầu, ngạt mũi, tắc mũi.

Cách dùng và liều lượng: Sắc 2 lần, trộn đều 2 nước sắc. Ngày 01 thang chia 02 lần.

(4). Thông xoang tán Nam dược

Gồm bộ sản phẩm thuốc “Xịt thông xoang Nam dược” và thuốc viên “Thông xoang tán Nam dược”.

Lá trà, pha nóng trong 1 cốc nước, cho thêm một ít muối, khi nhiệt độ hạ xuống sờ thấy âm ẩm thì tay trái bưng cổ trà, tay phải bịt lỗ mũi phải, hít nước

trà vào mũi trái sau đó thở đẩy ra, làm liên tục 3-4 lần. Lặp lại như vậy với bên phải. Ngày làm 02 lần sau khi ngủ dậy và trước khi đi ngủ.

Vỏ quả vải sấy khô, nghiền bột, đựng trong bình kín, lấy một ít bột hít vào trong mũi, ngày làm 02 lần có tác dụng thông mũi.

Cây giao, sắc nước cho sôi lên và xông qua ống ở khoảng cách 50cm, xông liên tục hàng ngày, mỗi ngày 1 lần 15 phút.

Lá cứt lợn tươi, giã nát, nhỏ mũi ngày 2-3 lần [21].

1.3. Đại cương về phản ứng dị ứng trong viêm mũi xoang

Bản chất của phản ứng dị ứng trong viêm mũi xoang là do rối loạn đáp ứng miễn dịch của cơ thể với môi trường sống và nó xảy ra tại mũi – xoang bởi sự kết hợp của yếu tố nội sinh (gen di truyền, mất cân bằng cơ chế điều hòa miễn dịch) với yếu tố ngoại sinh (môi trường sống, dị nguyên) [22], [23].

Quá trình đáp ứng miễn dịch ở niêm mạc mũi-xoang được mô tả như sau:

Lần đầu tiếp xúc với dị nguyên, cơ thể sản xuất IgE, chúng gắn vào tế bào ái kiềm và dưỡng bào ở niêm mạc mũi. Lúc này, bệnh nhân ở giai đoạn miễn cảm. Những lần tiếp xúc sau sẽ có phản ứng, lượng IgE này gắn kết với dị nguyên và sản xuất các chất trung gian hóa học (histamin, prostaglandin...) vào niêm mạc mũi-xoang gây bệnh lý tại đây. Hiện tượng giãn mạch, sung huyết, tăng tính thấm thành mạch làm cho niêm mạc mũi xoang phù nề, kích thích thần kinh và tăng tiết nhầy. Mỗi chất trung gian hóa học tương tác với một thụ thể chuyên biệt (ví dụ histamin gắn với thụ thể H_1 , H_2 . Nếu mô nào không chứa thụ thể đó thì không bị ảnh hưởng của histamin) và gây ra một số triệu chứng riêng: Histamin gây ngứa mũi, chảy mũi, hắt hơi. Leucotrien gây viêm, ngạt mũi. Prostaglandin gây sung huyết, phù nề. Các tế bào viêm và các thành phần tham gia viêm cũng được huy động đến niêm mạc mũi xoang làm phản ứng viêm tiếp diễn [24], [25], [26].

Khi cơ thể được di truyền khả năng tạo kháng thể IgE với một chất nào đó nhưng cơ thể không tiếp xúc với chất đó thì cũng không xuất hiện bệnh.

Bệnh chỉ xuất hiện khi người có cơ địa dị ứng sống trong môi trường có dị nguyên đã được miễn cảm, cụ thể với 3 giai đoạn:

(1) Giai đoạn miễn cảm, là giai đoạn dị nguyên lần đầu tiếp xúc bị đại thực bào và lympho T phát hiện. Đại thực bào truyền các thông tin về đặc điểm cấu trúc của dị nguyên qua ARN thông tin đến lympho B, lympho B biệt hóa thành các plasmocyte sản xuất kháng thể IgE đặc hiệu với dị nguyên. IgE đến bám vào các tế bào ưa kiềm nhờ các thụ thể. Giai đoạn này chưa biểu hiện triệu chứng lâm sàng.

(2) Giai đoạn sinh hóa (giai đoạn tức thì), là giai đoạn tiếp theo giai đoạn miễn cảm, xảy ra trong 10-15 phút sau khi cơ thể tiếp xúc dị nguyên đã được miễn cảm. IgE gắn với dị nguyên làm hoạt hóa tế bào Mast ở niêm mạc mũi xoang. Các hạt trong tế bào vỡ ra, giải phóng tryptase, histamin. Màng tế bào giải phóng các chất leucotrien, prostaglandin, ngoài ra còn yếu tố hoạt hóa tiểu cầu. Tất cả các chất này đều có hoạt tính là gây giãn mạch, tăng tính thấm thành mạch gây ngứa mũi, ngạt mũi, kích thích các dây thần kinh hướng tâm và sợi trục giải phóng các neuropeptid tại chỗ. Các chất này lại kích thích tế bào mast thoái hạt, với sự xuất hiện của dị nguyên còn làm cho lympho T(CD4 + Th0) hoạt hóa thành lympho T(CD4 + Th2). Các bạch cầu đa nhân trung tính, bạch cầu ái toan, tiểu cầu cũng tham gia vào quá trình này. Giai đoạn này không phải bản chất của bệnh dị ứng mà cơ chế miễn dịch mới là bản chất của bệnh dị ứng.

(3) Giai đoạn muộn, sau 2-48 giờ cơ thể tiếp xúc với dị nguyên đã được miễn cảm. Dưới ảnh hưởng của các cytokin, sự tương tác giữa các tế bào làm cho đáp ứng tế bào chiếm ưu thế. Có sự tích tụ lại của các tế bào viêm (bạch cầu ưa acid, ưa bazơ, đa nhân trung tính, lympho T CD4) là đặc trưng của viêm dị ứng. Trong đó bạch cầu ưa acid giải phóng lượng lớn protein gây độc cho tế bào đường hô hấp và sự có mặt của các ion đã kích thích tế bào mast thoái hóa hạt. Các biểu hiện trên là do các cytokin điều khiển, chúng được sản

xuất bởi tế bào lympho T, tế bào mast, đại thực bào, bạch cầu ưa bazơ và các tế bào biểu mô [7], [27], [28], [29].

1.4. Tình hình nghiên cứu về viêm mũi xoang

1.4.1. Một số công trình nghiên cứu về viêm mũi xoang

Trần Ni Tổng, Ngô Kế Xương, Hồ Nguyên, Liễu Phở Chiếu (2019), Nghiên cứu tác dụng điều trị và hoạt tính kháng khuẩn của viên nang ty uyên thông khiêu kết hợp Clarithromycin trên trẻ em viêm mũi xoang mạn tính, 121 trẻ tham gia nghiên cứu được chia thành nhóm chứng (n=61) được điều trị với Clarithromycin và nhóm nghiên cứu (n=60) được điều trị bằng viên nang Ty uyên thông khiêu kết hợp Clarithromycin. Kết quả: Hiệu quả điều trị ở nhóm nghiên cứu là 91,67%, cao hơn so với nhóm chứng (70,0%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$). Sau quá trình điều trị, các chỉ tiêu về điểm đau VAS, giải phẫu bệnh niêm mạc mũi xoang, mức IL-2 và IL-6 trong máu đều cải thiện so với nhóm chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) [30].

Ngô Trạch Yếu, Bao Tư, Hứa Tuấn Phan (2017), Nghiên cứu tác dụng điều trị viêm mũi xoang cấp tính bằng viên nang Ty uyên thông khiêu kết hợp moxifloxacin. 150 bệnh nhân tham gia nghiên cứu được chia ngẫu nhiên thành 2 nhóm, nhóm nghiên cứu và nhóm chứng đều gồm 75 bệnh nhân. Bệnh nhân ở nhóm chứng được uống Moxifloxacin Hydrochloride, 1 viên/lần/ngày, nhóm nghiên cứu được điều trị bằng Moxifloxacin Hydrochloride với liều tương đương, kèm thêm viên nang Ty uyên thông khiêu uống 1 gói/lần, 3 lần/ ngày. Bệnh nhân ở 2 nhóm được điều trị trong 14 ngày. Sau quá trình điều trị, hiệu quả điều trị ở nhóm chứng và nhóm nghiên cứu lần lượt là 81,33% và 96,00%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,05$. Sau quá trình điều tr, các triệu chứng nghẹt mũi, sổ mũi, đau đầu đều cải thiện, bên cạnh đó các chỉ số ở nhóm nghiên có có sự cải thiện nhiều hơn so với nhóm chứng, sự cải thiện có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) [31].

Luu Hạo Lan, Châu Trần Hoa (2016), Nghiên cứu tác dụng điều trị của viên Ty Uyên Thu Hoàn trên bệnh nhân viêm mũi xoang mạn tính thể tý hư. 90 bệnh nhân viêm mũi xoang mạn tính thể Tý khí hư được chia đều ngẫu nhiên thành 3 nhóm. Nhóm nghiên cứu được cho uống viên Ty Uyên Thu Hoàn kết hợp viên nang chứa dịch chiết cây Bạch Đàn, nhóm chứng được cho uống viên nang chứa dịch chiết cây Bạch Đàn, liên tục trong 1 tháng. Kết quả nghiên cứu cho thấy nhóm chứng và nhóm nghiên cứu đều có sự cải thiện các triệu chứng viêm mũi xoang mạn tính thể tý khí hư, trong đó nhóm nghiên cứu có sự cải thiện rõ rệt hơn so với nhóm chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)[32].

Trần Văn Thanh, Phạm Đình Quân (2018) Đánh giá độc tính cấp và một số tác dụng dược lý của bài thuốc “Thông xoang HV” trên thực nghiệm. Bài thuốc Thông xoang HV với 5 vị thuốc Ngưu tinh thảo, Kinh giới tuệ, Tô tử, La bạc tử, Kim ngân hoa, cho thấy tác dụng kháng viêm, kháng khuẩn, kháng dị ứng trên chuột thực nghiệm.

1.4.2. Một số mô hình nghiên cứu độc tính cấp, bán trường diễn và chống dị ứng trên động vật thực nghiệm

1.4.2.1. Nghiên cứu độc tính cấp

Thử độc tính cấp và xác định LD₅₀ của thuốc trên chuột nhắt trắng theo phương pháp Litchfield-Wilcoxon và hướng dẫn của WHO [33],[34].

Độc tính cấp là những tác dụng không mong muốn xảy ra sau khi dùng một chất trong vòng 24 giờ. Đánh giá độc tính cấp là một nghiên cứu quan trọng khi phát triển một bài thuốc mới. Nghiên cứu độc tính cấp giúp xem xét khoảng cách giữa liều độc và liều tác dụng để xác định phạm vi an toàn của thuốc, đồng thời xác định được LD₅₀ của thuốc, từ đó có thể chọn liều thử tác dụng ED₅₀.

Litchfield – Wilcoxon là phương pháp được chứng minh có tác dụng tốt nhất để nghiên cứu độc tính cấp, đạt hiệu quả cao và tốn ít động vật để làm thực nghiệm.

Động vật (thường dùng chuột) được dùng thuốc trong 24 giờ và được quan sát trong 1 tuần để xác định các triệu chứng độc (nếu có). 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 đảm bảo 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, đảm bảo việc đưa thuốc vào dạ dày ruột với một lượng chính xác mà không gây tổn thương cho chuột [35].

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...

Nghiên cứu độc tính cấp đường uống trên chuột nhắt trắng, chuột được chia thành các lô, mỗi lô 10 con và từng lô được cho uống thuốc thử theo liều từ thấp đến cao với cùng một thể tích mỗi lần uống. Chuột được theo dõi liên tục trước và sau khi uống thuốc thử để ghi nhận các diễn biến bất thường như nôn, co giật, kích động, bài tiết quá mức phân, nước tiểu..., theo dõi số lượng chuột chết. Trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc thử ghi nhận các bất thường, số chuột chết. Tất cả chuột chết đều được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Qua đó, ta xác định được liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột. Từ kết quả đó, xây dựng sơ đồ tuyến tính để xác định LD50 (Lethal Dose) – liều gây chết 50% chuột được uống thuốc thử để có cơ sở chọn liều thử tác dụng ED50 (Effective Dose) cho thuốc thử.

1.4.2.2. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn được thực hiện bằng cách cho động vật thí nghiệm uống thuốc thử hàng ngày liên tục trong một khoảng thời gian nhất định. Thời gian dùng thuốc thử phụ thuộc vào thời gian dùng trên lâm sàng. Theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới [34] và quy định của Bộ y tế Việt Nam [35], thời gian nghiên cứu bán trường diễn trên động vật thường gấp 4 lần thời gian dự kiến dùng trên người. Tuy nhiên, nếu nghiên cứu trên động vật trong thời gian quá dài, đặc biệt khi cho động vật dùng thuốc cường bức (qua kim công đầu tù), một số yếu tố nhiễu có thể ảnh hưởng đến kết quả nghiên cứu. Vì vậy, nếu thời gian dự định sử dụng trên người là dùng hàng ngày trên 30 ngày thì thời gian nghiên cứu bán trường diễn trên động vật là 3 tháng [35]. Nghiên cứu bán trường diễn của Thông xoang vương HV được thực hiện trong thời gian 3 tháng (90 ngày), với mục tiêu nhằm bảo đảm việc đánh giá được tính an toàn của chế phẩm khi dự kiến sử dụng trên người hàng ngày trên 30 ngày.

Chuột cống trắng được chia thành 3 lô, mỗi lô 10 con. Chuột được cho uống thuốc thử hoặc nước cất liên tục trong 90 ngày, thể tích cho uống là

5ml/kg/24 h. Lô chứng sinh lý uống nước cất, lô trị 1 uống thuốc nghiên cứu liều điều trị lâm sàng, lô trị 2: uống thuốc nghiên cứu liều gấp 2 liều điều trị lâm sàng [36].

1.4.2.3. Nghiên cứu tác dụng chống dị ứng trên mô hình gây viêm mũi dị ứng ở chuột nhắt trắng theo phương pháp được mô tả bởi Yong-Seok Im và cộng sự (2016).

Nghiên cứu được tiến hành theo phương pháp được mô tả bởi Yong-Seok Im và cộng sự (2016) [37].

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

- Lô 1 (lô chứng): không gây dị ứng + uống nước cất.
- Lô 2 (mô hình): gây dị ứng + uống nước cất.
- Lô 3 (lô tham chiếu): gây dị ứng + uống cetirizine 10 mg/kg .
- Lô 4 (trị 1): gây dị ứng + uống thuốc thử 960mg/kg/ngày.
- Lô 5 (trị 2): gây dị ứng + uống thuốc thử 1920mg/kg/ngày.

Sau khi nuôi ổn định trong 1 tuần, chuột được gây nhạy cảm với OVA bằng cách tiêm trong màng bụng 50 mg OVA (albumin trứng gà; Sigma) trong 200 ml dung dịch muối đệm phốt phát (PBS) chứa 2 mg nhôm hydroxit (Alum; Sigma) vào ngày 0, ngày 7 và ngày 14. Một tuần sau lần tiêm cuối cùng (vào ngày 21), chuột được cho hít 20 ml PBS chứa 50 mg / mL OVA vào hốc mũi hai bên. Từ ngày 21 đến ngày 31, các chuột được cho uống nước cất, cetirizine và thuốc thử theo phân lô.

Đánh giá các triệu chứng viêm mũi dị ứng: các triệu chứng mũi được đánh giá 2 phút sau đó bằng cách đếm thời gian cọ xát mũi và số lần chuột hắt hơi trong 10 phút. Tiến hành đánh giá trong 10 ngày, bắt đầu từ ngày 21. Ba giờ sau quan sát lần cuối, gây mê quá liều gây chết chuột. Đầu chuột được cố định bằng formalin 10%, sau đó mô mũi được tách ra khỏi cơ và da của đầu. Mô mũi đã được khử keo trong đệm EDTA 10% trong 14 ngày. Đúc paraffin, cắt

tiêu bản dày 5 μm , nhuộm bằng hematoxylin và eosin. Sự xâm nhập của bạch cầu ái toan và độ dày của niêm mạc mũi được quan sát đánh giá.




1.5. Tổng quan về viên nang Thông xoang vương HV








1.5.1. Xuất xứ viên nang Thông xoang vương HV

Bài thuốc *Thông xoang vương HV* được xây dựng dựa trên kinh nghiệm sử dụng thuốc của các thầy thuốc tại bệnh viện Tuệ Tĩnh, gồm các vị thuốc có tác dụng chống viêm, chống dị ứng và kháng khuẩn [8],[9]. Trong quá trình điều trị cho bệnh nhân VMXMT, chúng tôi nhận thấy bài thuốc có tác dụng cải thiện các triệu chứng lâm sàng, hơn nữa lại đơn giản, dễ sử dụng, tiết kiệm chi phí điều trị và có thể áp dụng rộng rãi trong nhân dân. Vì vậy, từ bài thuốc *Thông xoang vương HV*, chúng tôi đã nghiên cứu và sản xuất thành công viên nang *Thông xoang vương HV*, với quy trình sản xuất đơn giản nhưng đảm bảo về chất lượng và tác dụng điều trị.

1.5.2. Công thức bài thuốc Thông xoang vương HV

Bảng 1.1. Thành phần bài thuốc Thông xoang vương HV

Tên vị thuốc	Tên khoa học	Hình ảnh vị thuốc	Tính vị, quy kinh, tác dụng	Hàm lượng (g)
Tế tân	<i>Herba Asari</i>		Vị cay, tính ấm, quy kinh tâm phế. Có tác dụng chữa đau đầu, nghẹt mũi, người bệnh dương hư mắc cảm mạo phong hàn...	5
Tân di	<i>Flos Magnoliae</i>		Vị cay, tính ấm, quy kinh Phế, Vị. Có tác dụng giảm đau, tiêu viêm, chữa viêm mũi, viêm xoang...	10
Cam thảo	<i>Radix Glycyrrhizae</i>		Vị ngọt, tính bình, quy 12 kinh. Có tác dụng chữa viêm họng, ho, nhiều đờm, giải độc ...	5

Hoàng cầm	<i>Radix Scutellariae</i>		Vị đắng, tính hàn, quy kinh Tâm, Phế, Đại trường, Đờm. Có tác dụng thanh nhiệt, kháng dị ứng, kháng khuẩn...	15
Thương nhĩ tử	<i>Fructus Xanthii</i>		Vị ngọt, hơi đắng, tính ôn, quy kinh Phế. Có tác dụng chữa nhức đầu do phong hàn, viêm mũi, chảy nước mũi...	10
Cát căn	<i>Radix Puerariae</i>		Vị ngọt, tính bình, quy kinh Tỳ, Vị. Có tác dụng chữa sốt, cảm nóng, khát nước, ban sởi mới phát, giải nhiệt...	30
Sài hồ	<i>Radix Bupleuri</i>		Vị đắng, tính hàn, quy kinh Can Đờm. Có tác dụng chữa sốt cao, nhức đầu, chóng mặt, sốt do thương hàn, sốt rét...	15
Đẳng sâm	<i>Radix Codonopsis</i>		Vị ngọt, tính bình, quy kinh Tỳ Phế. Có tác dụng chữa suy nhược cơ thể, thiếu máu...	15
Thông thảo	<i>Medulla Tetrapanacis</i>		Vị ngọt, tính bình, quy kinh Phế, Vị. Có tác dụng thông sữa, chữa đầy chướng bụng, nghẹt tắc mũi...	5
Cát cánh	<i>Radix Platicodi</i>		Vị cay, đắng, tính ấm, quy kinh Phế. Có tác dụng thông sữa, chữa tắc tiếng, khàn tiếng, ho nhiều đàm ...	10

Bạch chỉ	<i>Radix Angelica</i>		Vị cay, tính âm, quy kinh Phế, Vị. Có tác dụng giảm đau, kháng khuẩn.	10
Đại hoàng	<i>Radix et Rhizoma Rhei</i>		Vị đắng, tính hàn, quy kinh Tỳ, Vị, Đại tràng, Can, Tâm. Có tác dụng thanh tràng, thông tiện, trục ứ thông kinh, cầm máu, chống viêm...	6
Bồ công anh	<i>Herba Lactucae</i>		Vị hơi đắng, tính mát, quy kinh Tâm, Can, Thận. Có tác dụng thanh nhiệt, giải độc, hóa thấp, tiêu viêm...	20
Đại táo	<i>Fructus Zizyphi</i>		Vị ngọt, tính âm, quy kinh Tỳ, Vị. Có tác dụng chữa tỳ vị hư nhược, suy nhược, kiết lỵ, dinh vệ bất hòa...	10
Tô tử	<i>Fructus Perillae</i>		Vị cay, tính âm, quy kinh Phế, Đại Trường. Có tác dụng chữa ho kéo dài, viêm họng, viêm phế quản...	12

Công dụng: Thông khiêu, tiêu đàm, bài nùng.

Chỉ định: Điều trị viêm mũi xoang cấp, mạn tính có các triệu chứng ngạt mũi, tắc mũi do viêm xoang, tăng tiết dịch mũi xoang... ngoài ra có thể hỗ trợ điều trị các triệu chứng đường hô hấp như ho, đau rát họng ...

Ngày uống 1 thang chia 2 lần.

1.5.3. Phân tích tác dụng của các vị thuốc

Tế tân, tân di khai tuyên ty khiêu, thương nhĩ tử tán uất là 3 vị thuốc chủ phương. Hoàng cầm, bồ công anh, đại hoàng khổ giáng tiết trọc nhiệt, cát

căn, tân lương có tác dụng thông hành kinh túc dương minh, tô tử vị tân ôn giáng trở tán, cát cánh khai tiết phế khí, thông thảo dẫn thấp hạ hành, kết hợp tiểu sài hồ thang hòa giải thiếu dương. Các vị thuốc hợp dụng, có thể tuyên thông tỳ khiếu, thanh nhiệt thấp trọc nội uất, ngoại hàn nội nhiệt song giải, tỳ uyên được trị [38], [39], [40].

1.6. Tổng quan về thuốc sử dụng đối chứng trong nghiên cứu

1.6.1. Hóa chất gây mô hình dị ứng

Gồm có Ovalbumin (OVA - chicken egg albumin – albumin trứng gà; Sigma), Aluminum hydroxide (Alum; Sigma) và phosphate-buffered saline (PBS).

Chuột thí nghiệm được gây nhạy cảm với OVA bằng cách tiêm trong màng bụng 50 mg OVA (albumin trứng gà; Sigma) trong 200 ml dung dịch muối đệm photphat (PBS) chứa 2 mg nhôm hydroxit (Alum; Sigma) vào ngày 0, ngày 7 và ngày 14.

Một tuần sau lần tiêm cuối cùng (vào ngày 21), chuột được cho hít 20 ml PBS chứa 50 mg / mL OVA vào hốc mũi hai bên [37].

1.6.2. Cetirizin hydrochloride

Cetirizin là thuốc kháng histamin mạnh có tác dụng chống dị ứng, nhưng không gây buồn ngủ ở liều dược lý. Cetirizin có tác dụng đối kháng chọn lọc ở thụ thể H1, nhưng hầu như không có tác dụng đến các thụ thể khác, do vậy hầu như không có tác dụng đối kháng acetylcholin và không có tác dụng đối kháng serotonin. Cetirizin ức chế giai đoạn sớm của phản ứng dị ứng qua trung gian histamin và cũng làm giảm sự di dời của các tế bào viêm và giảm giải phóng các chất trung gian ở giai đoạn muộn của phản ứng dị ứng [41].

Nồng độ đỉnh trong máu ở mức 0,3 microgam/ml sau 30 đến 60 phút khi uống 1 liều 10 mg. Nửa đời huyết tương xấp xỉ 11 giờ. Hấp thu thuốc không thay đổi giữa các cá thể.

Độ thanh thải ở thận là 30 ml/phút và nửa đời thải trừ xấp xỉ 9 giờ. Cetirizin liên kết mạnh với protein huyết tương (khoảng 93%).

Cetirizin được chỉ định trong điều trị triệu chứng viêm mũi dị ứng dai dẳng, viêm mũi dị ứng theo mùa, mày đay mạn tính vô căn ở người lớn và trẻ em trên 12 tuổi và viêm mũi dị ứng theo mùa ở trẻ em trên 12 tuổi; viêm kết mạc dị ứng.

Cần thận trọng khi dùng ở bệnh nhân suy gan, suy thận; Phải điều chỉnh liều ở người suy gan, suy thận vừa hoặc nặng và người đang thẩm phân thận nhân tạo.

Ở một số người bệnh sử dụng cefprozil có hiện tượng ngứa gà, do vậy nên thận trọng khi lái xe, hoặc vận hành máy, vì dễ gây nguy hiểm. Tránh dùng đồng thời cetirizin với rượu và các thuốc ức chế thần kinh trung ương, vì làm tăng thêm tác dụng của các thuốc này.

Cetirizin được dùng đường uống. Mặc dù thức ăn có thể làm giảm nồng độ đỉnh trong máu và kéo dài thời gian đạt nồng độ đỉnh, nhưng không ảnh hưởng đến mức hấp thụ thuốc, cho nên có thể uống cùng hoặc ngoài bữa ăn.

Ở dạng viên nén, liều dùng ở người lớn và trẻ em từ 6 tuổi trở lên là 1 viên 10 mg/ngày hoặc 5 mg x 2 lần/ngày [41].

Với tác dụng trên các triệu chứng dị ứng đã được chứng minh rõ rệt trên lâm sàng nên Cetirizin liều 10mg/ngày được sử dụng làm thuốc đối chứng trong nghiên cứu.

Chương 2

CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Chế phẩm nghiên cứu

Viên nang Thông xoang vương HV do Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam bào chế và cung cấp, đạt tiêu chuẩn cơ sở. Với công thức thành phần trong mỗi viên hàm lượng 500mg như sau:

Bảng 2.1. Thành phần viên nang Thông xoang vương HV hàm lượng 500mg

Tên vị thuốc	Tên khoa học	Hàm lượng (mg)
Tế tân	<i>Herba Asari</i>	156,25
Tân di	<i>Flos Magnoliae</i>	312,5
Cam thảo	<i>Radix Glycyrrhizae</i>	156,25
Hoàng cầm	<i>Radix Scutellariae</i>	468,75
Thương nhĩ tử	<i>Fructus Xanthii</i>	312,5
Cát căn	<i>Radix Puerariae</i>	625
Sài hồ	<i>Radix Bupleuri</i>	406,25
Đẳng sâm	<i>Radix Codonopsis</i>	406,25
Thông thảo	<i>Medulla Tetrapanacis</i>	156,25
Cát cánh	<i>Radix Platycodi</i>	312,5
Bạch chỉ	<i>Radix Angelica</i>	312,5
Đại hoàng	<i>Radix et Rhizoma Rhei</i>	187,5
Bồ công anh	<i>Herba Taraxaci</i>	500
Đại táo	<i>Fructus Zizyphi</i>	312,5
Tô tử	<i>Fructus Perillae</i>	375

Công dụng: thông khiêu, tiêu đàm, bài nùng.

Chỉ định: điều trị viêm mũi xoang cấp, mạn tính có các triệu chứng ngạt mũi, tắc mũi do viêm xoang, tăng tiết dịch mũi xoang... ngoài ra có thể hỗ trợ điều trị các triệu chứng đường hô hấp như ho, đau rát họng ...Liều dùng trên người mỗi lần 2-4 viên, ngày 2-3 lần. Hàm lượng bột thuốc trong mỗi viên là 500mg. Tính quân bình mỗi ngày một người dùng 8 viên, tương đương 4000mg/người/ngày, hay 80mg/kg/ngày.

Liều dùng trên động vật thực nghiệm được tính theo mg bột thuốc trong viên nang. Bột thuốc được hòa tan hoàn toàn trong nước cất thành dung dịch thuốc thử, với các nồng độ khác nhau tùy theo mức liều dùng, và cho chuột uống bằng kim cong đầu tù chuyên dụng. Quy đổi liều từ người sang động vật, liều trên chuột nhất (tương đương với liều điều trị trên người) là 960mg/kg/ngày. Liều trên chuột công (tương đương với liều điều trị trên người) là 560mg/kg/ngày [35], [42].



Hình 2.1: Viên nang Thông xoang vương HV

2.1.2. Động vật nghiên cứu

- Chuột nhắt trắng trưởng thành, chủng Swiss, số lượng 70 con, không phân biệt giống, cân nặng 18 - 22g, dùng cho nghiên cứu độc tính cấp.
- Chuột nhắt trắng trưởng thành, chủng Swiss, số lượng 40 con, không phân biệt giống, cân nặng 18 - 22g, dùng cho nghiên cứu tác dụng chống dị ứng.
- Chuột cống trắng trưởng thành, chủng Wistar, số lượng 30 con, không phân biệt giống, cân nặng 160 - 180g, dùng cho nghiên cứu độc tính bán trường diễn.

Động vật thí nghiệm được cung cấp bởi Ban cung cấp động vật thí nghiệm - Học viện Quân y, nuôi dưỡng trong phòng nuôi động vật thí nghiệm ít nhất một tuần trước khi tiến hành thí nghiệm.

Các chuột khỏe mạnh được đánh giá gồm: lông mượt, mắt trong, hậu môn khô, hoạt động, vận động bình thường, ăn uống bình thường, chất thải bình thường. Việc lựa chọn chuột nghiên cứu được tiến hành bởi 2 kỹ thuật viên có nhiều kinh nghiệm. Sau khi lựa chọn xong, trực tiếp cán bộ nghiên cứu kiểm tra, đánh giá lại.

Chuột thí nghiệm được cho ăn thức ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu, nước sạch đun sôi để nguội uống tự do. Hàng ngày theo dõi ghi chép diễn biến kết quả thí nghiệm.

Số lượng chuột thí nghiệm được trình bày như sau.

Bảng 2.2. Số lượng động vật thực nghiệm

Động vật	n	Tiêu chuẩn	Nghiên cứu
Chuột nhắt trắng chủng Swiss	70	Cả hai giống, khỏe mạnh, cân nặng 18 - 22g	Nghiên cứu độc tính cấp
	40	Cả hai giống, khỏe mạnh, cân nặng 18 - 22g	Nghiên cứu tác dụng chống dị ứng
Chuột cống trắng chủng Wistar	30	Cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 160 - 180g	Nghiên cứu độc tính bán trường diễn

2.1.3. Hóa chất nghiên cứu

- Ovalbumin (OVA - chicken egg albumin; Sigma); Aluminum hydroxide (Alum; Sigma); phosphate-buffered saline (PBS).
- Hóa chất xét nghiệm sinh hóa của hãng MEDIA, sản xuất tại Italia.
- Hóa chất xét nghiệm huyết học của hãng Human, Đức.
- Hematoxylin (sigma), Eosin (sigma) và một số hóa chất làm tiêu bản mô bệnh học khác.

2.1.4. Dụng cụ, máy móc, thiết bị



Hình 2.1. Một số máy móc và dụng cụ phục vụ nghiên cứu.

- a. Máy xét nghiệm huyết học. b. Máy xét nghiệm sinh hóa. c. Cân điện tử chính xác 0,001 gam. d. Kim cong đầu tù chuyên dụng dùng cho chuột uống thuốc

- Cân phân tích 10-4, model CP224S (Sartorius - Đức)
- Máy xét nghiệm sinh hoá tự động Chemix 180 hãng Sysmex;
- Máy xét nghiệm huyết học tự động XE2100, hãng Sysmex ;
- Bộ dụng cụ mô động vật cỡ nhỏ.
- Kim cong đầu tù chuyên dụng dùng cho chuột uống thuốc (Nhật Bản).
- Máy đúc parafin
- Máy cắt làm tiêu bản.
- Các dụng cụ thí nghiệm khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu độc tính cấp

Thử độc tính cấp và xác định LD₅₀ của thuốc trên chuột nhắt trắng theo phương pháp Litchfield-Wilcoxon và hướng dẫn của WHO:

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

Chia chuột thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống thuốc thử với liều tăng dần trong cùng một thể tích để xác định liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột (gây chết 0% chuột).

Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động...) và số lượng chuột chết sau 72 giờ sau khi uống thuốc. Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tình trạng tổn thương đại thể. Từ đó xây dựng mô hình tuyến tính để xác định LD₅₀ của thuốc thử. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến ngày thứ 7 sau khi uống thuốc [33], [34].

2.2.2. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn

Theo qui định của Bộ Y tế Việt Nam [35], hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới [34], và hướng dẫn của OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) về đánh giá tính an toàn và hiệu lực của thuốc Y học cổ truyền [36].

Chuột cống trắng được chia thành 3 lô, mỗi lô 10 con. Chuột được cho uống thuốc thử hoặc nước cất liên tục trong 90 ngày, thể tích cho uống là 5ml/kg/24 h.

- Lô chứng sinh lý: uống nước cất.
- Lô trị 1: uống thuốc thử, liều 560mg/kg/ngày
- Lô trị 2: uống thuốc thử, liều 1680 mg/kg/ngày

Các chỉ tiêu đánh giá:

- Sinh lý - dược lý: theo dõi tình trạng chung, hoạt động, ăn uống, cân nặng của chuột.

- Huyết học: hồng cầu, hemoglobin, bạch cầu, tiểu cầu.

- Sinh hóa: nồng độ men gan AST, ALT trong máu, creatinin máu, albumin huyết tương, cholesterol máu.

- Mô bệnh học: vào ngày thứ 90, giết chuột, quan sát hình ảnh đại thể gan, lách, thận. Sau đó sinh thiết các tạng để đánh giá hình ảnh mô bệnh học của các chuột thực nghiệm.

Thời điểm xét nghiệm: lấy máu xét nghiệm các chỉ số sinh hóa, huyết học, xác định cân nặng của chuột tại 3 thời điểm: xuất phát điểm, sau 45 ngày, sau 90 ngày uống thuốc. Thời gian theo dõi: 90 ngày.

2.2.3. Nghiên cứu tác dụng chống dị ứng trên mô hình gây viêm mũi dị ứng ở chuột nhắt trắng.

Tiến hành theo phương pháp được mô tả bởi Yong-Seok Im và cộng sự (2016).

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

- Lô 1 (lô chứng): không gây dị ứng + uống nước cất.
- Lô 2 (mô hình): gây dị ứng + uống nước cất.
- Lô 3 (lô tham chiếu): gây dị ứng + uống cetirizine 10 mg/kg .
- Lô 4 (trị 1): gây dị ứng + uống thuốc thử 960mg/kg/ngày.
- Lô 5 (trị 2): gây dị ứng + uống thuốc thử 1920mg/kg/ngày.

Sau khi nuôi ổn định trong 1 tuần, chuột được gây nhạy cảm với OVA bằng cách tiêm trong màng bụng 50 mg OVA (albumin trứng gà; Sigma) trong 200 ml dung dịch muối đệm photphat (PBS) chứa 2 mg nhôm hydroxit (Alum; Sigma) vào ngày 0, ngày 7 và ngày 14. Một tuần sau lần tiêm cuối cùng (vào ngày 21), chuột được cho hít 20 ml PBS chứa 50 mg / mL OVA vào hốc mũi hai bên. Từ ngày 21 đến ngày 31, các chuột được cho uống nước cất, cetirizine và thuốc thử theo phân lô.

Đánh giá các triệu chứng viêm mũi dị ứng: các triệu chứng mũi được đánh giá 2 phút sau đó bằng cách đếm thời gian cọ xát mũi và số lần chuột hắt hơi trong 10 phút. Tiến hành đánh giá trong 10 ngày, bắt đầu từ ngày 21. Ba giờ sau quan sát lần cuối, gây mê quá liều gây chết chuột. Đầu chuột được cố định bằng formalin 10%, sau đó mô mũi được tách ra khỏi cơ và da của đầu. Mô mũi đã được khử keo trong đệm EDTA 10% trong 14 ngày. Đúc paraffin, cắt tiêu bản dày 5 μm , nhuộm bằng hematoxylin và eosin. Sự xâm nhập của bạch cầu ái toan và độ dày của niêm mạc mũi được quan sát đánh giá.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 và các test phù hợp. Kết quả được trình bày dưới dạng: $\bar{X} \pm \text{SD}$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi giá trị $p \leq 0,05$.

2.4. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Bộ môn Dược lý trường Học viện Quân y.

Thời gian nghiên cứu: từ tháng 3 đến tháng 7 năm 2020.

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp

Kết quả nghiên cứu được trình bày ở bảng 3.1.

Bảng 3.1. Độc tính cấp đường uống của Thông xoang vương HV

Lô chuột	Số chuột thí nghiệm	Liều dùng (g/kg thể trọng)	Số chuột sống/chết sau 72 giờ	Số chuột sống/chết sau 7 ngày
Lô 1	10	10,0	10/0	10/0
Lô 2	10	15,0	10/0	10/0
Lô 3	10	20,0	10/0	10/0
Lô 4	10	25,0	10/0	10/0
Lô 5	10	30,0	10/0	10/0

Bảng 3.1 cho thấy, chuột nhắt trắng được uống viên nang Thông xoang vương HV với các mức liều khác nhau từ liều thấp nhất là 10,0 g/kg thể trọng đến liều cao nhất là 30,0 g/kg thể trọng, 0,2mL/10g/lần x 3 lần/ngày (mỗi lần cách nhau 3 tiếng). Chuột đã uống đến liều 30,0 g/kg thể trọng là liều tối đa có thể dùng được bằng đường uống để đánh giá độc tính cấp của thuốc thử nhưng không có chuột nào chết, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống thuốc lần cuối và trong suốt 7 ngày sau uống thuốc. Như vậy, không xác định được LD₅₀ của Thông xoang HV theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24h là 30,0 g/kg thể trọng không xuất hiện độc tính cấp.

3.2. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn

3.2.1. Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV lên tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng của chuột cống trắng khi dùng dài ngày.

3.2.1.1. Tình trạng chung

Chuột cống trắng được theo dõi hàng ngày về tình trạng chung gồm hoạt động, ăn uống, tình trạng lông, da, niêm mạc, chất tiết. Các chuột ở cả lô chứng và các lô dùng Thông xoang vương HV đều hoạt động bình thường. Chuột lông mượt, da niêm mạc bình thường, ăn uống bình thường, phân thành khuôn.

3.2.1.2. Sự thay đổi thể trọng của chuột

Bảng 3.2: Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV đối với thể trọng chuột

(n = 10, $\bar{x} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chứng – uống nước cất (1)	Lô trị 1 - uống thuốc thử, liều 560mg/kg/ngày (2)	Lô trị 2 - uống thuốc thử, liều 1680 mg/kg/ngày (3)	P giữa các lô
Trước thí nghiệm (a)	169,35 ± 4,68	164,62 ± 4,96	164,94 ± 4,76	$p_{2a-1a} > 0,05$ $p_{3a-1a} > 0,05$ $p_{3a-2a} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	186,58 ± 6,93	188,65 ± 6,34	189,43 ± 6,29	$p_{2b-1b} > 0,05$ $p_{3b-1b} > 0,05$ $p_{3b-2b} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	204,12 ± 7,31	205,04 ± 7,25	205,21 ± 6,96	$p_{2c-1c} > 0,05$ $p_{3c-1c} > 0,05$ $p_{3c-2c} > 0,05$
Trong cùng lô	$P_{1c-1a} < 0,01; P_{1b-1a} < 0,01; P_{2c-2a} < 0,01; P_{2b-2a} < 0,01; P_{3c-3a} < 0,01; P_{3b-3a} < 0,01; p_{c1-b1} < 0,01; p_{c2-b2} < 0,01; p_{c3-b3} < 0,01$			-

Bảng 3.2 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, sự khác biệt về thể trọng giữa các lô chuột không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05, p_{3a-1a} > 0,05, p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày, thể trọng chuột ở các lô chuột tăng hơn so với thể trọng chuột ban đầu, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P_{1b-1a} < 0,01, P_{2b-2a}$

$< 0,01$, $P_{3b-3a} < 0,01$). Sự khác biệt về thể trọng giữa các lô ở thời điểm 45 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$)

Tại thời điểm 90 ngày, thể trọng chuột ở các lô tăng hơn so với thể trọng chuột ban đầu, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P_{1c-1a} < 0,01$, $P_{2c-2a} < 0,01$, $P_{3c-3a} < 0,01$). Sự khác biệt về thể trọng giữa các lô ở thời điểm 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$)

Như vậy Thông xoang vương HV không ảnh hưởng đến sự phát triển thể trọng của chuột.

3.2.2. Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV đối với một số chỉ tiêu huyết học của chuột

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV lên số lượng hồng cầu trong máu chuột ($n = 10$, $\bar{x} \pm SD$, $\times 10^{12}$ g/l)

Thời điểm XN	Lô chứng – uống nước cát (1)	Lô trị 1 - uống thuốc thử, liều 560mg/kg/ngày (2)	Lô trị 2 - uống thuốc thử, liều 1680 mg/kg/ngày (3)	P giữa các lô
Trước thí nghiệm (a)	7,16 $\pm 1,02$	7,23 $\pm 1,65$	7,21 $\pm 1,23$	$p_{2a-1a} > 0,05$ $p_{3a-1a} > 0,05$ $p_{3a-2a} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	7,19 $\pm 1,31$	7,15 $\pm 0,92$	7,17 $\pm 1,42$	$p_{2b-1b} > 0,05$ $p_{3b-1b} > 0,05$ $p_{3b-2b} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	7,21 $\pm 1,26$	7,26 $\pm 1,27$	7,24 $\pm 0,98$	$p_{2c-1c} > 0,05$ $p_{3c-1c} > 0,05$ $p_{3c-2c} > 0,05$
P trong cùng lô	$P_{1c-1a} > 0,05$; $P_{1b-1a} > 0,05$; $P_{2c-2a} > 0,05$; $P_{2b-2a} > 0,05$; $P_{3c-3a} > 0,05$; $P_{3b-3a} > 0,05$; $p_{c1-b1} > 0,05$; $p_{c2-b2} > 0,05$; $p_{c3-b3} > 0,05$			-

Bảng 3.3 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, sự khác biệt về số lượng hồng cầu trong máu chuột giữa các lô không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05$, $p_{3a-1a} > 0,05$, $p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, số lượng hồng cầu trong máu chuột ở các lô không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với số lượng hồng cầu trong máu chuột ban đầu ($P_{1b-1a} > 0,05$, $P_{2b-2a} > 0,05$, $P_{3b-3a} > 0,05$, $P_{1c-1a} > 0,05$, $P_{2c-2a} > 0,05$, $P_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về số lượng hồng cầu trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$; $p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$)

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên các chỉ tiêu về số lượng hồng cầu trong máu chuột.

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV lên hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột ($n = 10$, $\bar{x} \pm SD$, g/dL)

Thời điểm XN	Lô chúng – uống nước cất (1)	Lô trị 1 - uống thuốc thử, liều 560mg/kg/ngày (2)	Lô trị 2 - uống thuốc thử, liều 1680 mg/kg/ngày (3)	P giữa các lô
Trước thí nghiệm (a)	12,58 ± 1,42	12,63 ± 1,19	12,80 ± 1,45	$p_{2a-1a} > 0,05$ $p_{3a-1a} > 0,05$ $p_{3a-2a} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	12,74 ± 1,25	12,55 ± 1,06	12,69 ± 1,32	$p_{2b-1b} > 0,05$ $p_{3b-1b} > 0,05$ $p_{3b-2b} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	12,60 ± 1,13	12,46 ± 1,27	12,64 ± 1,39	$p_{2c-1c} > 0,05$ $p_{3c-1c} > 0,05$ $p_{3c-2c} > 0,05$
P trong cùng lô	$P_{1c-1a} > 0,05$; $P_{1b-1a} > 0,05$; $P_{2c-2a} > 0,05$; $P_{2b-2a} > 0,05$; $P_{3c-3a} > 0,05$; $P_{3b-3a} > 0,05$; $p_{c1-b1} > 0,05$; $p_{c2-b2} > 0,05$; $p_{c3-b3} > 0,05$			-

Bảng 3.4 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột giữa các lô khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05$, $p_{3a-1a} > 0,05$, $p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột ở các lô không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột ban đầu ($P_{1b-1a} > 0,05$, $P_{2b-2a} > 0,05$, $P_{3b-3a} > 0,05$, $P_{1c-1a} > 0,05$, $P_{2c-2a} > 0,05$, $P_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$; $p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$).

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên các chỉ tiêu về hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột.

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV lên hematocrit trong máu chuột ($n = 10$, $\bar{x} \pm SD$, %)

Thời điểm XN	Lô chứng – uống nước cất (1)	Lô trị 1 - uống thuốc thử, liều 560mg/kg/ngày (2)	Lô trị 2 - uống thuốc thử, liều 1680 mg/kg/ngày (3)	P giữa các lô
Trước thí nghiệm (a)	31,25 ± 2,39	32,30 ± 2,18	32,18 ± 3,04	$p_{2a-1a} > 0,05$ $p_{3a-1a} > 0,05$ $p_{3a-2a} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	32,12 ± 5,36	32,46 ± 2,74	32,41 ± 2,90	$p_{2b-1b} > 0,05$ $p_{3b-1b} > 0,05$ $p_{3b-2b} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	32,20 ± 2,63	31,83 ± 2,65	32,67 ± 3,12	$p_{2c-1c} > 0,05$ $p_{3c-1c} > 0,05$ $p_{3c-2c} > 0,05$
P trong cùng lô	$P_{1c-1a} > 0,05$; $P_{1b-1a} > 0,05$; $P_{2c-2a} > 0,05$; $P_{2b-2a} > 0,05$; $P_{3c-3a} > 0,05$; $P_{3b-3a} > 0,05$; $p_{c1-b1} > 0,05$; $p_{c2-b2} > 0,05$; $p_{c3-b3} > 0,05$			-

Bảng 3.5 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, sự khác biệt về hematocrit trong máu chuột giữa các lô không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05$, $p_{3a-1a} > 0,05$, $p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, hematocrit máu chuột các lô không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với hematocrit máu chuột ban đầu ($P_{1b-1a} > 0,05$, $P_{2b-2a} > 0,05$, $P_{3b-3a} > 0,05$, $P_{1c-1a} > 0,05$, $P_{2c-2a} > 0,05$, $P_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về hematocrit máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$; $p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$).

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên các chỉ tiêu về hematocrit trong máu chuột.

Bảng 3.6. Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV lên thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột ($n = 10$, $\bar{x} \pm SD$, fl)

Thời điểm XN	Lô chứng – uống nước cất (1)	Lô trị 1 - uống thuốc thử, liều 560mg/kg/ngày (2)	Lô trị 2 - uống thuốc thử, liều 1680 mg/kg/ngày (3)	P giữa các lô
Trước thí nghiệm (a)	45,24 ± 2,73	46,02 ± 2,58	46,21 ± 2,47	$p_{2a-1a} > 0,05$ $p_{3a-1a} > 0,05$ $p_{3a-2a} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	47,05 ± 2,36	44,95 ± 2,36	45,89 ± 2,44	$p_{2b-1b} > 0,05$ $p_{3b-1b} > 0,05$ $p_{3b-2b} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	45,86 ± 2,24	44,83 ± 2,15	46,02 ± 2,29	$p_{2c-1c} > 0,05$ $p_{3c-1c} > 0,05$ $p_{3c-2c} > 0,05$
P trong cùng lô	$P_{1c-1a} > 0,05$; $P_{1b-1a} > 0,05$; $P_{2c-2a} > 0,05$; $P_{2b-2a} > 0,05$; $P_{3c-3a} > 0,05$; $P_{3b-3a} > 0,05$; $p_{c1-b1} > 0,05$; $p_{c2-b2} > 0,05$; $p_{c3-b3} > 0,05$			-

Bảng 3.6 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, sự khác biệt về thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột giữa các lô không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05$, $p_{3a-1a} > 0,05$, $p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột ở các lô không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột ban đầu ($P_{1b-1a} > 0,05$, $P_{2b-2a} > 0,05$, $P_{3b-3a} > 0,05$, $P_{1c-1a} > 0,05$, $P_{2c-2a} > 0,05$, $P_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$; $p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$)

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên các chỉ tiêu về thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột.

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV lên số lượng bạch cầu trong máu chuột ($n = 10$, $\bar{x} \pm SD$, G/l)

Thời điểm XN	Lô chứng – uống nước cát (1)	Lô trị 1 - uống thuốc thử, liều 560mg/kg/ngày (2)	Lô trị 2 - uống thuốc thử, liều 1680 mg/kg/ngày (3)	P giữa các lô
Trước thí nghiệm (a)	6,94 ± 3,42	6,81 ± 2,73	6,89 ± 1,36	$p_{2a-1a} > 0,05$ $p_{3a-1a} > 0,05$ $p_{3a-2a} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	6,72 ± 3,11	6,95 ± 1,38	6,76 ± 2,27	$p_{2b-1b} > 0,05$ $p_{3b-1b} > 0,05$ $p_{3b-2b} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	6,81 ± 2,62	6,74 ± 2,81	6,59 ± 2,82	$p_{2c-1c} > 0,05$ $p_{3c-1c} > 0,05$ $p_{3c-2c} > 0,05$
P trong cùng lô	$P_{1c-1a} > 0,05$; $P_{1b-1a} > 0,05$; $P_{2c-2a} > 0,05$; $P_{2b-2a} > 0,05$; $P_{3c-3a} > 0,05$; $P_{3b-3a} > 0,05$; $p_{c1-b1} > 0,05$; $p_{c2-b2} > 0,05$; $p_{c3-b3} > 0,05$			-

Bảng 3.7 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, sự khác biệt về số lượng bạch cầu trong máu chuột giữa các lô không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05$, $p_{3a-1a} > 0,05$, $p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, số lượng bạch cầu trong máu chuột ở các lô không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với số lượng bạch cầu trong máu chuột ban đầu ($P_{1b-1a} > 0,05$, $P_{2b-2a} > 0,05$, $P_{3b-3a} > 0,05$, $P_{1c-1a} > 0,05$, $P_{2c-2a} > 0,05$, $P_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về số lượng bạch cầu trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$; $p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$).

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên các chỉ tiêu về số lượng bạch cầu trong máu chuột.

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV lên số lượng tiểu cầu trong máu chuột ($n = 10$, $\bar{x} \pm SD$, G/l)

Thời điểm XN	Lô chứng – uống nước cất (1)	Lô trị 1 - uống thuốc thử, liều 560mg/kg/ngày (2)	Lô trị 2 - uống thuốc thử, liều 1680 mg/kg/ngày (3)	P giữa các lô
Trước thí nghiệm (a)	481,40 ± 112,63	482,80 ± 95,42	473,40 ± 131,17	$p_{2a-1a} > 0,05$ $p_{3a-1a} > 0,05$ $p_{3a-2a} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	479,30 ± 126,72	496,30 ± 160,22	513,30 ± 193,45	$p_{2b-1b} > 0,05$ $p_{3b-1b} > 0,05$ $p_{3b-2b} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	486,10 ± 123,84	490,60 ± 115,18	542,10 ± 145,39	$p_{2c-1c} > 0,05$ $p_{3c-1c} > 0,05$ $p_{3c-2c} > 0,05$
P trong cùng lô	$P_{1c-1a} > 0,05$; $P_{1b-1a} > 0,05$; $P_{2c-2a} > 0,05$; $P_{2b-2a} > 0,05$; $P_{3c-3a} > 0,05$; $P_{3b-3a} > 0,05$; $p_{c1-b1} > 0,05$; $p_{c2-b2} > 0,05$; $p_{c3-b3} > 0,05$			-

Bảng 3.8 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, sự khác biệt về số lượng tiểu cầu trong máu chuột giữa các lô không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05$, $p_{3a-1a} > 0,05$, $p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, số lượng tiểu cầu trong máu chuột ở các lô không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với so với số lượng tiểu cầu trong máu chuột ban đầu ($P_{1b-1a} > 0,05$, $P_{2b-2a} > 0,05$, $P_{3b-3a} > 0,05$, $P_{1c-1a} > 0,05$, $P_{2c-2a} > 0,05$, $P_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về số lượng tiểu cầu trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$; $p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$).

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên các chỉ tiêu về số lượng tiểu cầu trong máu chuột.

3.2.3. Đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan khi dùng viên nang Thông xoang vương HV dài ngày.

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV đối với hoạt độ AST và ALT ($n = 10$, $\bar{x} \pm SD$, UI/L)

Thời điểm XN	Lô chứng – uống nước cất (1)	Lô trị 1 - uống thuốc thử, liều 560mg/kg/ngày (2)	Lô trị 2 - uống thuốc thử, liều 1680 mg/kg/ngày (3)	P giữa các lô
Hoạt độ AST (UI/l)				
Trước thí nghiệm (a)	96,42 ± 21,06	98,36 ± 14,84	98,14 ± 19,26	$P_{2a-1a} > 0,05$ $P_{3a-1a} > 0,05$ $P_{3a-2a} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	95,48 ± 21,26	99,25 ± 16,22	97,34 ± 28,21	$P_{2b-1b} > 0,05$ $P_{3b-1b} > 0,05$ $P_{3b-2b} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	96,01 ± 20,38	98,49 ± 28,28	99,31 ± 17,42	$P_{2c-1c} > 0,05$ $P_{3c-1c} > 0,05$ $P_{3c-2c} > 0,05$
P trong cùng lô	$P_{1c-1a} > 0,05$; $P_{1b-1a} > 0,05$; $P_{2c-2a} > 0,05$; $P_{2b-2a} > 0,05$; $P_{3c-3a} > 0,05$; $P_{3b-3a} > 0,05$; $p_{c1-b1} > 0,05$; $p_{c2-b2} > 0,05$; $p_{c3-b3} > 0,05$			-
Hoạt độ ALT (UI/l)				

Trước thí nghiệm (a)	79,59 ± 15,21	79,21 ± 14,64	75,10 ± 16,23	$p_{2a-1a} > 0,05$ $p_{3a-1a} > 0,05$ $p_{3a-2a} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	82,29 ± 22,53	76,32 ± 17,36	74,69 ± 20,14	$p_{2b-1b} > 0,05$ $p_{3b-1b} > 0,05$ $p_{3b-2b} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	83,32 ± 19,01	80,63 ± 12,69	81,06 ± 15,25	$p_{2c-1c} > 0,05$ $p_{3c-1c} > 0,05$ $p_{3c-2c} > 0,05$
Trong cùng lô	$P_{1c-1a} > 0,05; P_{1b-1a} > 0,05; P_{2c-2a} > 0,05; P_{2b-2a} > 0,05; P_{3c-3a} > 0,05; P_{3b-3a} > 0,05; p_{c1-b1} > 0,05; p_{c2-b2} > 0,05; p_{c3-b3} > 0,05$			-

Bảng 3.9 cho thấy, so sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, hoạt độ các enzym AST và ALT trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05, p_{3a-1a} > 0,05, p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, hoạt độ các enzym AST và ALT trong máu chuột so với hoạt độ các enzym AST và ALT trong máu chuột ban đầu khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P_{1b-1a} > 0,05, P_{2b-2a} > 0,05, P_{3b-3a} > 0,05, P_{1c-1a} > 0,05, P_{2c-2a} > 0,05, P_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về hoạt độ các enzym AST và ALT trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05; p_{3b-1b} > 0,05; p_{3b-2b} > 0,05, p_{2b-1b} > 0,05; p_{3b-1b} > 0,05; p_{3b-2b} > 0,05$).

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi hoạt độ các enzym AST và ALT có ý nghĩa thống kê, cho thấy Thông xoang vương HV không gây ra hủy hoại tế bào gan trên chuột nghiên cứu.

3.2.4. Đánh giá ảnh hưởng lên chức năng gan khi dùng Thông xoang vương HV dài ngày

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV lên các chỉ số albumin trong máu ($n = 10, \bar{x} \pm SD, \text{g/l}$)

Thời điểm XN	Lô chúng – uống nước cất (1)	Lô trị 1 - uống thuốc thử, liều 560mg/kg/ngày (2)	Lô trị 2 - uống thuốc thử, liều 1680 mg/kg/ngày (3)	P giữa các lô
Trước thí nghiệm (a)	22,06 ± 2,84	21,91 ± 2,24	22,12 ± 2,65	$p_{2a-1a} > 0,05$ $p_{3a-1a} > 0,05$ $p_{3a-2a} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	20,96 ± 2,68	21,54 ± 3,06	21,69 ± 2,28	$p_{2b-1b} > 0,05$ $p_{3b-1b} > 0,05$ $p_{3b-2b} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	21,18 ± 2,63	21,62 ± 3,16	22,01 ± 4,51	$p_{2c-1c} > 0,05$ $p_{3c-1c} > 0,05$ $p_{3c-2c} > 0,05$
P trong cùng lô	$P_{1c-1a} > 0,05; P_{1b-1a} > 0,05; P_{2c-2a} > 0,05; P_{2b-2a} > 0,05; P_{3c-3a} > 0,05; P_{3b-3a} > 0,05; p_{c1-b1} > 0,05; p_{c2-b2} > 0,05; p_{c3-b3} > 0,05$			-

Bảng 3.10 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, sự khác biệt về chỉ số albumin trong máu chuột giữa các lô không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05, p_{3a-1a} > 0,05, p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, chỉ số albumin trong máu chuột ở các lô không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với số lượng tiểu cầu trong máu chuột ban đầu ($P_{1b-1a} > 0,05, P_{2b-2a} > 0,05, P_{3b-3a} > 0,05, P_{1c-1a} > 0,05, P_{2c-2a} > 0,05, P_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về chỉ số albumin trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05; p_{3b-1b} > 0,05; p_{3b-2b} > 0,05; p_{2b-1b} > 0,05; p_{3b-1b} > 0,05; p_{3b-2b} > 0,05$).

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi các chỉ số albumin trong máu chuột nghiên cứu.

Bảng 3.11. Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV lên chỉ số bilirubin toàn phần trong máu ($n = 10, \bar{x} \pm SD, \mu\text{mol/L}$)

Thời điểm XN	Lô chứng – uống nước cất (1)	Lô trị 1 - uống thuốc thử, liều 560mg/kg/ngày (2)	Lô trị 2 - uống thuốc thử, liều 1680 mg/kg/ngày (3)	P giữa các lô
Trước thí nghiệm (a)	52,45 ± 8,39	53,03 ± 7,46	52,36 ± 6,41	$p_{2a-1a} > 0,05$ $p_{3a-1a} > 0,05$ $p_{3a-2a} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	53,14 ± 9,86	52,97 ± 6,65	53,26 ± 5,84	$p_{2b-1b} > 0,05$ $p_{3b-1b} > 0,05$ $p_{3b-2b} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	50,62 ± 6,50	51,49 ± 5,98	50,41 ± 6,85	$p_{2c-1c} > 0,05$ $p_{3c-1c} > 0,05$ $p_{3c-2c} > 0,05$
P trong cùng lô	$P_{1c-1a} > 0,05; P_{1b-1a} > 0,05; P_{2c-2a} > 0,05; P_{2b-2a} > 0,05; P_{3c-3a} > 0,05; P_{3b-3a} > 0,05; p_{c1-b1} > 0,05; p_{c2-b2} > 0,05; p_{c3-b3} > 0,05$			-

Bảng 3.11 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, sự khác biệt về chỉ số bilirubin toàn phần trong máu chuột giữa các lô không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05, p_{3a-1a} > 0,05, p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, chỉ số bilirubin toàn phần trong máu chuột ở các lô không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với so với số lượng tiểu cầu trong máu chuột ban đầu ($P_{1b-1a} > 0,05, P_{2b-2a} > 0,05, P_{3b-3a} > 0,05, P_{1c-1a} > 0,05, P_{2c-2a} > 0,05, P_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về chỉ số bilirubin toàn phần trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05; p_{3b-1b} > 0,05; p_{3b-2b} > 0,05; p_{2b-1b} > 0,05; p_{3b-1b} > 0,05; p_{3b-2b} > 0,05$).

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi chỉ số bilirubin toàn phần trong máu chuột nghiên cứu.

Bảng 3.12. Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV lên cholesterol toàn phần trong máu ($n = 10$, \pm SD, mmol/l)

Thời điểm XN	Lô chứng – uống nước cất (1)	Lô trị 1 - uống thuốc thử, liều 560mg/kg/ngày (2)	Lô trị 2 - uống thuốc thử, liều 1680 mg/kg/ngày (3)	P giữa các lô
Trước thí nghiệm (a)	2,03 \pm 0,36	2,01 \pm 0,48	1,98 \pm 0,26	$p_{2a-1a} > 0,05$ $p_{3a-1a} > 0,05$ $p_{3a-2a} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	2,05 \pm 0,32	1,95 \pm 0,41	1,93 \pm 0,25	$p_{2b-1b} > 0,05$ $p_{3b-1b} > 0,05$ $p_{3b-2b} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	2,00 \pm 0,29	2,04 \pm 0,36	1,95 \pm 0,23	$p_{2c-1c} > 0,05$ $p_{3c-1c} > 0,05$ $p_{3c-2c} > 0,05$
P trong cùng lô	$P_{1c-1a} > 0,05$; $P_{1b-1a} > 0,05$; $P_{2c-2a} > 0,05$; $P_{2b-2a} > 0,05$; $P_{3c-3a} > 0,05$; $P_{3b-3a} > 0,05$; $p_{c1-b1} > 0,05$; $p_{c2-b2} > 0,05$; $p_{c3-b3} > 0,05$			-

Bảng 3.12 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, sự khác biệt về cholesterol toàn phần trong máu chuột giữa các lô không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05$, $p_{3a-1a} > 0,05$, $p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, cholesterol toàn phần trong máu chuột ở các lô không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với so với số lượng tiểu cầu trong máu chuột ban đầu ($P_{1b-1a} > 0,05$, $P_{2b-2a} > 0,05$, $P_{3b-3a} > 0,05$, $P_{1c-1a} > 0,05$, $P_{2c-2a} > 0,05$, $P_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về cholesterol toàn phần trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$; $p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$).

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi các chỉ số Cholesterol toàn phần máu chuộ nghiên cứu.

3.2.5. Đánh giá ảnh hưởng lên chức năng thận khi dùng Thông xoang vương HV dài ngày

Kết quả được trình bày ở bảng 3.13.

Bảng 3.13. Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV lên hàm lượng creatinin máu chuộ (n = 10, $\bar{x} \pm SD$, $\mu\text{mol/l}$)

Thời điểm XN	Lô chúg – uốg nước cấ (1)	Lô trị 1 - uốg thuốc thử, liều 560mg/kg/ngày (2)	Lô trị 2 - uốg thuốc thử, liều 1680 mg/kg/ngày (3)	Pgiữa các lô
Trước thí nghiệm (a)	83,04 ± 11,49	85,26 ± 11,95	84,44 ± 12,98	$p_{2a-1a} > 0,05$ $p_{3a-1a} > 0,05$ $p_{3a-2a} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	88,48 ± 11,99	83,80 ± 10,59	84,35 ± 11,01	$p_{2b-1b} > 0,05$ $p_{3b-1b} > 0,05$ $p_{3b-2b} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	84,66 ± 11,75	81,99 ± 12,53	82,01 ± 12,66	$p_{2c-1c} > 0,05$ $p_{3c-1c} > 0,05$ $p_{3c-2c} > 0,05$
Ptrong cùng lô	$P_{1c-1a} > 0,05; P_{1b-1a} > 0,05; P_{2c-2a} > 0,05; P_{2b-2a} > 0,05; P_{3c-3a} > 0,05; P_{3b-3a} > 0,05; p_{c1-b1} > 0,05; p_{c2-b2} > 0,05; p_{c3-b3} > 0,05$			-

Bảng 3.13 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, tại thời điểm ban đầu, sự khác biệt về hàm lượng creatinin trong máu chuộ giữa các lô không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05, p_{3a-1a} > 0,05, p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, hàm lượng creatinin trong máu chuộ ở các lô không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với so với số lượng

tiểu cầu trong máu chuột ban đầu ($P_{1b-1a} > 0,05$, $P_{2b-2a} > 0,05$, $P_{3b-3a} > 0,05$, $P_{1c-1a} > 0,05$, $P_{2c-2a} > 0,05$, $P_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về hàm lượng creatinin trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$; $p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$).

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi hàm lượng creatinin trong máu chuột nghiên cứu.

3.2.6. Kết quả mô bệnh học tạng của chuột thí nghiệm

Quan sát đại thể bằng mắt thường và dưới kính lúp có độ phóng đại 25 lần thấy: màu sắc, hình thái của gan, lách và thận ở hai lô dùng Thông xoang vương HV không khác so với chúng.



Hình 3.1: Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột lô chứng (chuột 08, lô chứng)



Hình 3.2: Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột lô trị 1 (chuột 12, lô trị 1)

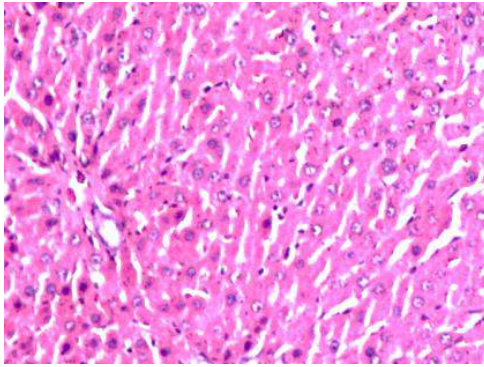


Hình 3.3: Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột lô trị 2 (chuột 24, lô trị 2)

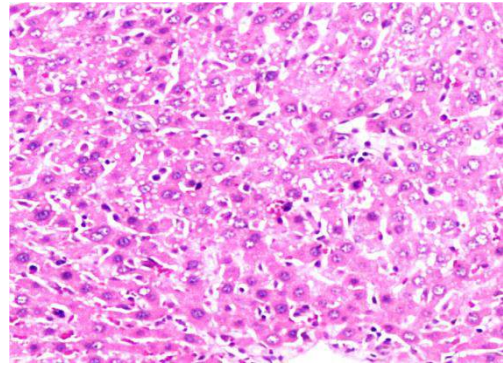
Các hình ảnh trên cho thấy, hình ảnh đại thể các tạng gan, lách, thận của chuột ở các lô trị 1 (ảnh 3.2), lô trị 2 (ảnh 3.3), là các lô cho uống Thông xoang vương HV, có màu nâu đỏ thẫm đồng đều, bề mặt nhẵn, không có u cục hoặc xuất huyết, có đàn hồi khi ấn xuống, không khác biệt so với hình ảnh gan, lách, thận của chuột ở lô chứng (ảnh 3.1).

Các tiêu bản mô bệnh học đọc tại Bộ môn khoa Giải phẫu bệnh - Pháp y, Bệnh viện Quân y 103. Kết quả nghiên cứu về mô bệnh học gan, lách, thận chuột cho thấy Thông xoang vương HV dùng đường uống liên tục trong 28 ngày, không gây tổn thương trên gan, thận, lách của chuột.

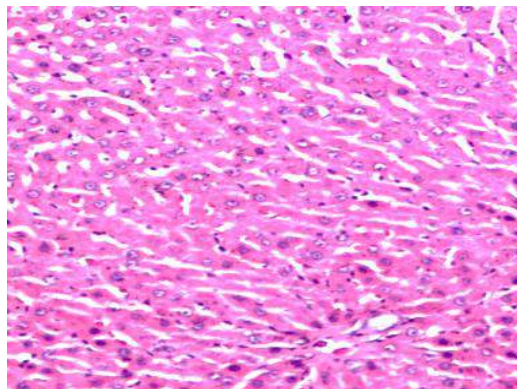
Hình ảnh mô bệnh học gan chuột sau 90 ngày uống thuốc



Hình 3.4: Hình ảnh vi thể gan chuột lô chứng (chuột 9, lô chứng). HE, x 400



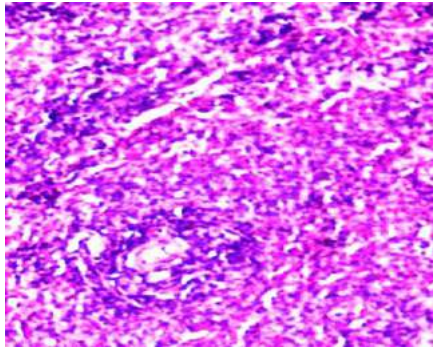
Hình 3.5: Hình ảnh vi thể gan chuột lô trị 1 (chuột 16, lô trị 1). HE, x 400



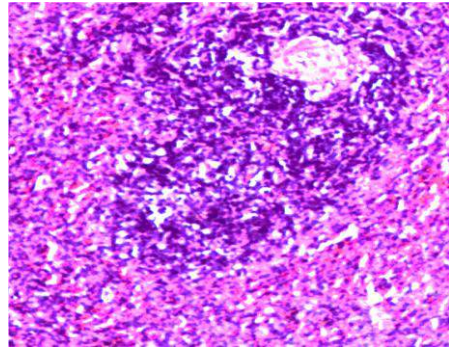
Hình 3.6: Hình ảnh vi thể gan chuột lô trị 2 (chuột 27, lô trị 2). HE, x 400

Nhận xét: Hình ảnh vi thể gan dưới kính hiển vi với độ khuếch đại 400 lần của chuột ở lô trị 1 (ảnh 3.5) và lô trị 2 (ảnh 3.6), là các lô cho Thông xoang vương HV, không

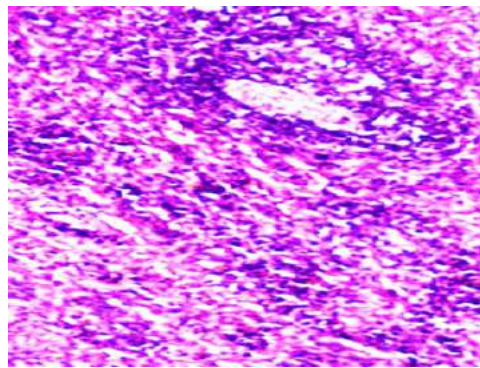
Hình ảnh mô bệnh học lách chuột sau 90 ngày uống thuốc



Hình 3.7: Hình ảnh vi thể lách chuột lô chứng (chuột 7, lô chứng). HE, x 400



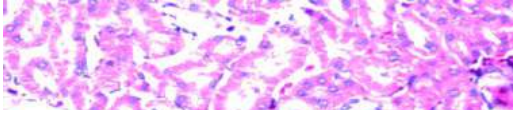
Hình 3.8: Hình ảnh vi thể lách chuột lô trị 1 (chuột 14, lô trị 1). HE, x 400



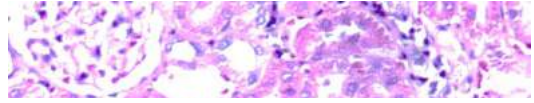
Hình 3.9: Hình ảnh vi thể lách chuột lô trị 2 (chuột 21, lô trị 2). HE, x 400

Nhận xét: Hình ảnh vi thể lách dưới kính hiển vi với độ khuếch đại 400 lần của chuột ở lô trị 1 (ảnh 3.8) và lô trị 2 (ảnh 3.9), là các lô cho uống Thông xoang vương HV, không khác biệt so với hình ảnh vi thể lách chuột ở lô chứng (ảnh 3.7). Trên hình ảnh thấy vùng tủy trắng bắt màu xanh thẫm, tập trung các nang lympho lớn. Vùng tủy đỏ có màu xanh đỏ, với các xoang nang chứa nhiều hồng cầu và một số đại thực bào. Không thấy ở xuất huyết hoặc hoại tử.

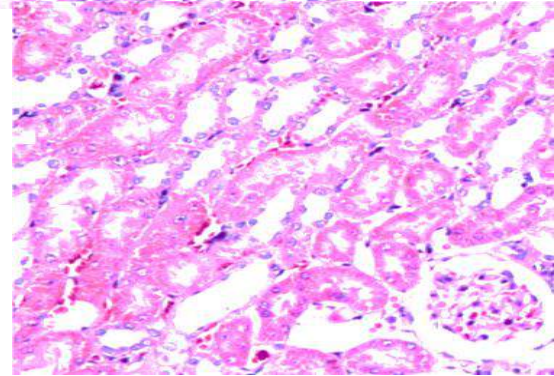
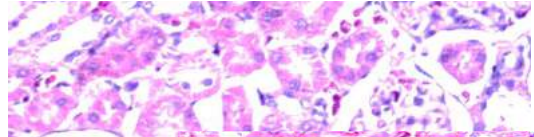
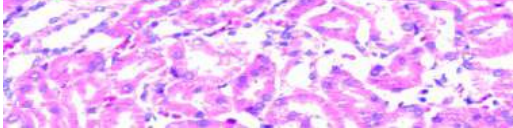
Hình ảnh mô bệnh học thận chuột sau 90 ngày uống thuốc



Hình 3. 10: Hình ảnh vi thể thận chuột lô chứng (chuột 6, lô chứng). HE, x 400



Hình 3.11: Hình ảnh vi thể thận chuột lô trị 1 (chuột 12, lô trị 1). HE, x 400



Hình 3. 12: Hình ảnh vi thể thận chuột lô trị 2 (chuột 24, lô trị 2). HE, x 400

Nhận xét: Hình ảnh vi thể thận dưới kính hiển vi với độ khuếch đại 400 lần của chuột ở lô trị 1 (ảnh 3.11) và lô trị 2 (ảnh 3.12), là các lô cho uống Thông xoang vương HV, không khác biệt so với hình ảnh vi thể thận chuột ở lô chứng (ảnh 3.10). Cấu trúc các vùng chức năng thận bình thường.

3.3. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống dị ứng

Bảng 3.14. Ảnh hưởng của Thông xoang HV lên thời gian cọ mũi (s) của chuột nghiên cứu ($n = 10$, $\bar{x} \pm SD$)

Thời điểm đánh giá	Lô chứng (1)	Lô mô hình (2)	Lô tham chiếu (3)	Lô trị 1 (4)	Lô trị 2 (5)	p
Thời gian cọ mũi (s) của chuột						
Ngày 1	5,63 ± 0,52	5,96 ± 0,61	6,16 ± 0,58	5,74 ± 0,49	5,81 ± 0,52	> 0,05
Ngày 2	6,13 ± 0,56	10,85 ± 1,02	6,21 ± 0,64	6,42 ± 0,57	6,36 ± 0,68	$P_{1-2} < 0,01$ $P_{3-2} < 0,01$ $P_{4-2} < 0,01$ $P_{5-2} < 0,01$
Ngày 3	5,90 ± 0,63	12,49 ± 1,41	5,69 ± 0,71	6,15 ± 0,69	5,86 ± 0,64	
Ngày 4	6,21 ± 0,65	15,83 ± 1,96	6,14 ± 0,82	6,22 ± 0,75	6,09 ± 0,62	
Ngày 5	6,19 ± 0,72	14,94 ± 1,36	6,26 ± 0,72	6,34 ± 0,67	6,31 ± 0,55	
Ngày 6	5,92 ± 0,66	15,86 ± 1,63	6,05 ± 0,73	6,16 ± 0,64	6,20 ± 0,81	
Ngày 7	5,59 ± 0,62	11,63 ± 1,21	5,89 ± 0,69	5,92 ± 0,70	5,84 ± 0,65	
Ngày 8	5,91 ± 0,60	16,04 ± 1,82	5,88 ± 0,64	5,96 ± 0,62	5,83 ± 0,65	
Ngày 9	5,68 ± 0,62	16,22 ± 1,86	5,49 ± 0,63	5,62 ± 0,76	5,57 ± 0,73	
Ngày 10	5,83 ± 0,69	16,18 ± 1,96	5,95 ± 0,73	6,04 ± 0,69	5,88 ± 0,62	

Bảng 3.14 cho thấy, ở ngày đầu tiên (ngày 1), thời gian cọ mũi của chuột ở các lô tương đương nhau ($p > 0,05$).

Từ ngày thứ 2 đến ngày 10, lô mô hình có thời gian cọ mũi tăng cao có ý nghĩa thống kê so với lô chứng, với $p < 0,01$. Các lô dùng thuốc có thời gian cọ mũi giảm rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,01$), tương đương so với lô chứng.

Bảng 3.15. Ảnh hưởng của Thông xoang HV lên số lần hắt hơi của chuột nghiên cứu ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)

Thời điểm đánh giá	Số lần hắt hơi của chuột (lần)					P
	Lô chứng (1)	Lô mô hình (2)	Lô tham chiếu (3)	Lô trị 1 (4)	Lô trị 2 (5)	
Ngày 1	5,21 ± 0,65	14,86 ± 1,63	5,26 ± 0,72	5,22 ± 0,75	5,09 ± 0,62	$P_{1-2} < 0,01$ $P_{3-2} < 0,01$ $P_{4-2} < 0,01$ $P_{5-2} < 0,01$
Ngày 2	5,19 ± 0,72	11,63 ± 1,21	5,05 ± 0,73	5,34 ± 0,67	5,31 ± 0,55	
Ngày 3	5,92 ± 0,66	15,04 ± 1,82	5,89 ± 0,69	5,16 ± 0,64	5,10 ± 0,81	
Ngày 4	5,09 ± 0,62	16,22 ± 1,86	5,16 ± 0,58	5,12 ± 0,76	5,07 ± 0,73	
Ngày 5	5,31 ± 0,60	14,18 ± 1,96	5,21 ± 0,64	5,04 ± 0,69	5,18 ± 0,62	
Ngày 6	5,68 ± 0,62	10,25 ± 1,02	5,88 ± 0,64	5,62 ± 0,70	5,64 ± 0,65	
Ngày 7	5,83 ± 0,69	12,49 ± 1,41	5,49 ± 0,63	5,96 ± 0,62	5,83 ± 0,65	
Ngày 8	5,13 ± 0,52	15,83 ± 1,56	5,95 ± 0,73	5,74 ± 0,49	5,81 ± 0,52	
Ngày 9	5,13 ± 0,56	14,94 ± 1,36	5,19 ± 0,71	5,42 ± 0,57	5,36 ± 0,68	
Ngày 10	5,29 ± 0,63	13,86 ± 1,63	5,14 ± 0,82	5,15 ± 0,69	5,06 ± 0,64	

Bảng 3.15 cho thấy:

Lô mô hình có số lần hắt hơi của chuột tăng cao có ý nghĩa thống kê so với lô chứng, với $p < 0,01$. Các lô dùng thuốc có số lần hắt hơi giảm rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,01$), trở về tương đương so với lô chứng.

Bảng 3.16. Ảnh hưởng của Thông xoang HV lên tổng số lần hắt hơi và tổng thời gian cọ mũi của chuột trong 10 ngày nghiên cứu (n = 10, $\bar{x} \pm SD$)

Thời điểm đánh giá	Lô chứng (1)	Lô mô hình (2)	Lô tham chiếu (3)	Lô trị 1 (4)	Lô trị 2 (5)	p
Tổng số lần hắt hơi (lần)	50,96 ± 6,32	121,81 ± 14,36	49,94 ± 6,38	52,89 ± 5,94	51,72 ± 6,19	P ₁₋₂ < 0,01 P ₃₋₂ < 0,01
Tổng thời gian cọ mũi (s)	56,32 ± 6,84	159,85 ± 16,32	55,94 ± 6,52	58,82 ± 6,95	57,21 ± 8,12	P ₄₋₂ < 0,01 P ₅₋₂ < 0,01

Bảng 3.16 cho thấy: Lô mô hình có tổng số lần hắt hơi tổng thời gian cọ mũi của chuột tăng cao có ý nghĩa thống kê so với lô chứng, với $p < 0,01$. Các lô dùng thuốc có số lần hắt hơi giảm rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,01$), trở về tương đương so với lô chứng.

Bảng 3.17. Ảnh hưởng của Thông xoang HV lên số lượng bạch cầu ái toan xâm nhập và bề dày niêm mạc mũi của chuột (n = 10, $\bar{x} \pm SD$)

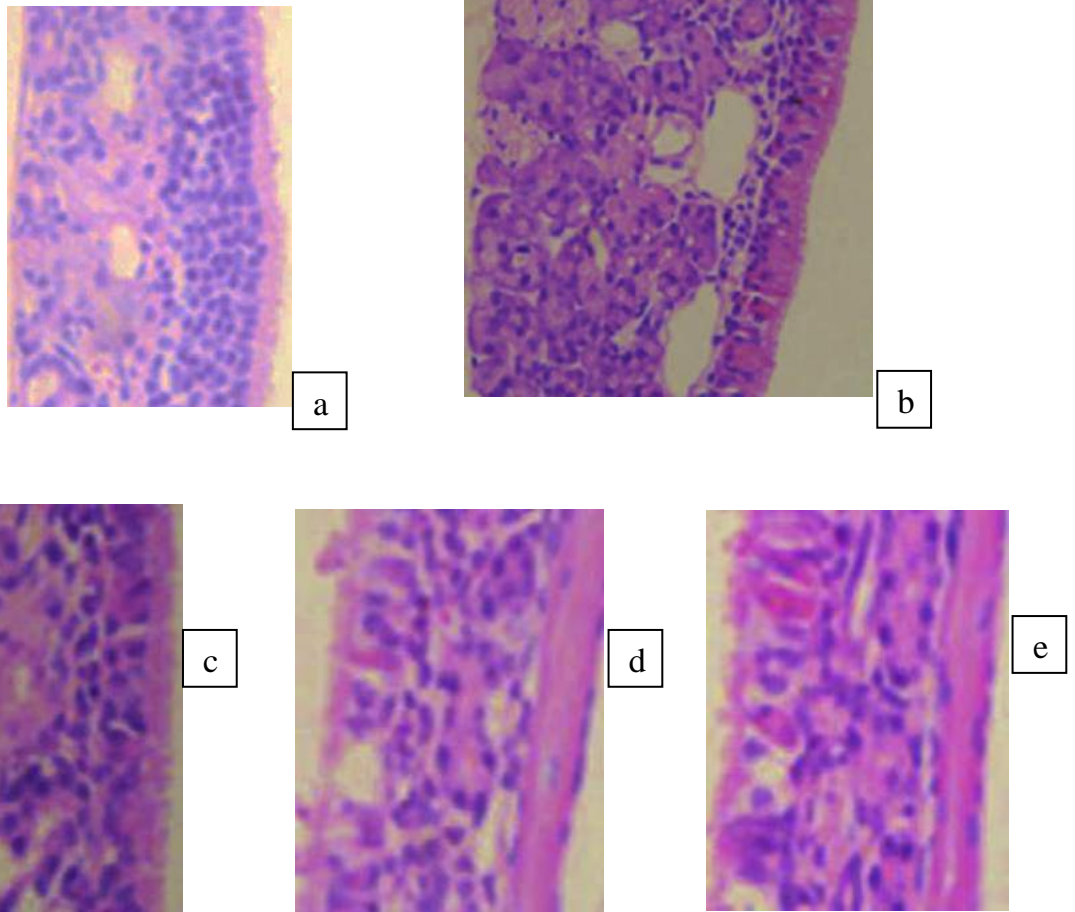
Thời điểm đánh giá	Lô chứng (1)	Lô mô hình (2)	Lô tham chiếu (3)	Lô trị 1 (4)	Lô trị 2 (5)	p
Số lượng bạch cầu ái toan (tế bào)	3,95 ± 0,42	63,89 ± 6,15	36,64 ± 4,06	41,19 ± 4,54	38,62 ± 3,98	p ₂₋₁ < 0,001 p ₃₋₂ < 0,01 p ₄₋₂ < 0,01 p ₅₋₂ < 0,01 p ₃₋₁ < 0,01 p ₄₋₁ < 0,01 p ₅₋₁ < 0,01
Bề dày niêm mạc mũi (µm)	9,38 ± 0,95	19,76 ± 2,14	10,24 ± 1,29	10,86 ± 1,05	10,19 ± 1,12	P ₁₋₂ < 0,01 P ₃₋₂ < 0,01 P ₄₋₂ < 0,01

						$P_{5-2} < 0,01$
--	--	--	--	--	--	------------------

Bảng 3.17 cho thấy, số lượng bạch cầu ái toan xâm nhập ở lô mô hình tăng cao rõ rệt so với ở lô chứng ($p < 0,001$). Các lô dùng thuốc có số lượng bạch cầu ái toan xâm nhập giảm rõ so với lô mô hình ($p < 0,01$), nhưng vẫn còn cao so với lô chứng ($p < 0,01$).

Bề dày niêm mạc mũi ở lô mô hình tăng cao rõ rệt so với ở lô chứng ($p < 0,01$). Các lô dùng thuốc có bề dày niêm mạc mũi giảm rõ so với lô mô hình ($p < 0,01$), trở về tương đương so với lô chứng ($p < 0,01$).

*** Hình ảnh mô bệnh học niêm mạc mũi**



Hình 3.1. Mô bệnh học niêm mạc mũi nhuộm HE: a. lô chứng; b. lô mô hình; c. lô tham chiếu; d. lô trị 1; e. lô trị 2.

Nhận xét:

Hình ảnh mô bệnh học nhuộm HE cho thấy lô mô hình có niêm mạc mũi dày lên rõ rệt, xâm nhiễm nhiều bạch cầu ái toan. Các lô dùng thuốc chiều dày có niêm mạc mũi và số lượng bạch cầu ái toan xâm nhiễm giảm rõ rệt so với lô mô hình. Chiều dày niêm mạc mũi của chuột ở các lô dùng thuốc tương đương so với lô chứng, tuy nhiên số lượng bạch cầu ái toan xâm nhiễm ở các lô này vẫn nhiều hơn so với ở lô chứng.

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

Viêm mũi xoang là một bệnh lý phổ biến trên thế giới, thậm chí cả ở những nước phát triển với nền y học tân tiến như Mỹ, Đức, Nhật... Ở nước ta cũng không phải là ngoại lệ. Các triệu chứng của viêm mũi xoang như ngạt mũi, chảy nước mũi, đau đầu khiến người bệnh khó chịu, tốn chi phí điều trị và trực tiếp làm giảm chất lượng sống của người dân.

Người mắc bệnh viêm mũi xoang là những người phải thường xuyên tiếp xúc với các khói bụi, hóa chất độc hại ..., vốn là những yếu tố thuận lợi cho sự phát triển của bệnh. Những người dân sống trong các khu đô thị, thành phố đông đúc có môi trường bị ô nhiễm, những người công nhân phải làm việc trong những công trường, nhà máy..., cũng là những đối tượng có nguy cơ mắc bệnh cao. [1], [4], [6].

Nền Y học Việt Nam với ngàn năm tồn tại, phát triển, đã có những đóng góp to lớn cho công cuộc bảo vệ sức khỏe nhân dân. Các kinh nghiệm điều trị được đúc kết và kiểm chứng trên thực tiễn lâm sàng, tạo nên một hệ thống kiến thức y học phong phú, trong đó có nhiều bài thuốc, vị thuốc có tác dụng rất tốt trong điều trị một số bệnh về đường hô hấp nói chung và bệnh về mũi xoang nói riêng nhưng chưa được nghiên cứu khoa học làm rõ về độc tính và các tác dụng dược lý.

Cùng với sự phát triển của khoa học công nghệ, y học thế giới đã có nhiều phương pháp điều trị viêm mũi xoang, nhiều thuốc cũ được cải tiến và nhiều thuốc mới ra đời với những hiệu quả nhất định trên lâm sàng. Song mục tiêu phấn đấu của các nhà khoa học là không ngừng nâng cao hiệu quả và tính an toàn của thuốc, đồng thời làm giảm tác dụng không mong muốn khi phải dùng dài ngày mà giá thành lại hợp lý.

Từ nhiều năm qua, các bác sỹ tại Bệnh viện Tuệ Tĩnh đã sử dụng bài thuốc “Thông xoang vương HV” theo phương pháp kê đơn truyền thống điều trị cho bệnh nhân viêm xoang mũi một cách hiệu quả. Bài thuốc có tác dụng cải thiện tốt các triệu chứng lâm sàng như hắt hơi, chảy nước mũi, nước mũi hôi... Tuy nhiên, thuốc dưới dạng cao lỏng theo phương pháp kê đơn và sắc thuốc truyền thống còn nhiều bất tiện trong bảo quản, sử dụng, cũng như khó để đến tay được nhiều người bệnh... Vì vậy, chúng tôi đã cải dạng sử dụng bài thuốc dưới dạng viên nang và có tên là “Thông xoang vương HV”. Viên nang “Thông xoang vương HV” có nhiều ưu điểm về điều trị cũng như giá trị kinh tế, có nhiều tiềm năng trong điều trị viêm mũi xoang.

Để thêm bằng chứng về tính an toàn của thuốc, cũng như đánh giá cơ chế chống dị ứng, làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo của thuốc, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: “Đánh giá độc tính cấp, bán trường diễn và tác dụng chống dị ứng của viên nang Thông xoang vương HV trên động vật thực nghiệm”.

4.1. Về độc tính cấp, bán trường diễn của viên nang Thông xoang vương HV trên động vật thực nghiệm.

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. Viên nang Thông xoang vương HV là dạng bào chế hiện đại của bài thuốc nghiệm phương, do đó là đối tượng cần được đánh giá về độc tính cấp và bán trường diễn [34].

4.1.1. Về độc tính cấp của viên nang Thông xoang vương HV

Độc tính cấp là những tác dụng không mong muốn xảy ra sau khi dùng một chất trong vòng 24 giờ. Đánh giá độc tính cấp là một nghiên cứu quan trọng khi phát triển một bài thuốc mới. Nghiên cứu độc tính cấp giúp xem xét

khoảng cách giữa liều độc và liều tác dụng để xác định phạm vi an toàn của thuốc, đồng thời xác định được LD50 của thuốc, từ đó có thể chọn liều thử tác dụng ED50.

Litchfield – Wilcoxon là phương pháp được chứng minh có tác dụng tốt nhất để nghiên cứu độc tính cấp, đạt hiệu quả cao và tốn ít động vật để làm thực nghiệm [33].

Động vật (thường dùng chuột) được dùng thuốc trong 24 giờ và được quan sát trong 1 tuần để xác định các triệu chứng độc (nếu có). 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 cho chuột [35].

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 Thông xoang vương HV, không có chuột nào bị chết nên không có bất kỳ các nguyên nhân nào kể trên.

Nghiên cứu độc tính cấp đường uống trên chuột nhắt trắng, chuột được chia thành các lô, mỗi lô 10 con và từng lô được cho uống thuốc thử theo liều từ thấp đến cao với cùng một thể tích mỗi lần uống. Chuột được theo dõi liên tục trước và sau khi uống thuốc thử để ghi nhận các diễn biến bất thường như nôn, co giật, kích động, bài tiết quá mức phân, nước tiểu..., theo dõi số lượng chuột chết. Trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc thử ghi nhận các bất thường, số chuột chết. Tất cả chuột chết đều được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Qua đó, ta xác định được liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột. Từ kết quả đó, xây dựng sơ đồ tuyến tính để xác định LD50 (Lethal Dose) – liều gây chết 50% chuột được uống thuốc thử để có cơ sở chọn liều thử tác dụng ED50 (Effective Dose) cho thuốc thử.

Ở nghiên cứu này, chuột được cho uống viên nang Thông xoang vương HV liều tăng dần từ 10,0g/kg thể trọng đến liều cao nhất là 30,0/kg thể trọng. Mức liều 30,0/kg thể trọng là liều lớn nhất có thể cho chuột nhắt trắng uống được trong 24 giờ, nhưng không có chuột nào chết và không thấy biểu hiện bất thường nào ở chuột. Liều dự kiến có hiệu quả khi dùng trên chuột nhắt trắng là 0,96g/kg/24h. Mức liều 30,0g/kg thể trọng gấp 31,25 lần mức liều 0,96g/kg/24h. Như vậy chuột đã được cho uống mức liều gấp 31,25 lần mức liều dự kiến có hiệu quả, 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 viên nang Thông xoang vương HV theo đường uống trên chuột nhắt trắng với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24h (gấp 31,25 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 thuốc liều cao, chứng tỏ viên nang Thông xoang vương HV có tính an toàn cao, khoảng an toàn điều trị rộng.

Các dược liệu dùng trong bào chế viên nang “Thông xoang vương HV” chủ yếu là những dược liệu từ lâu được sử dụng phổ biến trong dân gian cũng như trên lâm sàng, ngoài tế tân thì các dược liệu khác rất ít độc tính. Tuy nhiên, tế tân sử dụng trong bài thuốc dùng bào chế viên nang với hàm lượng thấp. Đồng thời, tế tân được dùng phối hợp với các vị thuốc trong bài thuốc theo nguyên lý y học cổ truyền, làm giảm đáng kể độc tính của các dược liệu thành phần. Kết quả đánh giá tính an toàn của viên nang “Thông xoang vương HV” cũng góp phần cho thấy sự hợp lý trong phối hợp các vị thuốc trong bài thuốc dùng bào chế.

4.1.2. Về độc tính bán trường diễn của Thông xoang vương HV

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn được thực hiện bằng cách cho động vật thí nghiệm uống thuốc thử hàng ngày liên tục trong một khoảng thời gian nhất định. Thời gian dùng thuốc thử phụ thuộc vào thời gian dùng trên lâm sàng [35]. Theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới [34] và quy định của Bộ y tế Việt Nam, thời gian nghiên cứu bán trường diễn trên động vật thường gấp 4 lần thời gian dự kiến dùng trên người. Tuy nhiên, nếu nghiên cứu trên động vật trong thời gian quá dài, đặc biệt khi cho động vật dùng thuốc cưỡng bức (qua kim cong đầu tù), một số yếu tố nhiễu có thể ảnh hưởng đến kết quả nghiên cứu. Vì vậy, nếu thời gian dự định sử dụng trên người là dùng hàng ngày trên 30 ngày thì thời gian nghiên cứu bán trường diễn trên động vật là 3 tháng [35], [36]. Nghiên cứu bán trường diễn của Thông xoang vương HV được thực hiện trong thời gian 3 tháng (90 ngày), với mục tiêu nhằm bảo đảm việc đánh giá được tính an toàn của chế phẩm khi dự kiến sử dụng trên người hàng ngày trên 30 ngày.

Độc tính bán trường diễn của Thông xoang vương HV được thực hiện trên chuột cống trắng, số lượng chuột mỗi lô là 10, và gồm 3 lô: một lô chứng sinh lý; một lô dùng thuốc với mức liều tương đương mức liều dự kiến điều trị (quy đổi theo hệ số liều ở chuột cống trắng gấp 7 lần liều ở người khi tính theo thể trọng); và một lô dùng liều gấp 3 lần liều 1. Việc thiết kế các mức liều và số lượng như vậy nhằm đảm bảo độ tin cậy của nghiên cứu và tuân theo qui định của Bộ Y tế trong đánh giá tính an toàn của thuốc [35].

Các chỉ tiêu để đánh giá độc tính bán trường diễn bao gồm: tình trạng chung và thay đổi thể trọng, các chỉ số huyết học, các chỉ số sinh hoá đánh giá chức năng gan, thận và đặc điểm giải phẫu bệnh của gan, lách, thận. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn sau 90 ngày trên chuột cống trắng cho thấy:

4.1.2.1. Tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng

Tình trạng chung và cân nặng của động vật thực nghiệm là các chỉ số nghiên cứu bắt buộc theo dõi trước khi dùng thuốc và định kỳ trong thời gian dùng thuốc [34].

Bảng 3.2 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, sự khác biệt về thể trọng giữa các lô chuột không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05$, $p_{3a-1a} > 0,05$, $p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày, thể trọng chuột ở các lô chuột tăng hơn so với thể trọng chuột ban đầu, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p_{1b-1a} < 0,01$, $p_{2b-2a} < 0,01$, $p_{3b-3a} < 0,01$). Sự khác biệt về thể trọng giữa các lô ở thời điểm 45 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$)

Tại thời điểm 90 ngày, thể trọng chuột ở các lô tăng hơn so với thể trọng chuột ban đầu, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p_{1c-1a} < 0,01$, $p_{2c-2a} < 0,01$, $p_{3c-3a} < 0,01$). Sự khác biệt về thể trọng giữa các lô ở thời điểm 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$)

Như vậy Thông xoang vương HV không ảnh hưởng đến sự phát triển thể trọng của chuột.

Trong suốt thời gian nghiên cứu, chuột ở cả ba lô đều hoạt động bình thường, lông mượt, da niêm mạc bình thường, ăn uống bình thường, phân thành khuôn. Sự phát triển cân nặng của chuột ở các lô bình thường.

4.1.2.2. Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV đến chức năng tạo máu

Các chỉ số trong xét nghiệm tế bào máu ngoại vi có giá trị lớn trong việc đánh giá chức năng tạo máu [34]. Vì vậy, chúng tôi đánh giá ảnh hưởng của Thông xoang vương HV đến chức phận tạo máu thông qua các chỉ số huyết học gồm: số lượng hồng cầu, thể tích trung bình hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu. Ngoài ra, hình ảnh đại thể và vi thể lách, một cơ quan quan trọng phản ánh chức năng tạo máu và đời sống của các tế bào máu cũng được đánh giá.

Bảng 3.3 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, sự khác biệt về số lượng hồng cầu trong máu chuột giữa các lô không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05$, $p_{3a-1a} > 0,05$, $p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, số lượng hồng cầu trong máu chuột ở các lô không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với số lượng hồng cầu trong máu chuột ban đầu ($p_{1b-1a} > 0,05$, $p_{2b-2a} > 0,05$, $p_{3b-3a} > 0,05$, $p_{1c-1a} > 0,05$, $p_{2c-2a} > 0,05$, $p_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về số lượng hồng cầu trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$; $p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$)

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên các chỉ tiêu về số lượng hồng cầu trong máu chuột.

Bảng 3.4 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột giữa các lô khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05$, $p_{3a-1a} > 0,05$, $p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột ở các lô không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với hàm lượng

huyết sắc tố trong máu chuột ban đầu ($p_{1b-1a} > 0,05$, $p_{2b-2a} > 0,05$, $p_{3b-3a} > 0,05$, $p_{1c-1a} > 0,05$, $p_{2c-2a} > 0,05$, $p_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$; $p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$).

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên các chỉ tiêu về hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột.

Bảng 3.5 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, sự khác biệt về hematocrit trong máu chuột giữa các lô không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05$, $p_{3a-1a} > 0,05$, $p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, hematocrit máu chuột các lô không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với hematocrit máu chuột ban đầu ($p_{1b-1a} > 0,05$, $p_{2b-2a} > 0,05$, $p_{3b-3a} > 0,05$, $p_{1c-1a} > 0,05$, $p_{2c-2a} > 0,05$, $p_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về hematocrit máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$; $p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$).

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên các chỉ tiêu về hematocrit trong máu chuột.

Bảng 3.6 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, sự khác biệt về thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột giữa các lô không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05$, $p_{3a-1a} > 0,05$, $p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột ở các lô không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột ban đầu ($p_{1b-1a} > 0,05$, $p_{2b-2a} > 0,05$, $p_{3b-3a} > 0,05$, $p_{1c-1a} > 0,05$, $p_{2c-2a} > 0,05$, $p_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90

ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$; $p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$)

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên các chỉ tiêu về thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột.

Bảng 3.7 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, sự khác biệt về số lượng bạch cầu trong máu chuột giữa các lô không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05$, $p_{3a-1a} > 0,05$, $p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, số lượng bạch cầu trong máu chuột ở các lô không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với so với số lượng bạch cầu trong máu chuột ban đầu ($p_{1b-1a} > 0,05$, $p_{2b-2a} > 0,05$, $p_{3b-3a} > 0,05$, $p_{1c-1a} > 0,05$, $p_{2c-2a} > 0,05$, $p_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về số lượng bạch cầu trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$; $p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$).

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên các chỉ tiêu về số lượng bạch cầu trong máu chuột.

Bảng 3.8 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, sự khác biệt về số lượng tiểu cầu trong máu chuột giữa các lô không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05$, $p_{3a-1a} > 0,05$, $p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, số lượng tiểu cầu trong máu chuột ở các lô không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với so với số lượng tiểu cầu trong máu chuột ban đầu ($p_{1b-1a} > 0,05$, $p_{2b-2a} > 0,05$, $p_{3b-3a} > 0,05$, $p_{1c-1a} > 0,05$, $p_{2c-2a} > 0,05$, $p_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về số lượng tiểu cầu trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$; $p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$).

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên các chỉ tiêu về số lượng tiểu cầu trong máu chuột.

Kết quả nghiên cứu từ bảng 3.2 đến 3.9 cho thấy, xét nghiệm máu về các chỉ số huyết học tại các thời điểm sau uống Thông xoang vương HV trong 45 và 90 ngày không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so với trước khi dùng thuốc ở tất cả các chỉ số nghiên cứu ($p > 0,05$).

Các kết quả này phản ánh Thông xoang vương HV ở cả hai mức liều đã dùng, không gây ảnh hưởng xấu lên chức năng tạo máu và đời sống hồng cầu của chuột sau 90 ngày uống thuốc thử.

4.1.2.3. Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV đến gan

Gan là một tạng lớn nhất của cơ thể, vừa có chức năng ngoại tiết, vừa có chức năng nội tiết, vừa là kho dự trữ của nhiều chất, vừa là trung tâm chuyển hóa quan trọng của cơ thể và có tính chất sinh mạng. Vì vậy, nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc đến gan là rất cần thiết khi đánh giá độc tính của thuốc [35].

Khi đưa thuốc vào cơ thể, thuốc có thể gây độc với gan, làm tổn thương gan. Sự tổn thương tế bào gan làm tăng hoạt độ của một số enzym có nguồn gốc gan trong huyết thanh, quan trọng nhất là 2 enzym ALT (Alanin transaminase) và AST (Aspartat transaminase). ALT là enzym có nhiều nhất ở gan, khu trú trong bào tương của tế bào nhu mô gan. Khi tổn thương hủy hoại tế bào gan, thậm chí chỉ cần thay đổi tính thấm của màng tế bào gan, hoạt độ ALT trong máu đã tăng cao. Khác với ALT, 2/3 AST khu trú trong ty thể (mitochondria) và chỉ ít hơn 1/3 lượng AST khu trú ở bào tương của tế bào. Khi tổn thương tế bào gan ở mức độ dưới tế bào, AST trong ty thể được giải phóng ra. Do đó, khi tổn thương gan, AST và ALT đều tăng rất cao so với bình thường, nhưng mức độ tăng của ALT cao hơn so với AST, tăng sớm trước khi có vàng da, ở tuần đầu vàng da.

Bảng 3.9 cho thấy, so sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, hoạt độ các enzym AST và ALT trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05$, $p_{3a-1a} > 0,05$, $p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày, hoạt độ các enzym AST và ALT trong máu chuột so với hoạt độ các enzym AST và ALT trong máu chuột ban đầu khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p_{1b-1a} > 0,05$, $p_{2b-2a} > 0,05$, $p_{3b-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về hoạt độ các enzym AST và ALT trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$).

Tại thời điểm 90 ngày, hoạt độ các enzym AST và ALT trong máu chuột so với hoạt độ các enzym AST và ALT trong máu chuột ban đầu khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p_{1c-1a} > 0,05$, $p_{2c-2a} > 0,05$, $p_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về hoạt độ các enzym AST và ALT trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$).

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi hoạt độ các enzym AST và ALT có ý nghĩa thống kê, cho thấy Thông xoang vương HV không gây ra hủy hoại tế bào gan trên chuột nghiên cứu.

Kết quả mô bệnh học cũng phù hợp với kết quả xét nghiệm hóa sinh máu. Hình ảnh đại thể và vi thể gan ở cả hai lô uống Thông xoang vương HV đều có cấu trúc tế bào gan bình thường, khoảng cửa và mạch máu bình thường giống như lô chứng, không thấy hình ảnh tổn thương vi thể gan.

Albumin là loại protein quan trọng nhất của huyết thanh. Albumin tham gia vào hai chức năng chính là duy trì từ 70 đến 80% áp lực thẩm thấu trong huyết tương, đồng thời liên kết vận chuyển các chất có dạng phân tử nhỏ như bilirubin, các acid béo hoặc thuốc có bên trong máu. Gan là nơi tổng hợp protein chính cho nên khi nội tạng này bị tổn thương thì sẽ kéo theo chức

năng gan bị suy giảm. Điều này dẫn đến việc hấp thụ các chất dinh dưỡng protein không tốt hoặc bị đình trệ dẫn tới sự tổng hợp Albumin kém, do đó việc xét nghiệm chỉ số nồng độ Albumin có trong máu có giá trị trong đánh giá tổn thương chức năng gan.

Bảng 3.10 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, sự khác biệt về chỉ số albumin trong máu chuột giữa các lô không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05$, $p_{3a-1a} > 0,05$, $p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, chỉ số albumin trong máu chuột ở các lô không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với so với số lượng tiểu cầu trong máu chuột ban đầu ($p_{1b-1a} > 0,05$, $p_{2b-2a} > 0,05$, $p_{3b-3a} > 0,05$, $p_{1c-1a} > 0,05$, $p_{2c-2a} > 0,05$, $p_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về chỉ số albumin trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$; $p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$).

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi các chỉ số albumin trong máu chuột nghiên cứu (không làm ảnh hưởng chức năng tổng hợp Albumin của gan).

Bilirubin là sản phẩm thoái hóa của hemoglobin ở lưới nội mạc võng mô như gan, lách, tuỷ xương. Trong nghiên cứu này, chỉ số bilirubin toàn phần trong máu được đánh giá trước hết nhằm đánh giá xem thuốc có độc tính với gan không (như gây hủy hoại tế bào gan, gây tắc mật, làm suy giảm chức năng liên hợp của gan... sẽ làm tăng bilirubin trong máu). Đồng thời, chỉ số này cũng cho phép đánh giá thuốc có gây ảnh hưởng đến đời sống hồng cầu không (như gây độc làm tan máu cũng dẫn đến tăng bilirubin).

Bảng 3.11 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, sự khác biệt về chỉ số bilirubin toàn phần trong máu chuột giữa các lô không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05$, $p_{3a-1a} > 0,05$, $p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, chỉ số bilirubin toàn phần trong máu chuột ở các lô không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với so với số

lượng tiểu cầu trong máu chuột ban đầu ($P_{1b-1a} > 0,05$, $P_{2b-2a} > 0,05$, $P_{3b-3a} > 0,05$, $P_{1c-1a} > 0,05$, $P_{2c-2a} > 0,05$, $P_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về chỉ số bilirubin toàn phần trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$; $p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$).

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi chỉ số bilirubin toàn phần trong máu chuột nghiên cứu. Đây được xem là một tiêu chí nói lên chế phẩm không gây độc với gan, cũng như không ảnh hưởng đến đời sống hồng cầu.

Cholesterol là một thành phần của lipid máu, đồng thời đóng vai trò quan trọng trong hầu hết các hoạt động của cơ thể. Cholesterol là một yếu tố không thể thiếu trong quá trình hoạt động của tế bào sợi thần kinh, cũng như trong việc sản xuất một số loại hormone, giúp cơ thể hoạt động bình thường và khỏe mạnh. Cholesterol toàn phần được tổng hợp ở nhiều mô khác nhau nhưng chủ yếu là ở gan (75%) và tế bào thành ruột. Nó được sử dụng để phát hiện nguy cơ vữa xơ động mạch và để chẩn đoán và theo dõi điều trị các bệnh có liên quan đến nồng độ cholesterol cũng như các rối loạn chuyển hóa lipid hay lipoprotein.

Bảng 3.12 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, , sự khác biệt về cholesterol toàn phần trong máu chuột giữa các lô không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05$, $p_{3a-1a} > 0,05$, $p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, cholesterol toàn phần trong máu chuột ở các lô không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với so với số lượng tiểu cầu trong máu chuột ban đầu ($P_{1b-1a} > 0,05$, $P_{2b-2a} > 0,05$, $P_{3b-3a} > 0,05$, $P_{1c-1a} > 0,05$, $P_{2c-2a} > 0,05$, $P_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về cholesterol toàn phần trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$; $p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$).

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi các chỉ số Cholesterol toàn phần máu chuột nghiên cứu.

4.1.2.4. Ảnh hưởng của Thông xoang vương HV đến thận

Trong đánh giá độc tính của thuốc, ảnh hưởng của chế phẩm tới gan và thận là yêu cầu bắt buộc phải đánh giá [39]. Thứ nhất, đây là 2 cơ quan rất quan trọng trong quá trình chuyển hóa và thải trừ thuốc. Thứ hai, đây là hai cơ quan dễ bị tổn thương nhất khi dùng thuốc. Thận dễ bị tổn thương khi dùng thuốc do đặc điểm của nó là cơ quan thải trừ, đào thải các chất ra ngoài cơ thể qua nước tiểu. Để tạo thành nước tiểu, quá trình lọc ở thận các mô thận sẽ có nhiều máu qua nhất, thời gian và lượng các chất chuyển hoá mà mô thận tiếp xúc thường là nhiều [36]. Các thuốc và sản phẩm chuyển hóa của thuốc thường là những chất lạ đối với cơ thể, khi qua thận có thể gây độc và làm tổn thương thận, từ đó ảnh hưởng đến chức năng thận.

Hiện nay, creatinin là chỉ số thường được dùng để đánh giá và theo dõi chức năng thận [36]. Nguyên nhân là do Creatinin là thành phần đạm trong máu ổn định nhất, gần như không phụ thuộc vào chế độ ăn hoặc những thay đổi sinh lý mà chỉ phụ thuộc vào khả năng đào thải của thận. Khi cầu thận bị tổn thương, nồng độ creatinin máu tăng sớm và tin cậy.

Bảng 3.13 cho thấy, tại thời điểm ban đầu, sự khác biệt về hàm lượng creatinin trong máu chuột giữa các lô không có ý nghĩa thống kê ($p_{2a-1a} > 0,05$, $p_{3a-1a} > 0,05$, $p_{3a-2a} > 0,05$).

Tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày, hàm lượng creatinin trong máu chuột ở các lô không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với số lượng tiểu cầu trong máu chuột ban đầu ($P_{1b-1a} > 0,05$, $P_{2b-2a} > 0,05$, $P_{3b-3a} > 0,05$, $P_{1c-1a} > 0,05$, $P_{2c-2a} > 0,05$, $P_{3c-3a} > 0,05$). Sự khác biệt về hàm lượng creatinin trong máu chuột giữa các lô ở thời điểm 45 ngày và 90 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$; $p_{2b-1b} > 0,05$; $p_{3b-1b} > 0,05$; $p_{3b-2b} > 0,05$).

Như vậy Thông xoang vương HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi hàm lượng creatinin trong máu chuột nghiên cứu.

Ngoài chỉ số creatinin, chỉ số Albumin máu cũng được dùng để đánh giá xem có tổn thương ở thận hay không. Mức nồng độ Albumin thấp cũng có thể phản ánh tình trạng tổn thương hoặc hư hại của thận do không thể ngăn chặn Albumin rò rỉ từ máu vào nước tiểu và mất đi nhanh chóng [39]. Trong trường hợp này, xét nghiệm nồng độ Albumin bên trong nước tiểu để có thể xác định chính xác hơn. Trong nghiên cứu này, việc dùng Thông xoang vương HV trong thời gian dài không bị ảnh hưởng lên nồng độ Albumin máu, và cũng là một bằng chứng chứng tỏ không gây tổn thương thận.

Các kết quả ở trên cũng hoàn toàn phù hợp với kết quả về mô bệnh học thận. Quan sát đại thể thận của tất cả các chuột nghiên cứu, cấu trúc vi thể thận của 30% số chuột thực nghiệm ở mỗi lô cho thấy: ở hai lô uống Thông xoang vương HV, hình ảnh cấu trúc vi thể các vùng chức năng của thận bình thường như chuột lô chứng.

Các dược liệu trong bài thuốc đều là những vị dược liệu được sử dụng lâu năm trong y học cổ truyền. Kết quả nghiên cứu cho thấy tính an toàn của chúng, đặc biệt khi được phối kết hợp trong một bài thuốc theo nguyên lý của y học cổ truyền.

4.2. Về tác dụng chống dị ứng của viên nang Thông xoang vương HV trên động vật thực nghiệm.

Chống dị ứng là một tác dụng mong muốn đối với chế phẩm sử dụng trong điều trị xoang. Dị ứng là một rối loạn quá mẫn của hệ miễn dịch, xảy ra khi cơ thể tiếp xúc với dị nguyên đã được mẫn cảm từ trước. Phản ứng dị ứng thông qua IgE kích hoạt quá mức tế bào mast giải phóng các chất trung gian hóa học gây ra biểu hiện của phản ứng dị ứng, điển hình như histamin, prostaglandin... Các chất trung gian hóa học này gây giãn mạch, tiết dịch, kích

thích gây ngứa. Nếu xảy ra ở vị trí tiếp xúc là niêm mạc mũi xoang, nó làm ảnh hưởng không tốt đến sự chế tiết nhầy, cản trở lưu thông tự nhiên của niêm dịch, giảm độ thông thoáng của mũi xoang, từ đó tạo điều kiện thuận lợi cho các tác nhân khác như vi khuẩn, virus gây bệnh. Dị ứng là phản ứng khi cơ thể đã miễn cảm với một tác nhân nào đó mà ta thường gọi là dị nguyên (giai đoạn miễn cảm) và sau đó lại tiếp xúc với dị nguyên đó ở các lần tiếp theo. Nhiều khi để phát hiện kháng nguyên gì gây ra phản ứng dị ứng của người bệnh là rất khó khăn vì hoàn cảnh, môi trường sống của mỗi người là rất khác nhau, cơ thể mỗi người cũng có những đặc điểm riêng biệt cực kỳ phức tạp. Nghiên cứu phương pháp giải quyết vấn đề này là vô cùng nan giải. Hiện nay, phương pháp mới cho thấy hiệu quả, tuy nhiên cách thức tiến hành rất khó thực hiện, điều kiện áp dụng nghiêm ngặt và phải tiến hành trong thời gian rất lâu thậm chí vài năm liền. Cho nên, phương pháp dùng các thuốc kháng histamin và các sản phẩm trung gian hóa học được giải phóng trong phản ứng dị ứng để điều trị triệu chứng do dị ứng gây ra vẫn được dùng phổ biến hiện nay [41].

Do đó, để đánh giá tác dụng chống dị ứng của *Thông xoang HV*, chúng tôi sử dụng mô hình gây ngứa trên chuột nhắt trắng được mô tả bởi Yong-Seok Im và cộng sự (2016). Chuột được gây nhạy cảm với OVA bằng cách tiêm trong màng bụng 50 mg OVA (albumin trứng gà; Sigma) trong 200 ml dung dịch muối đệm phốt phát (PBS) chứa 2 mg nhôm hydroxit (Alum; Sigma) vào ngày 0, ngày 7 và ngày 14. Một tuần sau lần tiêm cuối cùng (vào ngày 21), chuột được cho hít 20 ml PBS chứa 50 mg / mL OVA vào hốc mũi hai bên. Từ ngày 21 đến ngày 31, các chuột được cho uống nước cất, cetirizine và thuốc thử theo phân lô.

Các triệu chứng viêm mũi dị ứng được đánh giá bằng cách quan sát các triệu chứng mũi và nghiên cứu mô bệnh học mô mũi chuột. Các triệu chứng mũi được đánh giá 2 phút sau đó bằng cách đếm thời gian cọ xát mũi và số lần

chuột hắt hơi trong 10 phút. Tiến hành đánh giá trong 10 ngày, bắt đầu từ ngày 21. Ba giờ sau quan sát lần cuối, gây mê quá liều gây chết chuột. Đầu chuột được cố định bằng formalin 10%, sau đó mô mũi được tách ra khỏi cơ và da của đầu. Mô mũi đã được khử keo trong đệm EDTA 10% trong 14 ngày. Đúc paraffin, cắt tiêu bản dày 5 μm , nhuộm bằng hematoxylin và eosin. Sự xâm nhập của bạch cầu ái toan và độ dày của niêm mạc mũi được quan sát đánh giá.

Cetirizine là thuốc thuộc nhóm kháng Histamin có tác dụng chống dị ứng điển hình, được dùng làm thuốc đối chứng dương trong nghiên cứu này.

Nghiên cứu cho thấy Thông xoang vương HV thể hiện tốt tác dụng chống dị ứng, tương đương so với thuốc tham chiếu, thể hiện qua các chỉ số như giảm số lần hắt hơi của chuột, giảm thời gian cọ mũi của chuột, giảm số lượng bạch cầu ái toan xâm nhiễm vào niêm mạc mũi và giảm chiều dày niêm mạc mũi. Kết quả này tương tự kết quả nghiên cứu của Yong-Seok Im và cộng sự trên dịch chiết Ké đầu ngựa. Nghiên cứu này cũng đánh giá về tác động của dịch chiết Ké đầu ngựa trên hàm lượng TNF- α , IL-1 β , IL-5, IL-6, MCP-1 và MIP-2 trong huyết thanh. Tuy nhiên ở nghiên cứu chúng tôi, vì giới hạn về tài nguyên, thời gian và quy mô nghiên cứu nên chưa thể đánh giá hết những chỉ tiêu trên.

Kết quả nghiên cứu hoàn toàn phù hợp với đặc điểm tác dụng của các dược liệu thành phần. Các vị thuốc trong bài thuốc bào chế viên nang Thông xoang vương HV đều đã được báo cáo có tác dụng chống dị ứng tốt, cả trong các tài liệu về y học cổ truyền cũng như các nghiên cứu dược lý hiện đại. Đây là các vị thuốc có công năng tuyên phế tán hàn, điều hòa dinh vệ, và có các thành phần hóa học có tác dụng chống dị ứng như tân di, thương nhĩ tử, đại táo, tô tử... [15],[39],[40].

Kết quả nghiên cứu của Lê Khánh Trai và cộng sự cũng như trong y văn cũng cho thấy nhóm thuốc khu phong trong bài thuốc gồm Bạch chỉ, Thương

nhĩ tử, Phòng phong và Hoàng kỳ có khả năng kháng histamin trên thực nghiệm [44], [45].

Vì sự khác biệt giữa liều thấp và liều cao của viên nang Thông xoang vương HV không có ý nghĩa thống kê trong nghiên cứu tác dụng chống dị ứng này, nên liệu với mức liều như trên thì tác dụng chống dị ứng của viên nang Thông xoang vương HV đã đạt tối ưu? Cơ chế chống dị ứng của viên nang Thông xoang vương HV như thế nào, có giống với cetirizin hay không, nó ức chế quá trình sản xuất histamin hay đối kháng với histamin ở thụ thể H_1 ? Để xác định cụ thể vai trò của thông xoang vương trong việc phá vỡ cơ chế dị ứng, cần có những nghiên cứu sâu hơn về quá trình này.

Nguyên nhân gây bệnh theo Y học cổ truyền là do những nguyên nhân bên ngoài như phong hàn, phong nhiệt kết hợp với một cơ địa huyết nhiệt mà gây bệnh, điều này tương đồng với cơ chế kháng nguyên gây bệnh trên một cơ thể đã mẫn cảm của dị ứng. Những nguyên nhân nhiệt độc, thấp nhiệt, phong nhiệt uẩn tắc tại khiếu mũi gây ra các chứng trạng giống với biểu hiện của nhiễm khuẩn như sốt, chảy mũi vàng xanh, mùi hôi. Những nguyên nhân đó gây huyết ứ, khí trệ, cản trở lưu thông khí huyết ở khiếu mũi mà gây tiết dịch, chảy mũi, tắc mũi. Viêm là một phản ứng chung của nhiều bệnh khác nhau mà Y học cổ truyền chưa có hệ thống lý luận riêng cho nó, mới dừng lại ở việc quan sát bên ngoài như sưng, nóng, đỏ và cảm giác đau chủ quan của bệnh nhân nhưng cũng có những lý luận giải thích xác đáng. Ngoài ra chứng khí trệ huyết ứ cũng có những ý nghĩa tương đồng như quá trình sung huyết trong quá trình viêm [3],[41]. Như vậy, tương tự Y học hiện đại, viêm mũi xoang trong Y học cổ truyền là một quá trình xuyên suốt từ khởi bệnh, cảm nhiễm phong tà nhiệt độc, gây khí trệ huyết ứ, và có thể diễn biến thành mạn tính nếu như không được can thiệp điều trị kịp thời. Bài thuốc “Thông xoang vương HV” có Tế tân, tân di khai tuyên ty khiếu, thương nhĩ tử

tán uất là 3 vị thuốc chủ phương. Hoàng cầm, bồ công anh, đại hoàng khổ giáng tiết trọc nhiệt, cát căn, tân lương có tác dụng thông hành kinh túc dương minh, tô tử vị tân ôn giáng trở tán, cát cánh khai tiết phế khí, thông thảo dẫn thấp hạ hành, kết hợp tiểu sài hồ thang hòa giải thiếu dương. Phối hợp sử dụng các vị thuốc, có thể cùng lúc tuyên thông ty khiểu, thanh nhiệt thấp trọc nội uất, giải ngoại hàn nội nhiệt nhờ đó mà chữa được viêm mũi xoang [38], [39], [40]. Với xử phương như vậy đã đáp ứng được lý pháp phương dược, tạo ra tác dụng điều trị viêm mũi xoang và phần nào được chứng minh ở các nghiên cứu trên.

Qua kết quả nghiên cứu và những phân tích ở trên, chúng tôi hy vọng có thể góp phần làm sáng tỏ phần nào vai trò và cơ chế tác dụng của Thông xoang vương HV trong điều trị bệnh lý viêm mũi xoang trên cơ sở mối tương quan hỗ trợ lẫn nhau của hai nền Y học, tạo tiền đề cho các nghiên cứu sâu hơn, để có thể ứng dụng viên nang Thông xoang vương HV trên lâm sàng, giúp tạo ra một lựa chọn mới cho điều trị viêm mũi xoang, đóng góp cho công cuộc chăm sóc sức khỏe toàn dân.

KẾT LUẬN

1. Về độc tính cấp và bán trường diễn của viên nang Thông xoang vương HV trên động vật thực nghiệm.

1.1. Độc tính cấp theo đường uống trên chuột nhắt trắng

Chưa tìm thấy LD50 của viên nang Thông xoang vương HV theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống là 30g/kg cân nặng chuột, mà không gây chết chuột nhắt trắng thực nghiệm chứng tỏ viên nang Thông xoang vương HV có khoảng an toàn điều trị rộng.

1.2. Độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng

Trên các lô chuột cống trắng uống viên nang Thông xoang vương HV liều 560mg/kg/ngày/kg/ngày và liều 1680mg/kg/ngày/kg/ngày, liên tục trong 90 ngày cho thấy:

- Tình trạng chung gồm hoạt động, ăn uống, tình trạng lông, da, niêm mạc, chất tiết của chuột bình thường.

- Không gây ảnh hưởng đến sự phát triển cân nặng của chuột.

- Không làm thay đổi các chỉ số huyết học (số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, nồng độ huyết sắc tố, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu).

- Không làm thay đổi các chỉ tiêu sinh hóa máu bao gồm hoạt độ các enzym AST, ALT, Albumin, Creatinin và Cholesterol toàn phần.

- Không gây tổn thương mô bệnh học gan, lách, thận.

Như vậy viên nang Thông xoang vương HV an toàn ở các mức liều dùng và thời gian sử dụng trong nghiên cứu thực nghiệm trên chuột cống trắng.

2. Về tác dụng chống dị ứng của viên nang Thông xoang vương HV trên chuột nhắt trắng gây viêm mũi dị ứng

Viên nang Thông xoang vương HV liều 960mg/kg/ngày và liều 1920mg/kg/ngày có tác dụng chống dị ứng trên mô hình gầy nhồi máu não ở chuột nhắt trắng, thể hiện:

- Làm giảm số lần hắt hơi của chuột, giảm thời gian cọ mũi của chuột ($p < 0,01$ so với lô mô hình)

- Làm giảm số lượng bạch cầu ái toan xâm nhiễm vào niêm mạc mũi và giảm chiều dày niêm mạc mũi trên hình ảnh mô bệnh học nhuộm HE.

Các tác dụng này của viên nang Thông xoang vương HV tương đương với cetirizine 10 mg/kg/ngày

KIẾN NGHỊ

Do thời gian và điều kiện nghiên cứu có hạn, những nghiên cứu trên đây của đề tài mới là bước đầu đánh giá tính an toàn và tác dụng của viên nang Thông xoang vương HV có khả năng giải quyết nguyên nhân gây viêm mũi xoang. Vì vậy, đề nghị được tiếp tục thực hiện thêm một số nghiên cứu như sau:

- Tiếp tục nghiên cứu sâu hơn về tác dụng và cơ chế tác dụng của viên nang Thông xoang vương HV trên thực nghiệm.

- Đánh giá tính an toàn và tác dụng điều trị viêm xoang của viên nang Thông xoang vương HV trên lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Ngô Ngọc Liên** (2000). "*Sinh lý niêm mạc đường hô hấp trên và ứng dụng*", Nội soi Tai mũi họng, (1), tr. 67-74.
2. **Allen M. Seiden et al** (2002). "*Otolaryngology: the essentials*", Thieme, pg. 77-85.
3. **Anzai et al** (2018). "*Phylogenetic affiliation of the Pseudomonads based on 16S rRNA sequence*", *Int J Syst Evol Microbiol*, 50, (4), pg. 1563 - 1589.
4. **Bộ Y tế** (2015). "*Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị một số bệnh về tai mũi họng*", Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 98-101.
5. **Nguyễn Trọng Thông** (2012). "*Histamin và thuốc kháng Histamin, Dược lý học lâm sàng*", Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 541-549.
6. **Bộ Y tế** (2018). "*Tai mũi họng*", Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 57 – 88.
7. **Nguyễn Ngọc Phấn** (2011). "*Viêm mũi - xoang*", Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 22 - 43.
8. **Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội** (2012). "*Dược lý học lâm sàng*", Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 166-180.
9. **Nguyễn Văn Hòa** (2016). "*Nghiên cứu lâm sàng và vi khuẩn trong viêm mũi xoang mạn tính nhiễm khuẩn*", Luận văn thạc sĩ Y học, Đại học Y Hà Nội, tr 50 - 70.
10. **Đại học Y dược TPHCM, Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch** (2015). "*Tai mũi họng-quyển 2*", Nhà xuất bản Y học, tr. 120 - 138.
11. **Ngô Ngọc Liên** (2006). "*Khám mũi xoang*", Giảm yếu bệnh học tai mũi họng, 122-132.
12. **Nguyễn Tấn Phong** (1998). "*Phẫu thuật nội soi chức năng mũi xoang*", Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 34 - 55.
13. **Chester AC** (1994). "*Chronic Sinusitis and the internist*", Inadequate training and education, *Arch Intern Med* 1994, pg. 133-136.

14. **Allen M. Seiden et al** (2002). "*Otolaryngology: the essentials*", Thieme, pg. 77-85.
15. **Lương Sỹ Cần** (1991). "*Viêm xoang cấp và mạn tính*", Bách khoa thư bệnh học, (tập 1), 175-177.
16. **Joao A.C Navarro** (2001). "*The nasal cavity and paranasal Sinuses*", Springer, Berlin, pg. 65 - 78.
17. **Bộ môn Y học cổ truyền Đại học Y Hà Nội** (2005). "*Bài giảng Y học cổ truyền*", Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 23 - 27.
18. **Học viện Trung y Nam Kinh** (2009). "*Trung y học khái luận - tập 1*", Tài liệu dịch tiếng Việt, tr. 122 - 128.
19. **Trần Tâm** (1961). "*Nhĩ – Tị - Yết – hầu – Khẩu – Xi khoa*", Tạp chí Đông y-dược, 34-37.
20. **Trần Thúy** (2002). "*Bệnh ngũ quan Y học cổ truyền*", Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 67-69.
21. **Nguyễn Đức Toàn** (2004). "*Nam y nghiệm phương*", Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 558-565.
22. **Bộ môn Miễn dịch - Sinh lý bệnh trường Đại học Y Hà Nội** (2002). Sinh lý bệnh học, Nhà xuất bản Y học.
23. **Trần Thị Chính** (2002). "*Bài giảng sinh lý bệnh học*", Đại học Y Hà Nội, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội tr. 202-218.
24. **Bộ Y tế** (2014). "*Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị các bệnh về dị ứng – miễn dịch lâm sàng*", Nhà xuất bản Y học, Hà Nội tr. 202-218.
25. **Vũ Triệu An** (1998). "*Quá trình viêm: Sự phát sinh, phát triển và kết thúc*", Tài liệu huấn luyện chuyên ngành sinh lý bệnh, tr. 34 -40.
26. **Bộ Y tế** (2013). "*Vi sinh vật Y học*", Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 142-147.

27. **Nguyễn Văn Hòa** (2016). "*Nghiên cứu lâm sàng và vi khuẩn trong viêm mũi xoang mạn tính nhiễm khuẩn*", Luận văn thạc sĩ Y học, Đại học Y Hà Nội, tr 50 - 70.
28. **Orban N.T, Saleh H, Durham S.R** (2008). *Allergic and Non Allergic Rhinitis*. Middleton's Allergy: Principle and practice, 7th edition, Mosby, 973-98.
28. **Ledford D.K** (2007). *Allergic Rhinitis*. Allergic Diseases, 3th edition, Humana Press, Totowa, New Jersey, 143-166.
29. **Đào Văn Phan** (2003). "*Thuốc hạ sốt, giảm đau, chống viêm - Dược lý học lâm sàng*", Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 166-180.
30. **陈旒馨, 吴继昌, 胡原, 柳普照** (2019), “鼻渊通窍颗粒联合克拉霉素治疗小儿慢性鼻窦炎的临床疗效及对炎症反应因子的影响”, world chinese medicine, Vol 14, No.7, 1780-1788.
(Trần Ni Tổng, Ngô Kế Xương, Hồ Nguyên, Liễu Phổ Chiếu (2019), Nghiên cứu tác dụng điều trị và hoạt tính kháng khuẩn của viên nang ty uyên thông khiếu kết hợp Clarithromycin trên trẻ em viêm mũi xoang mạn tính, world chinese medicine, Vol 14, No.7, 1780-1788).
31. **吴泽幼, 包思, 梁敬, 许俊藩** (2017) “鼻渊通窍颗粒联合莫西沙星治疗急性鼻窦炎的临床研究”, 现代药物与临床, 32-4, 657-660.
(Ngô Trạch Yếu, Bao Tư, Lương Kính, Hứa Tuấn Phan (2017), “Nghiên cứu lâm sàng điều trị viêm xoang cấp tính bằng viên nang Ty uyên thông khiếu kết hợp với Moxifloxacin”, Y dược học lâm sàng hiện đại, 32-4, 657-660).
32. **刘昊澜, 朱镇华** (2016) 鼻渊舒丸治疗脾气虚弱型慢鼻渊的临床观察, 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南 长沙 410007.

(Luu Hạo Lan, Châu Trần Hoa (2016), Nghiên cứu tác dụng điều trị của viên Ty Uyên Thu Hoàn trên bệnh nhân viêm mũi xoang mạn tính thể tý hư, Trường Sa, Hồ Nam, 410007).

33. **Litchfield JT., Wilcoxon F (1949).** *A simplified method of evaluating dose-effect experiments.* J. Pharmacol. Exp. Ther, 1949, 96, 99-113.

34. **World Health Organization (2013).** *Working group on the safety and efficacy of herbal medicine*, Report of regional office for the Western Pacific of the World Health Organization, pg. 77 - 99.

35. **Bộ Y tế (2015),** *Hướng dẫn thử nghiệm lâm sàng và tiền lâm sàng thuốc Đông y, thuốc từ dược liệu*, ban hành kèm theo quyết định số 141/QĐ-K2ĐT.

36. **Bộ Y tế (2005).** *Dự thảo hướng dẫn thử độc tính của thuốc*, Các phương pháp thử độc tính cấp - OECD, Phụ lục 2, tr. 113 - 116.

37. **Jae-Hyun Kim, Yong-Seok Im et Al (2016),** *Xanthii Fructus inhibits allergic response in the ovalbumin-sensitized mouse allergic rhinitis model*, Pharmacogn Magazine. 2015 Oct; 11(Suppl 2): S352–S361.

38. **Viện Dược liệu (2005).** *"Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam"*, Nhà xuất bản Y học, tr. 221 - 338.

39. **Võ Văn Chi (1999).** *"Từ điển cây thuốc Việt Nam"*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 124 - 763.

40. **Đỗ Tất Lợi (2006).** *"Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam"*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 223 - 983.

41. **Dược thư quốc gia,** *chuyên luận về cetirizin hydroclorid*, Nhà xuất bản Y học, trang 269 – 270.

42. **Đỗ Trung Đàm (2001).** *"Phương pháp ngoại suy liều có hiệu quả tương đương giữa người và động vật thí nghiệm"*, Tạp chí Dược học, 2, tr. 29 - 35.

43. **Đào Văn Phan (2012).** *"Các thuốc giảm đau chống viêm"*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr.44 - 55.

44. **Lê Khánh Trai.** (1991). *Khả năng ức chế histamin và acetylcholin của một số dược liệu điều trị các bệnh dị ứng.* Công trình nghiên cứu khoa học Viện Đông Y.

45. **Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương** (2006). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Tập 1, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật. 108 - 110, 127 - 131, 161 - 165, 946 - 950, 1044 - 1046.

Phụ lục: HÌNH ẢNH NGHIÊN CỨU





Phụ lục:

**QUY TRÌNH SẢN XUẤT TÓM TẮT
VIÊN NANG THÔNG XOANG VƯƠNG HV**

HVYDHCTVN
VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

XÁC NHẬN

QUY TRÌNH SẢN XUẤT TÓM TẮT

VIÊN NANG THÔNG XOANG VƯƠNG HV

I. THÀNH PHẦN VÀ ĐẶC ĐIỂM NGUYÊN LIỆU :

STT	Tên vị thuốc	Tên khoa học	Tiêu chuẩn
1	Tế tân	<i>Herba Asari</i>	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V
2	Tân di	<i>Flos Magnoliae</i>	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V
3	Cam thảo	<i>Radix Glycyrrhizae</i>	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V
4	Hoàng cầm	<i>Radix Scutellariae</i>	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V
5	Thương nhĩ tử	<i>Fructus Xanthii</i>	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V
6	Cát căn	<i>Radix Puerariae</i>	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V
7	Sài hồ	<i>Radix Bupleuri</i>	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V
8	Đẳng sâm	<i>Radix Codonopsis</i>	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V
9	Thông thảo	<i>Medulla Tetrapanacis</i>	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V
10	Cát cánh	<i>Radix Platycodi</i>	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V
11	Bạch chỉ	<i>Radix Angelica</i>	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V
12	Đại hoàng	<i>Radix et Rhizoma Rhei</i>	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V
13	Bồ công anh	<i>Herba Lactucae</i>	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V

14	Đại táo	<i>Fructus Zizyphi</i>	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V
15	Tô tử	<i>Fructus Perillae</i>	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V

Tất cả các nguyên liệu được kiểm tra tại phòng kiểm nghiệm của VNC theo tiêu chuẩn của dược điển Việt Nam V. Yêu cầu phải đạt trước khi đưa vào sản xuất.

II. CÔNG THỨC SẢN XUẤT :

tt	Tên nguyên liệu	Hàm lượng viên dạng dược liệu (mg)	Cao khô hỗn hợp tương ứng (mg)
1	Tế tân	156,25	460mg
2	Tân di	312,5	
3	Cam thảo	156,25	
4	Hoàng cầm	468,75	
5	Thương nhĩ tử	312,5	
6	Cát căn	625	
7	Sài hồ	406,25	
8	Đẳng sâm	406,25	
9	Thông thảo	156,25	
10	Cát cánh	312,5	
11	Bạch chỉ	312,5	
12	Đại hoàng	187,5	
13	Bồ công anh	500	
14	Đại táo	312,5	
15	Tô tử	375	

III. XỬ LÝ NGUYÊN LIỆU :

1. Bào chế, chế biến :

Các nguyên liệu dược liệu được xử lý, chế biến theo dược điển Việt Nam V.

2. Chiết xuất cao đặc :

2.1. Phương pháp chiết xuất
phương pháp chiết nước

2.2. Điều kiện chiết xuất

- Số lần chiết : 2
- Tỷ lệ dung môi : dược liệu = 7:1
- Nhiệt độ chiết : 100°C
- Thời gian chiết : 2h cho lần 1 và 1h cho lần 2
- Để lắng và lọc trước khi cô cao

2.3. Cô cao

- Phương pháp cô : cô hờ, áp suất thường
- Nhiệt độ cô : 100°C
- Độ ẩm cao : cô về cao có độ ẩm 15 – 20%

3. Làm cao khô :

Cao đặc còn nóng được đổ mỏng ra khay lót nilon chống dính.

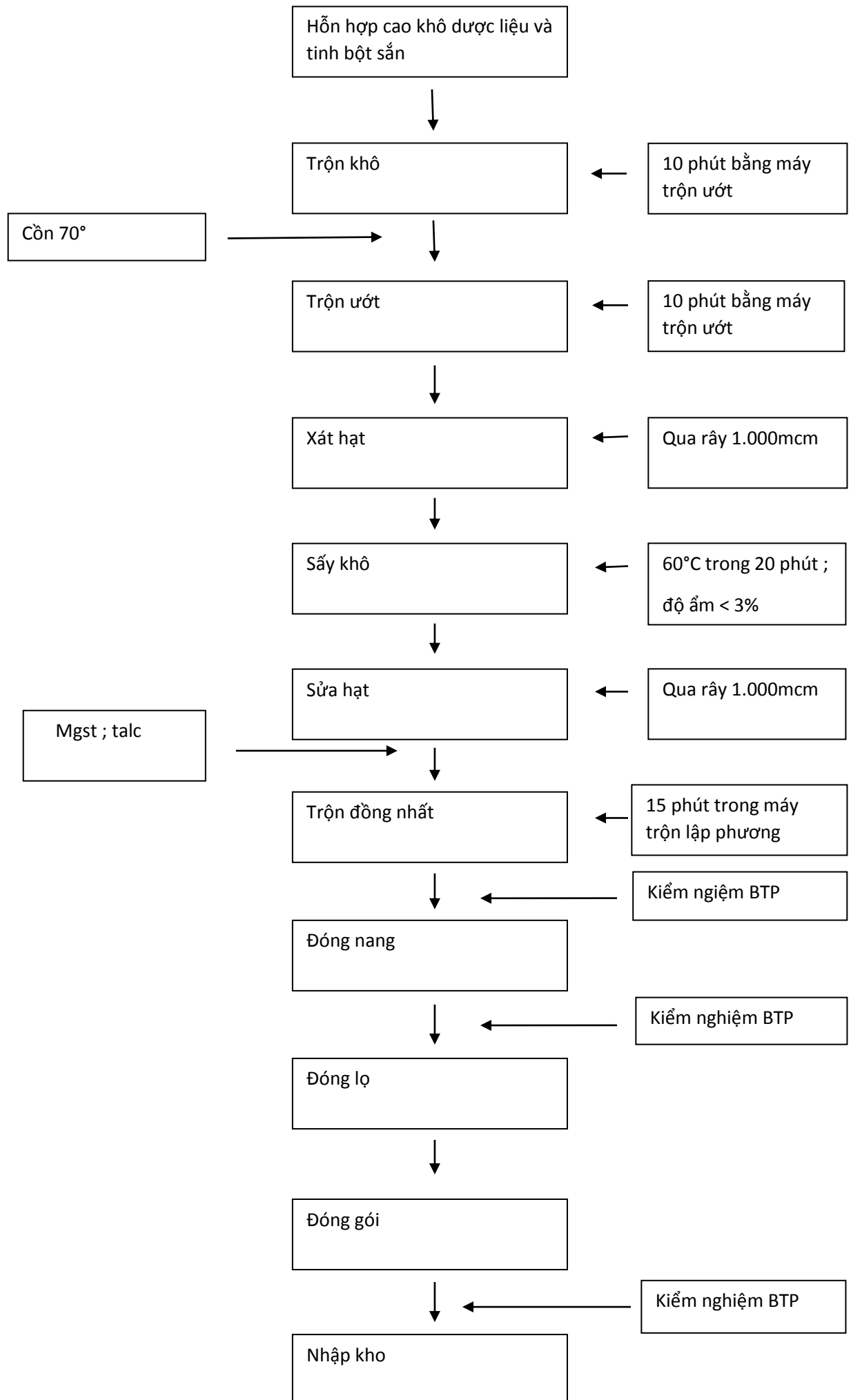
Sấy ở 80°C đến khô (khoảng 50-60h) ; cao khô độ ẩm \leq 2%.

Bánh cao khô được bẻ vỡ rồi nghiền thành bột mịn.

Tỷ lệ cao khô thu được đạt 8,5% so với dược liệu.

IV. QUY TRÌNH SẢN XUẤT :

1. Sơ đồ sản xuất :



2. Mô tả quy trình sản xuất :

2.1. Chuẩn bị :

- Kiểm tra dọn quang dây chuyền theo SOP.

- Công nhân phải được trang bị đầy đủ dụng cụ bảo hộ lao động, vệ sinh sạch sẽ, đeo găng tay khi thao tác công việc theo đúng quy trình thao tác chuẩn.

Tổ trưởng, IPC phải kiểm tra việc thực hiện tốt công việc này theo SOP đã phê duyệt.

2.2. Tiến hành sản xuất :

a. Nhào trộn

Pha chế tá dược dính :

- Ethanol 70°

Thiết bị: Máy trộn ướt tạo hạt JP300

- Cài đặt thông số máy:

	Thông số cài đặt	Ghi chú
Thời gian trộn khô	10 phút	
Thời gian trộn ướt tạo hạt	10 phút	
Tốc độ cánh trộn	30 vòng/phút	

- Tiến hành: cho hỗn hợp cao dược liệu và tinh bột sẵn vào máy trộn, trộn khô 10 phút cho đều rồi đổ đều còn 70° lên khối bột. Bật máy, thời gian trộn là 10 phút.

- Sau khi hết thời gian trộn. xả khối bột ẩm vào các xô có lồng túi PE.

b. Xát hạt

- Nguyên liệu: Hỗn hợp bột ẩm ở trên.

- Thiết bị: rây xát hạt, cỡ lưới 1.000 mcm,

- Cóm sau khi xát, cho vào thuyền sấy của máy sấy tầng sôi để sấy khô.

c. Sấy khô

- Nguyên liệu: Hạt cám còn ẩm từ giai đoạn trên.

- Thiết bị: Máy sấy tầng sôi tự động FG-120 Cài đặt thông số:

	Thông số vận hành
Tốc độ quạt hút	1800-2000
Vị trí cửa gió vào	4
Thời gian làm việc (phút)	25 - 35
Nhiệt nguồn	70
Nhiệt làm việc	60
Số lần đóng mở cửa	4
Số lần giữ túi	2

- Kết thúc quá trình sấy, khi hàm ẩm hạt <4%

d. Sửa hạt

- Nguyên liệu: hạt cốm đã sấy khô ở giai đoạn trên.

- Thiết bị: rây 1.000mcm

- Tiến hành:

- Rây cốm đã sấy khô qua rây 1.000mcm.

+ Cân tổng khối lượng cốm thu được.

+ Ghi nhãn.

e. Trộn đồng nhất

- Nguyên liệu: cốm đã sấy khô và 2% magnesium stearat và 2% talc

- Thiết bị: máy trộn lập phương

- Cài đặt thông số:

+ Vận tốc trộn: 20 vòng/phút

+ Thời gian trộn: 15 phút

-Tiến hành: Hỗn hợp Talc, Magnesium stearat, cốm khô cho vào máy, sau khi trộn xong thu lại cốm qua rây 1.400 mm.

- Sau khi trộn xong, đựng cốm trong 2 lần túi PE buộc kín, cân khối lượng cốm thu được, dán nhãn và ghi vào hồ sơ lô.

+ Nhập kho bán thành phẩm cốm.

+ Lấy mẫu kiểm tra bán thành phẩm cốm:

f. Đóng nang :

- Sau khi kết quả kiểm tra bán thành phẩm cốm đạt kết quả tiến hành chuyển cốm sang đóng nang.

- Nguyên liệu : bán thành phẩm cốm trên

- Thiết bị : sử dụng máy đóng nang tự động JP200 để đóng nang.- Yêu cầu :
khối lượng viên : 500mg +- 5% cả vỏ

- Sau khi đóng xong chứa vào 2 lần túi PE, nhập kho bán thành phẩm

- Lấy mẫu viên kiểm tra bán thành phẩm viên

Nhân viên đóng nang phải kiểm tra 15 phút/lần trong quá trình đóng nang.

g. Đóng lọ :

- Sau khi kết quả kiểm tra bán thành phẩm viên đạt kết quả tiến hành chuyển viên qua đóng lọ.

- Đóng lọ : 60 viên/lọ.

h. Đóng gói :

- Quy cách đóng gói theo lệnh sản xuất.

i. Kiểm tra thành phẩm, đạt nhập kho

V. KẾT QUẢ KIỂM NGHIỆM TRONG QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT :

Giai đoạn kiểm tra	Nội dung kiểm tra	Phương pháp kiểm tra	Tiêu chuẩn áp dụng	Kết quả	Người tiến hành	Người kiểm tra
Trộn đồng nhất	Định tính dược liệu	Sắc ký lớp mỏng	tccs	Dương tính	Nhân viên QC	Trưởng phòng QC
Đóng nang	Độ đồng đều khối lượng	cân	tccs	Đạt	Nhân viên vận hành máy	Nhân viên IPC
	Độ rã	Đo độ rã bằng máy đo	tccs	Đạt	Nhân viên IPC	Nhân viên QC
	Định tính dược liệu	Sắc ký lớp mỏng	tccs	Dương tính	Nhân viên QC	Trưởng phòng QC
Đóng gói	Độ đồng đều khối lượng	cân	tccs	Đạt	Nhân viên vận hành máy	Nhân viên IPC
	Độ rã	Đo độ rã bằng máy đo	tccs	Đạt	Nhân viên IPC	Nhân viên QC
	Định tính dược liệu	Sắc ký lớp mỏng	tccs	Dương tính	Nhân viên QC	Trưởng phòng QC

Hà Nội, Ngày Tháng Năm

LĐ VIỆN NGHIÊN CỨU