

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



NGUYỄN THỊ THU HƯƠNG

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG
ĐIỀU TRỊ XƠ VỮA ĐỘNG MẠCH CỦA VIÊN NANG
ANMAHA TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2022

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



NGUYỄN THỊ THU HƯƠNG

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG
ĐIỀU TRỊ XƠ VỮA ĐỘNG MẠCH CỦA VIÊN NANG
ANMAHA TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

Chuyên ngành: Y học cổ truyền

Mã số: 8720115

Hướng dẫn khoa học:

PGS. TS. NGUYỄN HOÀNG NGÂN

TS. TRẦN ANH TUẤN

HÀ NỘI - 2022

LỜI CẢM ƠN

Để 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 Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam, Phòng đào tạo Sau đại học, các Bộ môn, Khoa phòng của 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.

Tôi cũng xin bày tỏ lòng biết ơn tới toàn thể thầy cô, các anh chị kỹ thuật viên, các em sinh viên đang nghiên cứu khoa học tại bộ môn Dược lý - Học viện Quân y đã luôn bên tôi, giúp đỡ tôi trong quá trình tôi thực hiện và nghiên cứu

Tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới PGS.TS. Nguyễn Hoàng Ngân, TS.Trần Anh Tuấn, là những người thầy hướng dẫn trực tiếp luôn theo sát, thường xuyên giúp đỡ, cho tôi nhiều ý kiến quý báu, sát thực trong quá trình học tập và nghiên cứu để hoàn thành luận văn này.

Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành và lòng biết ơn sâu sắc đến Chi ủy, Lãnh đạo Bệnh viện Công an thành phố Hà Nội, tập thể phòng Kế hoạch tổng hợp đã tạo điều kiện giúp đỡ tôi trong quá trình tôi học tập, thực hiện và nghiên cứu.

Cuối cùng tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành nhất tới gia đình, bạn bè đã luôn đồng hành, động viên, chia sẻ với tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Luận văn hoàn thành có nhiều tâm huyết của người viết, song vẫn không thể tránh khỏi sai sót. Xin cảm ơn sự đóng góp chân thành của quý thầy cô, anh chị em bạn bè đồng nghiệp.

Xin trân trọng cảm ơn!

Tác giả

Nguyễn Thị Thu Hương

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Nguyễn Thị Thu Hương, học viên cao học khóa 12, Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam, chuyên ngành Y học cổ truyền, xin cam đoan:

Đây là luận văn do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của PGS.TS. Nguyễn Hoàng Ngân và TS.Trần Anh Tuấn.

Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.

Các số liệu, thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

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

Hà Nội, ngày tháng 5 năm 2022

Tác giả

Nguyễn Thị Thu Hương

NHỮNG CHỮ VIẾT TẮT TRONG LUẬN VĂN

ALT	: Alanine aminotransferase
AST	: Aspartate aminotransferase
BMI	: Body mass index (Chỉ số khối cơ thể)
CRP	: Protein C Reactive (Protein phản ứng C)
ĐVTN	: Động vật thực nghiệm
LD ₅₀	: Lethal dose 50 (Liều gây chết cho 50% số động vật thử nghiệm)
LDL-C	: Low density lipoprotein cholesterol (Lipoprotein tỉ trọng thấp)
HDL-C	: High density lipoproteins cholesterol (Lipoprotein tỉ trọng cao)
TC	: Total cholesterol (Cholesterol toàn phần)
TG	: Triglycerid
WHO	: World Health Organization (Tổ chức Y tế thế giới)
XVDM	: Xơ vữa động mạch
SAC	: S-allyl-L-cystein
VLDL-C	: Very low-density lipoprotein cholesterol (Lipoprotein tỉ trọng rất thấp)
YHCT	: Y học cổ truyền
YHHĐ	: Y học hiện đại

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. TỔNG QUAN VỀ XƠ VỮA ĐỘNG MẠCH THEO Y HỌC HIỆN ĐẠI.....	3
1.1.1. Định nghĩa xơ vữa động mạch.....	3
1.1.2. Các quan niệm hiện nay về cơ chế bệnh sinh của xơ vữa động mạch	3
1.1.3. Điều trị.....	4
1.2. XƠ VỮA ĐỘNG MẠCH THEO Y HỌC CỔ TRUYỀN.....	10
1.2.1. Quan niệm về xơ vữa động mạch hiện nay theo y học cổ truyền	10
1.2.2. Nguyên nhân và biện chứng luận trị của xơ vữa động mạch YHCT	10
1.2.3. Các thể lâm sàng của xơ vữa mạch và điều trị theo y học cổ truyền	11
1.3. TỔNG QUAN CÁC NGHIÊN CỨU ĐIỀU TRỊ XƠ VỮA ĐỘNG MẠCH BẰNG THUỐC YHCT	14
1.3.1. Các nghiên cứu trong nước.....	15
1.3.2. Các nghiên cứu trên thế giới.....	16
1.4. TỔNG QUAN VỀ VIÊN NANG ANMAHA.....	16
1.4.1. Thành phần viên nang Anmaha	16
1.4.2. Phân tích thành phần viên nang Anmaha theo tác dụng dược lý	16
1.5. TỔNG QUAN VỀ ĐỘC TÍNH CẤP VÀ MÔ HÌNH GÂY VỮA XƠ MẠCH TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM	18
1.5.1. Tổng quan về độc tính cấp.....	18
1.5.2. Tổng quan về các mô hình gây xơ vữa mạch trên động vật thực nghiệm	20
CHƯƠNG 2. CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .	21
2.1. CHẤT LIỆU NGHIÊN CỨU	21
2.2. ĐỘNG VẬT NGHIÊN CỨU	22

2.3. THỜI GIAN, ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU.....	22
2.5. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	23
2.5.1. Đánh giá độc tính cấp của viên nang trên chuột nhắt trắng	23
2.5.2. Đánh giá tác dụng điều trị xơ vữa mạch trên chuột cống trắng	27
2.6. SAI SỐ VÀ CÁCH KHỔNG CHẾ SAI SỐ	29
2.7. ĐẠO ĐỨC NGHIÊN CỨU	29
2.8. XỬ LÝ SỐ LIỆU	29
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	30
3.1. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP	30
3.1.1. Kết quả theo dõi, đánh giá tình trạng chung của chuột trong vòng 72 giờ sau uống thuốc thử	30
3.1.2. Kết quả theo dõi, đánh giá số chuột chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau uống thuốc thử.....	31
3.1.3. Kết quả theo dõi, đánh giá tình trạng chung và số chuột chết ở mỗi lô trong thời gian sau 72 giờ cho đến hết 07 ngày sau uống thuốc thử.....	32
3.2. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG ĐIỀU TRỊ XƠ VỮA MẠCH.....	33
3.2.1. Sự thay đổi hàm lượng cholesterol toàn phần trong máu chuột.....	33
3.2.2. Sự thay đổi hàm lượng Triglycerit (TG) máu chuột	34
3.2.3. Sự thay đổi hàm lượng HDL-Cholesterol máu chuột.....	35
3.2.4. Sự thay đổi hàm lượng LDL-Cholesterol máu chuột.....	36
3.2.5. Sự thay đổi chỉ số Atherogenic index (A.I) của các lô chuột nghiên cứu.....	37
3.2.6. Kết quả đánh giá hình ảnh đại thể và vi thể gan chuột.....	38
3.2.7. Kết quả đánh giá mức độ xơ của động mạch chủ bụng.....	40
CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN	41
4.1. BÀN LUẬN VỀ ĐỘC TÍNH CẤP CỦA VIÊN NANG ANMAHA	41

4.2. BÀN LUẬN VỀ TÁC DỤNG ĐIỀU TRỊ XƠ VỮA ĐỘNG MẠCH CỦA VIÊN NANG ANMAHA TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM	45
KẾT LUẬN	50
KIẾN NGHỊ	51
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 2.1. Thành phần viên nang Anmaha	21
Bảng 2.2. Số lượng động vật thực nghiệm.....	22
Bảng 3.1. Kết quả đánh giá số chuột chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau uống thuốc thử.....	31
Bảng 3.2. Hàm lượng cholesterol toàn phần (mmol/l) trong máu chuột (n = 10, $\bar{X} \pm SD$).	33
Bảng 3.3. Hàm lượng TG (mmol/l) trong máu chuột (n = 10, $\bar{X} \pm SD$).....	34
Bảng 3.4. Hàm lượng HDL-Cholesterol máu (mmol/l) chuột (n = 10, $\bar{X} \pm SD$).	35
Bảng 3.5. Hàm lượng LDL-Cholesterol (mmol/l) máu chuột (n = 10, $\bar{X} \pm SD$).....	36
Bảng 3.6. Chỉ số Atherogenic index (A.I)(n = 10, $\bar{X} \pm SD$).	37

DANH MỤC BIỂU VÀ SƠ ĐỒ

Sơ đồ 2.1. Sơ đồ nghiên cứu độc tính cấp.....	26
Sơ đồ 2.2. Sơ đồ nghiên cứu tác dụng điều trị vữa xơ mạch	28

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 2.1. Máy xét nghiệm huyết học.....	23
Hình 2.2. Cân điện tử.....	23
Hình 2.3. Kim tiêm đầu tù.....	23
Hình 3.1. Hình ảnh đại thể gan chuột. (1) lô chứng sinh lý, (2) lô mô hình, (3) lô thuốc thử liều 1, (4) lô thuốc thử liều 2, (5) lô tham chiếu Atorvastatin.	38
Hình 3.2. Hình ảnh vi thể gan chuột nhuộm HE (x 400). (1) lô chứng sinh lý, (2) lô chứng bệnh, (3) lô tham chiếu Atorvastatin , (4) lô thuốc thử liều 1, (5) lô thuốc thử liều 2.....	39
Hình 3.3. Hình ảnh vi thể động mạch chủ bụng chuột. (1) lô chứng sinh lý, (2) lô mô hình, (3) lô thuốc thử liều 1, (4) lô thuốc thử liều 2, (5) lô tham chiếu Atorvastatin (HE x 400).....	40

ĐẶT VẤN ĐỀ

Xơ vữa động mạch là sự phối hợp các hiện tượng thay đổi cấu trúc nội mạc của các động mạch lớn và vừa, bao gồm sự tích tụ cục bộ các chất lipid, các phức hợp glucid, máu và các sản phẩm của máu, mô xơ và cặn lắng acid làm cho lòng mạch hẹp lại và kém đàn hồi. Xơ vữa động mạch gây ra 2 biến chứng nguy hiểm là nhồi máu cơ tim và tai biến mạch máu não. Trên toàn thế giới bệnh lý tim mạch đã vượt xa các bệnh nhiễm khuẩn nói chung và cũng là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong. Tại Hoa Kỳ, khoảng 610.000 người chết vì bệnh tim mỗi năm. Đó là cứ 4 trường hợp tử vong thì có 1 người. Bệnh mạch vành là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu ở thế giới phương Tây, giết chết hơn 370.000 người mỗi năm. Trung bình có khoảng 735.000 người Mỹ bị đau tim mỗi năm. Trong số này, 525.000 có cuộc tấn công ban đầu và 210.000 có cuộc tấn công lặp lại. Người ta đã báo cáo rằng 75% trường hợp nhồi máu cơ tim cấp tính xảy ra do vỡ mảng bám và tỷ lệ vỡ mảng cao nhất được quan sát thấy ở nam giới trên 45 tuổi; trong khi đó, ở phụ nữ, tỷ lệ mắc bệnh tăng lên sau 50 tuổi. Tỷ lệ xơ vữa động mạch ở nam giới cao hơn so với nữ giới là do chức năng bảo vệ của hormone sinh dục nữ nhưng bị mất đi sau khi mãn kinh [1],[2],[3].

Ở Việt Nam, cùng với sự phát triển của kinh tế- xã hội, ngày càng nhiều người cao tuổi mắc các bệnh rối loạn chuyển hóa như tăng lipid máu, tăng huyết áp, đái tháo đường... Tăng hàm lượng các chất lipid trong máu (cholesterol và triglycerid) rất thường gặp và là một trong những yếu tố nguy cơ có thể thay đổi được quan trọng bậc nhất của bệnh tim mạch, đây là những yếu tố nguy cơ của vữa xơ động mạch. Tuy nhiên, do ăn uống thiếu kiểm soát mà hiện nay số người trẻ mắc bệnh ngày càng nhiều hơn [3],[4].

Điều trị có hiệu quả hội chứng rối loạn lipid máu sẽ làm hạn chế sự phát triển của bệnh xơ vữa động mạch và ngăn ngừa được các biến chứng về tim mạch. Y học hiện đại đã tìm ra nhiều loại thuốc có tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu: nhóm fibrat (bezafibrat, fenofibrat, gemfibrozil...), nhóm statin (fluvastatin, lovastatin, pravastatin...). Vì vậy, kiểm soát, điều trị xơ vữa động mạch là việc làm có ý nghĩa to lớn nhằm hạn chế những biến chứng nguy hiểm của xơ vữa động mạch, nâng cao chất lượng

cuộc sống của người dân. Đặc biệt, khi nhiều tình trạng bệnh lý đi kèm nhau thường làm cho bệnh nhân phải uống nhiều loại thuốc khác nhau vừa gây nhiều phiền toái cho người bệnh, khó tuân thủ phác đồ điều trị vừa làm tăng nguy cơ tương tác thuốc và tăng độc tính của thuốc [1],[5].

Nước ta có nguồn dược liệu phong phú, nhiều đời được cha ông ta sử dụng cho điều trị và chăm sóc sức khỏe. Trong đó các dược liệu được sử dụng với tác dụng hạ lipid máu, glucose máu, dự phòng và điều trị xơ vữa động mạch là: Sơn tra, giao cổ lam, đỏ ngon, lá sen, trạch tả, búp giấm, tỏi... Tuy nhiên việc sử dụng các dược liệu này vẫn chủ yếu là theo phương pháp truyền thống, làm tác dụng của các dược liệu không cao, không thuận tiện cho người bệnh. Do vậy việc kết hợp y học cổ truyền và y học hiện đại, chuyển dạng từ các dược liệu thành các dạng bào chế hiện đại, làm tăng tác dụng và thuận tiện cho sử dụng của người bệnh là việc làm cần thiết [6],[7].

Tỏi đen, Búp giấm, Giao cổ lam và Trạch tả có những thành phần hóa học có tác dụng hạ cholesterol máu, hạ glucose máu, dự phòng và điều trị xơ vữa động mạch theo các cơ chế, vị trí tác dụng khác nhau, khi phối hợp với nhau thường tạo ra được tác dụng hiệp đồng. Trạch tả có tác dụng lợi niệu, thải muối, có lợi trong dự phòng và điều trị xơ vữa động mạch khi phối hợp với các dược liệu có tác dụng hạ cholesterol máu, hạ glucose máu [8],[9].

Từ 4 dược liệu Tỏi đen, Búp giấm, Giao cổ lam và Trạch tả, Học viện Quân y đã bào chế ra viên nang Anmaha, đạt tiêu chuẩn cơ sở, với định hướng tác dụng phòng và điều trị xơ vữa mạch. Việc đánh giá tính an toàn và tác dụng của chế phẩm trên động vật thực nghiệm là một bước quan trọng trong phát triển sản phẩm. Vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài “Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng điều trị xơ vữa động mạch của viên nang Anmaha trên động vật thực nghiệm”.

Mục tiêu:

- 1. Đánh giá độc tính cấp của viên nang Anmaha trên chuột nhắt trắng***
- 2. Đánh giá tác dụng điều trị xơ vữa động mạch của viên nang Anmaha trên chuột cống trắng.***

CHƯƠNG 1 : TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. TỔNG QUAN VỀ XƠ VỮA ĐỘNG MẠCH THEO Y HỌC HIỆN ĐẠI

1.1.1. Định nghĩa xơ vữa động mạch

Xơ vữa động mạch (XVĐM) là một tổn thương giải phẫu rất hay gặp ở thành động mạch. XVĐM là sự phối hợp các hiện tượng thay đổi cấu trúc nội mạc của các động mạch lớn và trung bình, bao gồm sự tích tụ cục bộ của các chất lipid, quá trình oxy hóa, xâm nhập của tế bào viêm và tăng sinh các yếu tố xơ hóa ở nội mô mạch máu dẫn đến hẹp lòng mạch, hình thành huyết khối và tắc mạch [1],[2].

Có nhiều yếu tố nguy cơ gây XVĐM. XVĐM là một hiện tượng bệnh lý nặng nề do nó gây ra nhiều biến chứng. Điều trị cơ bản là nội khoa, điều trị ngoại khoa khi có các biến chứng [10],[11],[12].

1.1.2. Các quan niệm hiện nay về cơ chế bệnh sinh của xơ vữa động mạch

- Vai trò của tế bào nội mô mạch máu: Thay đổi về lưu lượng dòng chảy tạo nên các áp lực cắt (shear stress) lên thành động mạch, làm lỏng lẻo sự liên kết của tế bào nội mô mạch máu và gây ra sự dày lên của các glycocalyx, tạo điều kiện cho sự lắng đọng của các LDL và sự xâm nhập của các bạch cầu vào lớp dưới nội mạc [13].

- Vai trò của LDL và sản phẩm oxy hóa trong xơ vữa động mạch: Sau quá trình thay đổi do tác động cơ học ở lớp tế bào nội mô mạch máu, các sản phẩm của quá trình oxy hóa LDL tác động đến thành mạch tại chỗ, gây độc các tế bào nội mô, dẫn đến phản ứng viêm, tăng lắng đọng các lipoprotein, tăng hoạt tính của methyltransferases, giảm nitric oxid thúc đẩy quá trình XVĐM tiến triển [13], [14].

- Vai trò của các đại thực bào chuyển dạng từ các bạch cầu đơn nhân: Các tế bào nội mạc, cảm nhận sự hiện diện của sản phẩm trung gian của quá trình oxy hóa LDL, tiết ra các monocyte chemoattractant protein 1 thu hút các bạch cầu đơn nhân vào nội trung mạc, kích thích tạo thành đại thực bào hấp thụ các sản phẩm trung gian của quá trình oxy hóa LDL [2],[15].

- Vai trò của cơ trơn thành mạch và tiến triển xơ vữa động mạch: Khi có tổn thương mạch máu, các tế bào cơ trơn thành mạch có thể co lại và sản xuất chất trung gian gây viêm, dẫn đến sự gia tăng và xâm nhập tế bào cơ trơn.

- Vai trò của các oxysterol trong xơ vữa động mạch: Các oxysterol hình thành trong quá trình oxy hóa LDL sau khi thâm nhập vào nội trung mạc. Oxysterol có thể gây độc tế bào thành mạch qua quá trình viêm, gây chết theo chương trình và tích tụ phospholipid. Oxysterol còn ảnh hưởng đến đàn hồi thành mạch, yếu tố quan trọng gây ra XVDM [2],[13].

1.1.3. Các yếu tố nguy cơ và cơ chế bệnh sinh

1.1.3.1. Các yếu tố nguy cơ

* Các yếu tố nguy cơ hằng định (không thay đổi được):

+ Tuổi: tổn thương xơ vữa dường như xuất hiện rất sớm và gia tăng theo tuổi; Tuổi phản ảnh thời gian một cá thể tiếp xúc với các yếu tố nguy cơ khác.

+ Giới tính: nam có nguy cơ có xơ vữa cao hơn nữ (nam/nữ = 5/1).

+ Đặc điểm di truyền: tiền sử gia đình có bệnh tim mạch (bố - mẹ) cũng là một yếu tố nguy cơ cao.

* Các yếu tố nguy cơ có thể thay đổi được:

- Các yếu tố nguy cơ do lối sống:

+ Thuốc lá: ngoài nguy cơ gây ung thư nói chung, nó còn gây nguy cơ xơ vữa động mạch. Nguy cơ gắn liền với số gói thuốc lá/năm.

+ Chế độ ăn: chế độ ăn nhiều acide béo bão hòa thì gây xơ vữa động mạch cao do làm gia tăng tỷ lệ LDL - Cholesterol.

+ Uống rượu: rượu làm gia tăng huyết áp và các triglycerid.

+ Béo phì: đánh giá dựa vào chỉ số khối cơ thể (BMI). Bình thường BMI từ 20 - 25 ở nam và 19 - 24 ở nữ. Béo phì bệnh lý khi BMI > 40. Béo phì kiểu nam (vòng bụng > 102 cm ở nam và > 88 cm ở nữ) là có nguy cơ xơ vữa cao nhất.

+ Sự hoạt động: hoạt động của cơ thể đều đặn làm thay đổi các yếu tố nguy cơ (duy trì cân nặng bình thường, giảm hút thuốc lá và làm thay đổi chế độ ăn). Hoạt động còn làm giảm LDL - C.

- Các yếu tố tinh thần - xã hội.

+ Các yếu tố nguy cơ mới:

+ Tăng homocystein máu.

+ Tăng fibrinogen máu.

+ Tăng protein C Reactive (CRP).

* Các bệnh lý nguy cơ:

- Đái tháo đường: đái tháo đường type I và II đều phối hợp với sự gia tăng nguy cơ tim mạch. Đối với đái tháo đường type I, nguy cơ xuất hiện sớm trước 30 tuổi. Trong khi đái tháo đường type II thường kèm theo các yếu tố nguy cơ khác (tăng huyết áp, rối loạn lipid máu, béo phì). Rối loạn lipid máu. Sự gia tăng LDL- C và các TG rất nguy hiểm. Sự gia tăng HDL-C có tác dụng bảo vệ.

- Tăng huyết áp: ảnh hưởng của tăng huyết áp trên tim mạch quan trọng nhất là mạch máu não.

1.1.3.2. Bệnh sinh của mảng xơ vữa

Cơ chế sinh lý bệnh vẫn còn nhiều điều chưa rõ. Tuy nhiên có các yếu tố nguy cơ góp phần gây nên mảng xơ vữa:

- Làm thay đổi các tế bào nội mô

- Làm tăng sinh các tế bào cơ trơn, nội mạc.

- Làm thay đổi chuyển hóa trong các tế bào cơ trơn (tích lũy lipid, tăng LDL - cholesterol...).

* **Các yếu tố tế bào:**

- Tế bào đơn nhân: Đây là một tế bào sớm có ảnh hưởng trong quá trình sinh bệnh học của xơ vữa động mạch.

Bước đầu tiên là kết dính vào lớp nội mô, sau đó thâm nhập vào lớp nội mạc. Tế bào này có thể chuyển dạng thành tế bào bọt (cellule spumeuse), đây là các giọt mỡ sau khi bắt dính LDL.

- Sợi cơ trơn (FML): Là yếu tố quan trọng thứ hai.

+ Nó có thể di chuyển, nhân lên, và tổng hợp các yếu tố của khung ngoại bào. Chính điều này góp phần hình thành nên phần xơ của mảng xơ vữa.

+ Vai trò của sợi cơ trơn dường như rất quan trọng trong quá trình gây hẹp sau khi tạo hình mạch máu.

- Tế bào nội mô (endothélium): Đây là hàng rào hoạt động giữa dòng máu và thành động mạch.

Tất cả các thay đổi cơ học hoặc cơ năng của tế bào nội mô đều làm gia tăng sự hình thành mảng xơ vữa, nó tạo điều kiện thuận lợi cho sự ngưng tập tiểu cầu.

Tiểu cầu không chỉ có thể tạo điều kiện cho tắc động mạch mà còn tham gia vào sự hình thành mảng xơ vữa do tổng hợp yếu tố tăng trưởng. Sự thay đổi của tế bào nội mô tạo điều kiện kết dính các tế bào đơn nhân và làm thâm nhập các phân tử lipid.

*** Các yếu tố không thuộc tế bào:**

Có rất nhiều yếu tố trong nhóm này, bao gồm các yếu tố tăng trưởng, các cytokines, v.v... và đặc biệt là LDL-C. Các LDL-C trải qua sự oxy hóa bên trong thành động mạch, làm hình thành các tế bào bọt. Trên thực tế, chỉ có các LDL-C bị biến đổi hoặc bị oxy hóa mới bị đại thực bào bắt giữ.

1.1.4. Điều trị

1.1.4.1. Nguyên tắc chung

- Điều trị các yếu tố nguy cơ chính: rối loạn lipid máu, nghiện thuốc lá, đái tháo đường, tăng huyết áp...
- Điều trị các biến chứng của XVDM bằng cách ngăn ngừa nguyên phát hay thứ phát.
- Điều trị các tổn thương mạch máu trong từng bệnh lý mạch máu cụ thể [16], [17].

1.1.4.2. Ngăn ngừa các yếu tố nguy cơ

Thay đổi lối sống và điều chỉnh các yếu tố nguy cơ là một nội dung quan trọng trong điều trị bệnh lý XVĐM nói chung [2],[5],[15]:

- Giảm cân nặng và giảm vòng eo.
- Bỏ thuốc lá.
- Kiểm soát huyết áp mục tiêu: Tăng huyết áp khi có XVĐM não thường dùng các thuốc chẹn kênh calci, ức chế enzym chuyển.
- Kiểm soát tốt đường huyết khi có đái tháo đường.

1.1.4.3. Thuốc điều trị

Các thuốc chính được sử dụng để điều trị XVĐM cảnh và XVĐM nói chung là các thuốc hạ lipid máu và chống ngưng tập tiểu cầu [26],[30], ngoài ra còn có các thuốc giãn mạch. Bên cạnh đó, cơ chế gây XVĐM được cho là liên quan đến các gốc tự do từ quá trình oxy hóa LDL, vì vậy vấn đề sử dụng các thuốc có tác dụng chống oxy hóa trong dự phòng và điều trị XVĐM đang ngày được quan tâm [2].

- Thuốc hạ lipoprotein máu;
 - Thuốc chống ngưng kết tiểu cầu;
 - Các thuốc giãn mạch;
 - Các thuốc chống oxy hóa trong điều trị xơ vữa động mạch.
- * *Các chất tạo phức với acid mật* (cholestyramin, colestipol, colesevelam)
- Cơ chế: các chất tạo phức với acid mật hay các resin tích điện âm sẽ gắn với acid mật tích điện dương tạo thành phức hợp resin/acid mật không được hấp thu và bị đào thải qua phân, làm giảm nồng độ acid mật. Tế bào gan tăng cường chuyển hóa cholesterol thành acid mật, làm cho nồng độ cholesterol trong tế bào gan giảm, kích thích tăng sinh các LDL receptor và làm tăng thanh thải LDL trong huyết tương.
 - Tác dụng không mong muốn: rối loạn tiêu hóa, giảm sự hấp thu của 1 số vitamin (A, D, E, K) và ảnh hưởng đến sự hấp thu của một số thuốc khác như digoxin, warfarin và các hormon tuyến giáp [5].

* *Chất ức chế hấp thu cholesterol – Ezetimibe:*

- Cơ chế: ezetimibe gắn trực tiếp vào protein vận chuyển NPC1L1 và ức chế quá trình hấp thu cholesterol tại ruột non, làm giảm lượng cholesterol dự trữ trong gan và làm tăng thanh thải cholesterol trong máu thông qua làm tăng số lượng các LDL receptor.

- Ezetimibe tương đối an toàn, ít xuất hiện các tác dụng không mong muốn.

* *Acid nicotinic (niacin):*

- Cơ chế: tại mô mỡ, niacin ức chế sự thủy phân TG bởi các lipase nhạy cảm với hormon, làm giảm lượng acid béo tự do về gan và giảm tổng hợp TG và giải phóng VLDL tại gan. Ngoài ra, niacin còn ức chế hoạt động của diacylglycerol acyltransferase-2 – enzym tham gia quá trình tổng hợp TG .

- Tác dụng không mong muốn: nóng bừng, ngứa nửa người trên, rối loạn tiêu hóa, làm tăng nồng độ acid uric trong huyết tương. Thuốc có thể gây ra tình trạng kháng insulin và làm nặng thêm tình trạng tăng đường huyết [13].

* *Dẫn xuất acid fibric (Fibrat):*

- Cơ chế: fibrat kích thích hoạt động của các LPL làm tăng thủy phân TG, làm giảm tổng hợp apoC-III (tăng thanh thải các lipoprotein tàn dư), thúc đẩy quá trình oxy hóa của các acid béo, làm giảm sản xuất VLDL. Fibrat thông qua PPAR α còn làm tăng số lượng của apoAI và apoAII nên làm tăng nồng độ HDL-C.

- Tác dụng không mong muốn: rối loạn tiêu hóa, tăng nguy cơ xuất hiện sỏi mật, tăng tác dụng của warfarin và một số thuốc hạ đường huyết đường uống .

* *Các statin:* Là nhóm thuốc hiệu quả nhất và có khả năng dung nạp tốt nhất trong điều trị rối loạn lipoprotein máu.

- Cơ chế: HMG-CoA reductase là một enzyme quan trọng trong sinh tổng hợp cholesterol, và ức chế enzyme này giảm tổng hợp cholesterol. Bằng cách ức chế sinh tổng hợp cholesterol, statin làm tăng hoạt động của các LDL receptor ở gan, và do đó thúc đẩy quá trình thanh thải LDL khỏi vòng tuần hoàn, kết quả là làm giảm nồng độ LDL-C. Nhiều nghiên cứu gần đây chỉ ra một số tác dụng độc lập với tác dụng hạ cholesterol máu của statin có lợi đối với tim mạch: cải thiện chức năng nội mạc mạch do kích thích giải phóng NO, ổn định mảng xơ vữa, chống oxy hóa, chống viêm, chống huyết khối. Ngoài ra, statin còn có một số tác dụng có lợi trên hệ miễn dịch, hệ thần kinh trung ương và xương.

- Tác dụng không mong muốn: rối loạn tiêu hóa, đau đầu, mệt mỏi, đau cơ hoặc đau khớp. Tăng hoạt độ các transaminase gan (AST và ALT). Bệnh cơ nặng, đặc biệt là tiêu cơ vân hiếm khi xảy ra [16].

* *Acid béo omega-3 (dầu cá):*

- Acid béo không bão hòa đa omega-3 (Omega-3 polyunsaturated fatty acids - PUFAs) có mặt nhiều trong dầu cá, bao gồm acid eicosapentaenoic (EPA) và acid decohexanoic (DHA) là hai phân tử được sử dụng phổ biến trong điều trị tăng lipid máu. PUFAs làm giảm nồng độ TG huyết tương nhưng làm tăng nồng độ cholesterol.

- Tác dụng không mong muốn phổ biến của PUFAs là rối loạn tiêu hóa (đau bụng, buồn nôn, tiêu chảy) và vị tanh trong miệng sau khi uống thuốc.

* *Alirocumab và Evolocumab*: là những kháng thể đơn dòng nhân bản, có tác dụng ức chế proprotein convertase subtilisin-kexin type 9 (PCSK9) từ đó làm tăng số lượng LDL-receptor ở bề mặt tế bào gan, kết quả là làm giảm nồng độ LDL cholesterol trong máu. Cơ chế này giống một phần với cơ chế tác dụng của nhóm statin (làm tăng số lượng LDL-receptor) tuy nhiên tác dụng phòng ngừa các biến cố tim mạch của các thuốc này chưa được chứng minh rõ ràng [17].

* *Điều trị phối hợp thuốc* :

- Những bệnh nhân không đạt mục tiêu LDL-C và non-HDL-C với statin đơn trị liệu, có thể phối hợp chất ức chế hấp thu cholesterol hoặc chất tạo phức với acid mật.

- Với những bệnh nhân nguy cơ cao không đạt được mục tiêu nồng độ LDL-C với statin đơn trị liệu và có nồng độ HDL-C thấp: phối hợp niacin với statin.

- Những bệnh nhân nguy cơ cao đang dùng statin có nồng độ TG cao có thể phối hợp thêm fibrat hoặc dầu cá.

- Những bệnh nhân tăng TG máu nặng không đạt được mục tiêu non-HDL-C với fibrat thì có thể cân nhắc bổ sung thêm statin [18].

1.1.4.4. Điều trị can thiệp

- Chỉ định khi hẹp động mạch trên 70%, đặc biệt khi hẹp động mạch có triệu chứng.
- Mục tiêu của phẫu thuật là lấy bỏ mảng xơ vữa nhằm giảm nguy cơ tai biến.
- Điều trị hẹp động mạch bằng can thiệp nội mạch.
- Chỉ định cho nhồi máu não đến sớm do tắc động mạch cảnh.

1.2. XƠ VỮA ĐỘNG MẠCH THEO Y HỌC CỔ TRUYỀN

1.2.1. Quan niệm về xơ vữa động mạch hiện nay theo y học cổ truyền

Theo y học cổ truyền, các triệu chứng mô tả bệnh XVĐM thuộc phạm trù chứng tâm thông, tâm quý, kiện vong, huyễn vựng... [10].

Biện chứng lâm sàng căn cứ vào biểu hiện cụ thể của bệnh trong các phạm trù tâm thông, tâm quý, huyễn vựng, trúng phong, kiện vong... Nhân tố quan trọng nhất gây XVĐM là chứng rối loạn chuyển hóa lipid máu. Các mảng vữa xơ làm giảm tính đàn hồi thành mạch, chít hẹp lòng mạch làm giảm và ngưng trệ lưu thông máu. Cho nên, cơ chế bệnh sinh của nó có liên quan chặt chẽ đến nhân tố đàm trọc và huyết ứ [10],[19].

1.2.2. Nguyên nhân và biện chứng luận trị của xơ vữa động mạch theo YHCT

1.2.2.1. Nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh

Nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh liên quan mật thiết đến khí trệ huyết ứ và đàm trọc.

** Cơ thể già yếu:*

- Bệnh thường gặp ở người già, khi qua tuổi 50 thì thận khí dần suy. Thận dương hư suy nên không thúc đẩy được dương khí của ngũ tạng. Thận âm hao tổn nên không nuôi dưỡng được phần âm của ngũ tạng. Thận tinh bất túc làm não tủy hư nhược cũng gây nên hoa mắt, chóng mặt, hay quên. Tâm dương không hưng phấn làm khí huyết vận hành không thông gây nên tắc mạch não và đau tức ngực. Tâm âm bất túc làm tâm không được nuôi dưỡng gây nên tâm quý.

- Tỳ dương hư nhược làm đàm trọc nội sinh gây nên hồi hộp, trống ngực, đau tức ngực, hoa mắt, chóng mặt.

- Can âm bất túc làm can dương thượng cang, can phong nội động gây nên hoa mắt, chóng mặt, có thể gây chứng trúng phong [20].

** Ăn uống không điều độ:* Thích ăn đồ béo ngọt, nghiện rượu lâu ngày làm tổn thương tỳ vị. Chức năng vận hóa của tỳ vị bị rối loạn làm tụ thấp thành đàm gây trở trệ trong mạch, rối loạn vận chuyển dương khí ở phần ngực gây nên đau tức ngực (hung tê). Nếu đàm trọc ứ trệ làm thanh dương không thăng, trọc âm không giáng thì có thể gây nên hoa mắt, chóng mặt. Nếu đàm trệ tâm mạch làm tâm không được

nuôi dưỡng gây nên hồi hộp, trống ngực. Tỳ là hậu thiên chi bản nên khi tỳ vị bị tổn thương sẽ làm rối loạn nguồn hóa sinh khí huyết làm tâm không được nuôi dưỡng đầy đủ gây nên hồi hộp, trống ngực; não không được nuôi dưỡng đầy đủ gây nên hoa mắt, chóng mặt [10].

* *Rối loạn tình chí*: Lao động trí óc nhiều dễ gây tổn thương tâm, lo lắng nhiều dễ gây tổn thương thận. Khí huyết hao hư làm tâm thần không được nuôi dưỡng gây nên hồi hộp, trống ngực (tâm quý), đau đầu và chóng mặt (huyễn vựng), hay quên (kiện vong). Tỳ hư khí kết, tụ tân thành đàm; cấu giận thương can làm can khí uất kết, khí uất hóa hỏa hun đốt tân dịch thành đàm; khí trệ huyết ứ, đàm trệ huyết mạch gây nên đau tức ngực (hung tỳ), hồi hộp, trống ngực, đau đầu và chóng mặt [19], [20].

1.2.2.2. Biện chứng luận trị

* *Biện chứng về hư thực*:

- XVĐM là bệnh thuộc bản hư và tiêu thực. Bản hư chủ yếu là can, thận, tâm, tỳ hư; tiêu thực chủ yếu là đàm trọc, huyết ứ.

- Do vị trí võa xơ khác nhau nên ảnh hưởng đến các cơ quan cũng khác nhau cho nên biện chứng tạng phủ hư cũng có sự khác biệt. Võa xơ động mạch não sẽ thấy biểu hiện của can, thận hư; võa xơ động mạch vành thì chủ yếu là tâm hư, ngoài ra có quan hệ mật thiết đến tỳ và thận. Trong tiêu thực thì bất kể là thể nào cũng đều liên quan đến đàm trọc và huyết ứ.

* *Nguyên tắc điều trị*:

Căn cứ vào đặc điểm bệnh XVĐM thì nguyên tắc điều trị là tư bổ can thận, dưỡng tâm kiện tỳ, hoạt huyết hóa ứ [10],[19].

1.2.3. Các thể lâm sàng của xơ võa mạch và điều trị theo y học cổ truyền

Theo PGS.TS.Trần Quốc Bảo (2012) chia bệnh này ra làm 5 thể:

1.2.3.1. Tâm tỳ lưỡng hư

- *Lâm sàng*: hồi hộp, trống ngực, mất ngủ, đau đầu, chóng mặt, vận động làm bệnh nặng lên, hay quên, sắc mặt không tươi, mệt mỏi, tiếng nói nhỏ, thờ yếu, ăn kém, bụng đầy, chất lưỡi nhợt, có ấn răng, mạch tế nhược.

- *Pháp trị*: kiện tỳ dưỡng tâm, bổ ích khí huyết.

- *Bài thuốc*: Quy tỳ thang.

Bạch truật	12g	Đương quy	12g	Phục thần	12g
Hoàng kỳ	15g	Long nhãn	10g	Viễn chí	06g
Táo nhân	12g	Mộc hương	06g	Cam thảo	06g
Nhân sâm	03g				

Bài thuốc trên sắc uống, ngày 01 thang.

Trong bài thuốc này, nhân sâm có tác dụng “bổ ngũ tạng, an tinh thần, định hồn phách” để bổ khí sinh huyết, dưỡng tâm ích tỳ. Long nhãn có tác dụng bổ ích tâm tỳ, dưỡng huyết an thần. Hoàng kỳ, bạch truật giúp nhân sâm ích khí kiện tỳ. Đương quy giúp long nhãn dưỡng huyết bổ tâm. Phục thần, viễn chí, táo nhân để ninh tâm an thần. Mộc hương để lý khí tỉnh tỳ, phối hợp với thuốc bổ khí dưỡng huyết làm cho bổ mà không nê trệ ở vị. Cam thảo có tác dụng ích khí bổ trung và điều hòa các vị thuốc. Khi sắc thuốc cho thêm sinh khương, đại táo để điều hòa tỳ vị và giúp cho tăng cường sinh hóa [10].

1.2.3.2. Tỳ thận dương hư

- *Lâm sàng*: đau tức ngực, hồi hộp trống ngực, hụt hơi, mệt, ngại nói, sắc mặt trắng bệch, đau lưng, sợ lạnh, chân và tay lạnh, ăn kém, đại tiện phân lỏng, chất lưỡi nhợt, mạch trầm trì tế hoặc kết đại.

- *Pháp trị*: ôn bổ tỳ thận, thông lạc ninh tâm.

- *Bài thuốc*: Lý trung thang phối hợp với Hữu quy âm.

Thục địa	20g	Hoài sơn	15g	Sơn thù	10g
Kỷ tử	10g	Cam thảo chích	06g	Đỗ trọng	10g
Nhục quế	06g	Phụ tử chế	06g	Nhân sâm	06g
Bạch truật	15g	Can khương	06g		

Các vị thuốc trên sắc uống, ngày 01 thang.

Trong bài thuốc này, can khương, nhục quế, phụ tử có tính vị cay nóng, quy kinh tỳ vị; có tác dụng ôn trung tán hàn, phù dương ức âm. Bệnh thuộc hư chứng nên dùng nhân sâm có tính vị ngọt, ấm và nhập vào kinh tỳ để bổ hậu thiên, khí vượng thì dương hồi phục. Tỳ thuộc thấp thổ, do trung hư bất vận nên sinh hàn thấp cho nên dùng bạch truật có tính vị ngọt, đắng, ôn táo; có tác dụng táo thấp kiện tỳ,

kiện vận trung tiêu. Thục địa, hoài sơn, kỷ tử, sơn thù đều là các vị thuốc có tính vị ngọt nhuận; có tác dụng tư bổ thận âm, dưỡng can kiện tỳ, trấn tinh bổ tủy nên khi phối hợp với các vị cay nóng thì đạt được hiệu quả “âm trung cầu dương”. Cam thảo chích có tính ôn; có tác dụng bổ tỳ ích khí, điều hòa các vị thuốc [10],[21].

1.2.3.3. Can thận âm hư

- *Lâm sàng*: chóng mặt, ù tai, mắt ngủ, hồi hộp, hay quên, tức ngực hoặc đau nhói, dễ cáu gắt, lòng bàn chân và tay nóng, đau lưng, mỏi gối, di tinh, ra mồ hôi trộm, chất lưỡi hồng khô, mạch tế sác.

- *Pháp trị*: tư bổ can thận, dưỡng âm an thần.

- *Bài thuốc*: Nhất quán tiễn phối hợp với Tả quy hoàn.

Sa sâm	12g	Mạch môn	12g	Thục địa	20g
Kỷ tử	10g	Xuyên luyện tử	04g	Hoài sơn	12g
Phục linh	10g	Cam thảo chích	06g	Sơn thù	06g
Đương quy	12g	Lộc giác giao	20g	Quy bản	12g

Bài thuốc trên sắc uống, ngày 01 thang.

Trong bài thuốc này, thục địa để ích thận dưỡng can, tư thủy hàm mộc. Kỷ tử có tác dụng bổ can thận, ích tinh huyết. Đương quy có tác dụng dưỡng huyết bổ can. Quy bản có tính vị ngọt mặn lạnh để bổ can thận âm và tiềm dương. Lộc giác giao có tính vị ngọt mặn ấm để tăng cường bổ huyết và ôn bổ thận dương. Như vậy, trong dưỡng huyết lại có cả điều huyết, bổ can lại có cả sơ đạt. Sa sâm, mạch môn để dưỡng âm sinh tân, nhuận táo chỉ khát, thanh kim ích vị. Xuyên luyện tử có tính vị đắng lạnh, sơ can tiết nhiệt, hành khí chỉ thống và khi được phối hợp với một tập hợp các vị ngọt lạnh tư âm dưỡng huyết sẽ tránh được khổ táo thương âm và tiết can hỏa mà bình hoành nghịch. Phục linh để kiện tỳ thẩm thấp. Cam thảo chích để kiện tỳ hòa vị, điều hòa các vị thuốc [10],[22].

1.2.3.4. Đàm trọc trở trệ

- *Lâm sàng*: hồi hộp, mắt ngủ, đau đầu, chóng mặt, đau tức ngực, hay quên, người bệu trệ, chân tay cảm giác nặng nề, ăn kém, đầy bụng, rêu lưỡi trắng nhớt, mạch huyền hoạt.

- *Pháp trị*: lý khí khứ đàm, kiện tỳ hòa vị.

- *Bài thuốc*: Đạo xích tán.

Sinh địa 10g Mộc thông 10g Sinh cam thảo 10g

Các vị thuốc trên tán bột, mỗi lần uống 10g với nước sắc trúc điệp, uống khi thuốc còn ấm và sau khi ăn.

Nếu hồi hộp nhiều thì gia toan táo nhân 10g, viễn chí 06g.

Nếu đàm uất hóa hỏa gây đắng miệng, bứt rứt, rêu lưỡi vàng nhớt thì nên dùng bài Hoàng liên ôn đởm thang và gia chi tử 12g [10],[21].

1.2.3.5. Khí trệ huyết ứ

- *Lâm sàng*: đau tức ngực, đau đầu, chóng mặt, hồi hộp trống ngực, hay quên, mất ngủ, mệt mỏi, hụt hơi, chất lưỡi tím hoặc có ban ứ huyết, mạch huyền sắc hoặc kết đại.

- *Pháp trị*: hoạt huyết hóa ứ, lý khí thông lạc.

- *Bài thuốc*: Huyết phủ trục ứ thang.

Đào nhân 10g Hồng hoa 10g Đương quy 12g

Sinh địa 12g Xuyên khung 12g Xích thược 12g

Ngưu tất 12g Cát cánh 05g Sài hồ 12g

Chỉ xác 10g Cam thảo 06g

Các vị thuốc trên sắc uống, ngày 01 thang.

Bài thuốc này được cấu tạo từ bài Đào hồng tứ vật thang kết hợp với bài Tứ nghịch tán và gia cát cánh, ngưu tất. Trong bài thuốc này, đương quy, xuyên khung, xích thược, đào nhân, hồng hoa đều có tác dụng hoạt huyết hóa ứ. Ngưu tất có tác dụng khứ huyết ứ, thông huyết mạch, dẫn ứ huyết hạ hành. Sài hồ có tác dụng sơ can giải uất, thăng đạt thanh dương. Cát cánh có tác dụng khai tuyên phế khí, đưa thuốc lên trên kết hợp với chỉ xác (một thăng một giáng) để hành khí ở vùng ngực làm cho khí hành thì huyết hành. Sinh địa có tác dụng lương huyết thanh nhiệt được phối hợp với đương quy để dưỡng âm nhuận táo làm cho khứ ứ mà không thương âm huyết. Cam thảo điều hòa các vị thuốc. Đặc điểm của bài thuốc này là hành huyết để phân ứ trệ, giải khí để phân uất kết, hoạt huyết mà không hao huyết, khứ ứ mà lại sinh tân. Nếu đau tức ngực nhiều thì gia giáng hương 12g, uất kim 08g, diên hồ sách 12g, nhũ hương 06g, một dược 06g, tam thất 06g [10],[22].

1.3. TỔNG QUAN CÁC NGHIÊN CỨU ĐIỀU TRỊ XƠ VỮA ĐỘNG MẠCH BẰNG THUỐC YHCT

1.3.1. Các nghiên cứu trong nước

- Năm 2012, nghiên cứu của Vũ Thị Thuận về tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu và giảm xơ vữa mạch máu của bài thuốc BBT (Bán hạ bạch truật thiên ma thang) trên thực nghiệm cho kết quả: Cho thỏ uống liều 3g/kg/ngày và 6g/kg/ngày 8 tuần liên tục làm giảm 10,06% và 10,35% TC, giảm 36,47% và 27,86% LDL-C [24].

- Năm 2015, Nguyễn Thị Thúy, Phạm Thị Vân Anh, Nguyễn Duy Như nghiên cứu tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu của viên nang Giáng chỉ tiêu khát linh trên mô hình ngoại sinh ở chuột cống trắng cho thấy sau 4 tuần, SAD (thành phần chính là Giảo cổ lam) liều 0,36 g/kg/ngày có tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu trên mô hình ngoại sinh ở chuột cống trắng ($p < 0,05$). SAD với mức liều 1,08 g/kg/ngày làm giảm triglycerid ($p < 0,05$), và có xu hướng làm giảm LDL ($p > 0,05$) [25].

- Năm 2017, Phạm Thanh Tùng, Trương Việt Bình, Nguyễn Trọng Thông, Phạm Thị Vân Anh nghiên cứu tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu của viên nang Vinatan (thành phần chính là cao chiết Giảo cổ lam) trên mô hình gây rối loạn lipid máu trên mô hình ngoại sinh ở chuột cống trắng cho thấy ở liều 0,2 g/kg/ngày và liều 0,6 g/kg/ngày trên chuột cống trắng đều có tác dụng hạn chế rối loạn lipid máu gây ra bởi hỗn hợp dầu cholesterol + acid cholic + propylthiouracil, biểu hiện qua sự giảm có ý nghĩa thống kê nồng độ LDL - C ($\downarrow 30,3\%$ và $\downarrow 32,51\%$), làm tăng nồng độ HDL -C với $p < 0,05$ so với lô mô hình [26].

- Năm 2019, Lê Thị Minh Phương đã nghiên cứu tác dụng chống oxy hóa và xơ vữa động mạch của viên nang mềm “Ích trí vương” trên thực nghiệm và lâm sàng. Kết quả nghiên cứu thực nghiệm cho thấy Ích trí vương có tác dụng chống oxy hóa và xơ vữa động mạch ở cả 2 liều thử đều tăng TAS huyết tương ($p < 0,05$), giảm mức tăng SOD trung bình hồng cầu ($p < 0,05$). Ích trí vương 180 mg/kg/ngày hạn chế mức tăng nồng độ MDA so với trước nghiên cứu ($p > 0,05$). Ích trí vương có tác dụng chống xơ vữa động mạch qua giảm mức độ xơ vữa động mạch trên đại thể và vi thể, cải thiện các chỉ số lipid máu so với lô mô hình ($p < 0,05$) [23].

1.3.2. Các nghiên cứu trên thế giới

Hiện nay các nghiên cứu về thuốc YHCT trong điều trị XVĐM theo hướng tìm kiếm các thuốc có tác dụng chống XVĐM thông qua tác động lên các cơ chế của XVĐM như: tìm kiếm các thuốc có tác bảo vệ nội mạc mạch máu, giảm LDL trong máu, ngăn ngừa quá trình oxy hóa LDL hình thành gốc tự do, ngăn ngừa sự xâm nhập tế bào của quá trình viêm vào lớp nội trung mạc và ngăn chặn sự hình thành huyết khối [27].

- Nghiên cứu của Zhong XN và cộng sự (2013) cho thấy viên Nảo tâm thông có tác dụng làm giảm tổn thương XVĐM, giảm LDL, giảm biểu hiện gen iNOS mRNA ($P < 0,001$) và giảm nồng độ NO thành mạch ($P < 0,001$) trên thỏ [27].

- Nghiên cứu của Fu WJ và cộng sự (2017) cho thấy Viên hoàn An cung ngư hoàng (Angong Niuhuang) có tác dụng làm giảm độ dày thành động mạch chủ, giảm LDL, giảm MDA huyết tương, giảm CRP [29].

1.4. TỔNG QUAN VỀ VIÊN NANG ANMAHA

1.4.1. Thành phần viên nang Anmaha

Viên nang Anmaha được tạo thành từ bốn vị thuốc nam: Tỏi đen, Búp giấm, Giảo cổ lam, Trạch tả.

- Thành phần: Bột cao khô tỏi đen 120mg, Bột cao khô Búp giấm 100mg, Bột cao khô Giảo cổ lam 90mg, Bột cao khô Trạch tả 90mg, tá dược vừa đủ 450mg.

- Dạng bào chế: Viên nang cứng.

1.4.2. Phân tích thành phần viên nang Anmaha theo tác dụng dược lý

Tỏi đen: Từ những năm đầu của thế kỉ 21, tại Hàn Quốc và Nhật Bản đã bắt đầu nghiên cứu về quá trình lên men tỏi tươi [30]. Tỏi được chứng minh có tác dụng tốt trong hạ lipid máu, giảm vữa xơ mạch Nghiên cứu tại Học viện Quân y đã chứng minh cao chiết toàn phần của tỏi thu hái ở đảo Lý Sơn có tác dụng ức chế tăng cholesterol và triglyceride trong máu động vật thí nghiệm trên cả hai phương pháp tăng cholesterol nội sinh và ngoại sinh [31]. Theo nghiên cứu của Y.Y. Jeong và các cộng sự, hiệu lực chống oxy hóa của tỏi lên men tăng gấp 25 lần so với tỏi tươi. Tác dụng của tỏi đen thể hiện rõ nhất trong tác dụng chống oxy hóa, một cơ chế quan

trọng trong phòng chống vữa xơ mạch và nhiều bệnh lý khác. Ngoài ra tỏi đen còn nhiều tác dụng quý khác như kháng lại các tế bào khối u tăng cường miễn dịch [32],[33],[34],[35].

Búp giấm: có vị chua, tính mát, có tác dụng thanh nhiệt, giải khát, liễm phế, chỉ khát. Tác dụng dược lý của dịch chiết nước- ethanol của đài khô hoặc lá của búp giấm có tác dụng làm giảm nồng độ LDL, triglycerid, cholesterol và cả VLDL trong máu và tăng nồng độ của HDL [36],[39]. Do đó, làm giảm nguy cơ mắc các bệnh tim mạch như bệnh mạch vành, xơ vữa động mạch. Cơ chế giảm LDL có thể là do sự ức chế tổng hợp triacylglycerol, do đó giảm nồng độ LDL [40]. Ngoài ra búp giấm còn có nhiều tác dụng khác như chống co thắt cơ trơn, tác dụng kháng khuẩn, tác dụng chống viêm, chống oxy hóa, lợi tiểu, hạ huyết áp, chống ung thư, hạ đường huyết...[41],[42],[43].

Giảo cổ lam: có thành phần hóa học chính là flavonoid và saponin. Số saponin của giảo cổ lam nhiều gấp 3- 4 lần so với nhân sâm. Trong đó, một số có cấu trúc hoá học giống như cấu trúc có trong nhân sâm (ginsenosid). Ngoài ra giảo cổ lam còn chứa các vitamin và các chất khoáng như selen, kẽm, sắt, mangan, phospho... [36],[38],[46]. Giảo cổ lam có nhiều tác dụng tốt đối với hệ tim mạch, làm hạ lipid máu, hạ glucose máu, tăng lưu lượng vành, giảm áp lực máu, làm giảm nhịp tim, làm tăng độ bền mạch ngoại vi, động mạch não và động mạch vành. Những thành phần mang lại hoạt tính này được báo cáo là gynosaponin E, G, K, progypenosid A2, I, J, M, N và O. Ngoài ra giảo cổ lam có nhiều tác dụng khác như tăng cường miễn dịch, chống oxy hóa, an thần, giảm đau...[8],[26], [28],[47].

Trạch tả: có vị ngọt, tính hàn, vào 2 kinh thận và bàng quang, có tác dụng lợi thủy, thẩm thấp, thanh nhiệt. Trạch tả có tác dụng lợi tiểu thải natri, kali, clo và thải ure. Trên thỏ gây tăng lipid máu, vữa xơ mạch, trạch tả có tác dụng hạ lipid máu, chống vữa xơ mạch rõ [5]. Trên chuột cống thực nghiệm có lipid máu cao, các chất Alisol A và Alisol A, B, C monoacetat trộn trong thức ăn hàng ngày với tỉ lệ 0,05-0,1% đều có tác dụng hạ cholesterol máu đạt 50% [24],[25]. Trên thỏ có chế độ ăn giàu cholesterol và lipid, Trạch tả có tác dụng hạ lipid ở gan. Đối với chuột cống trắng có chế độ ăn thiếu protein dẫn đến gan nhiễm mỡ, trạch tả có tác dụng điều trị

rõ rệt. Trên lâm sàng ở những bệnh nhân có lipid máu tăng cao, hàng ngày uống viên Trạch tả với liều 4,2g/người, dùng 2-4 tuần có tác dụng hạ cholesterol, beta-lipoprotein và triglycerid trong máu. Ngoài ra Trạch tả còn thể hiện một số tác dụng khác như chống viêm, hạ huyết áp...[48],[49].

1.5. TỔNG QUAN VỀ ĐỘC TÍNH CẤP VÀ MÔ HÌNH GÂY VỮA XƠ MẠCH TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

1.5.1. Tổng quan về độc tính cấp

1.5.1.1. Ý nghĩa

Độc tính cấp cung cấp thông tin cho việc xếp loại mức độ độc của thuốc, dự đoán triệu chứng và dự kiến biện pháp điều trị ngộ độc cấp; thiết lập mức liều cho những thử nghiệm độc tính và tác dụng cũng như phạm vi an toàn của thuốc nghiên cứu tiếp theo [50].

Các phép thử độc tính cấp cần xác định:

- a. Liều an toàn;
- b. Liều dung nạp tối đa;
- c. Liều gây ra độc tính có thể quan sát được;
- d. Liều thấp nhất có thể gây chết động vật thí nghiệm (nếu có);
- e. Liều LD50 gần đúng (nếu có thể xác định được);
- f. Những triệu chứng ngộ độc điển hình có thể quan sát được trên động vật và khả năng hồi phục (nếu có).

1.5.1.2. Phương pháp thử nghiệm độc tính cấp

Nghiên cứu độc tính cấp của viên nang Anmaha trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo hướng dẫn của Bộ Y tế Việt Nam, tiến hành theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon [38],[50].

Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhịn ăn 12 giờ, nước uống tự do. Sau 12 giờ, chuột được chia ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 10 con. Các lô thử được cho uống Anmaha với thể tích 0,2 ml/10g, uống 3 lần/24h, mỗi lần cách nhau 3 tiếng. Thao tác cho chuột uống thuốc được thực hiện bởi một kỹ thuật viên có

nhieu kinh nghiệm. Mức liều cho uống ở mỗi lô tăng dần: 1500 mg/kg; 4500 mg/kg; 6000 mg/kg; 7500 mg/kg; 9000 mg/kg; 10500 mg/kg; 12000 mg/kg thể trọng.

1.5.1.3. Theo dõi, đánh giá

Theo dõi ĐVTN trong vòng 7 ngày sau khi dùng thuốc. Thời gian theo dõi có thể ngắn hơn (5 ngày) nếu thấy các biểu hiện ngộ độc đã hết, hoặc kéo dài hơn (14 ngày) nếu biểu hiện ngộ độc chưa rõ ràng hoặc cần theo dõi thêm về khả năng hồi phục. Ghi chép và mô tả bất kì triệu chứng, biểu hiện khác thường nào của ĐVTN, nếu có.

Các chỉ tiêu cần quan sát bao gồm:

- Tình trạng hoạt động, khả năng tiêu thụ thức ăn, nước uống, tình trạng phân, nước tiểu.
- Trọng lượng cơ thể: xác định trọng lượng trước khi kết thúc thí nghiệm.
- Biểu hiện độc cấp tính đặc biệt ngay sau khi dùng thuốc, những biểu hiện bất thường trên thân kinh, vận động như hành vi, cử động, đi lại, co giật, biểu hiện của các chức năng hô hấp, tuần hoàn, tiêu hóa như nhịp tim, nhịp thở, nôn mửa, phản xạ của giác quan như mất mũi, biểu hiện tình trạng chất bài tiết, lông... của ĐVTN. Chú ý phân biệt với các biểu hiện do tác dụng dược lý của thuốc (an thần, gây ngủ, hạ huyết áp...).
- Xác định số lượng ĐVTN có biểu hiện ngộ độc; thời gian bắt đầu thể hiện triệu chứng độc, thời gian kéo dài các triệu chứng, khả năng hồi phục.
- Số lượng ĐVTN bị chết (nếu có) thời gian chết ứng với mỗi mức liều đã thử.
- Chết tiên đoán. Những ĐVTN ở tình trạng suy kiệt, hấp hối kéo dài, không có khả năng sống sót (ĐVTN không thể ăn uống trong khoảng thời gian theo dõi, được tiên đoán là sẽ chết), thì được tính như là trường hợp ĐVTN bị chết.

Mở để quan sát đại thể những động vật bị chết trong thời gian theo dõi. Nếu quan sát trên đại thể thấy những biểu hiện bất thường, làm tiêu bản vì thể để quan sát rõ hơn nếu có điều kiện.

1.5.2. Tổng quan về các mô hình gây xơ vữa mạch trên động vật thực nghiệm

Nhiều mô hình động vật đã được phát triển để nghiên cứu về xơ vữa động mạch. Các mô hình khác nhau có những ưu và nhược điểm riêng. Các tiêu chí chung cho một mô hình động vật thích hợp bao gồm kích thước động vật, sự tiện lợi trong chăm sóc và làm thực nghiệm, hồ sơ di truyền đã biết, sự tương đồng với con người và chi phí nghiên cứu. Mô hình trên động vật nhỏ như chuột và thỏ, thường cung cấp thông tin có giá trị về căn nguyên và sinh lý bệnh của xơ vữa động mạch, tiến hành thuận tiện, dễ chăm sóc, do đó thường được sử dụng. Các mô hình động vật lớn như lợn và linh trưởng có những điểm tương đồng đáng tin cậy hơn với bệnh ở người, tuy nhiên chi phí nghiên cứu lớn, điều kiện chăm sóc khó khăn..., thường chỉ tiến hành trong những điều kiện nhất định do đòi hỏi của nghiên cứu cụ thể [51],[52].

Tại Việt Nam, mô hình gây xơ vữa mạch trên thỏ tăng lipid máu được một số tác giả sử dụng [23],[25],[26]. Mô hình gây xơ vữa mạch trên chuột cống trắng ăn thức ăn nhiều dầu mỡ cháy trong thời gian dài có nhiều điểm tương đồng với bệnh sinh về xơ vữa mạch trên người, là mô hình tương đối cập nhật được các tác giả sử dụng trong các công bố trong thời gian gần đây [25],[48].

CHƯƠNG 2 : CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. CHẤT LIỆU NGHIÊN CỨU

Viên nang Anmaha được tạo thành từ bốn vị thuốc nam: Tỏi đen, Bụp giấm, Giảo cổ lam, Trạch tả. Các nguyên liệu được dùng dưới dạng nguyên liệu khô, đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V, được chiết xuất thành cao lỏng, sau đó phun sấy thành cao khô trong viên nang Anmaha. Quy trình bào chế được nghiên cứu và thẩm định tại Viện đào tạo Dược, Học viện Quân y. Viên nang Anmaha đạt tiêu chuẩn cơ sở được đưa vào nghiên cứu.

Bảng 2.1. Thành phần viên nang Anmaha

TT	Tên nguyên, phụ liệu	Tiêu chuẩn	Khối lượng (mg)
1	Bột cao khô tỏi đen	TCCS	120
2	Bột cao khô búp giấm	TCCS	100
3	Bột cao khô giảo cổ lam	TCCS	90
4	Bột cao khô trạch tả	TCCS	90
5	Tá dược (Tinh bột ngô, Natri starchglycolat, Magnesi stearat, aerosil, Lactose)	Vừa đủ	1 viên nang (450mg)

Viên nang Anmaha có chứa 400mg cao dược liệu, tương ứng với 450mg bột trong viên nang. Bột thuốc khô toi, màu vàng nâu, đồng nhất, mùi thơm đặc trưng, vị đắng và hơi ngọt.

Liều sử dụng trên người: 06 viên nang/ngày, tương ứng 2400mg/ngày.

- Tính quân bình một người 50kg thì liều dùng dự kiến trên người sẽ là 48mg/kg/ngày. Quy đổi theo hệ số quy đổi từ người sang động vật thực nghiệm, liều tương đương trên chuột cống trắng với hệ số quy đổi là 07 thì liều dự kiến có

tác dụng trên chuột là 336mg/kg/ngày, liều tương đương trên chuột nhắt trắng với hệ số quy đổi là 12 thì liều dự kiến có tác dụng trên chuột là 576mg/kg/ngày. Bột trong viên nang được cân chính xác trên cân 10-4, được hòa tan trong nước cất, cho chuột uống bằng kim chuyên dụng (kim cong đầu tù).

- Thuốc tham chiếu: dạng bột, Atorvastatin; Thuốc được dùng làm đối chứng dương trong Rối loạn chuyển hóa Lipid máu.

2.2. ĐỘNG VẬT NGHIÊN CỨU

- Chuột nhắt trắng chủng Swiss cả 2 giống, khỏe mạnh, 6 tuần tuổi, cân nặng từ 18 -22 gam/con.

- Chuột cống trắng chủng Wistar, giống đực, khỏe mạnh, trọng lượng 200 - 250g được cung cấp bởi Ban cung cấp động vật thí nghiệm - Học viện Quân y, nuôi dưỡng trong phòng nuôi động vật thí nghiệm một tuần trước khi tiến hành thí nghiệm.

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.

Bảng 2.2. Số lượng động vật thực nghiệm

Động vật	n	Tiêu chuẩn	Nghiên cứu
Chuột nhắt trắng chủng Swiss	80	Cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 18 -22g	Nghiên cứu độc tính cấp
Chuột cống trắng chủng Wistar	50	Giống đực, khỏe mạnh, trọng lượng 200 - 250g	Nghiên cứu tác dụng điều trị xơ vữa động mạch

2.3. THỜI GIAN, ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU

- Địa điểm: Bộ môn Dược lý – Học viện Quân y.
- Cơ quan đọc tiêu bản: Khoa Giải phẫu bệnh và pháp y – Bệnh viện Quân y 103 - Học viện Quân y.
- Thời gian: nghiên cứu được tiến hành từ tháng 06/2021 đến tháng 09/2021.

2.4. CÁC TRANG THIẾT BỊ, HÓA CHẤT PHỤC VỤ CHO NGHIÊN CỨU

- Kim đầu tù cho chuột uống, cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1ml.
- Máy xét nghiệm huyết học tự động XE2100, hãng Sysmex.



Hình 2.1. Máy xét nghiệm huyết học

- Cân điện tử của Nhật, độ chính xác 0,001 gam.
- Bộ dụng cụ mô động vật cỡ nhỏ và các dụng cụ thí nghiệm khác.



Hình 2.2. Cân điện tử



Hình 2.3. Kim tiêm đầu tù

2.5. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm, có đối chiếu với nhóm chứng.

2.5.1. Đánh giá độc tính cấp của viên nang trên chuột nhắt trắng

Nghiên cứu độc tính cấp của viên nang Anmaha trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon, hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới và Thông tư hướng dẫn về thử thuốc trên lâm sàng của Bộ Y tế [50],[56],[57].

Trước khi tiến hành, cho chuột nhịn ăn 12 giờ, nước uống tự do. Sau 12 giờ, chuột được chia ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 10 con. Các lô thử được cho uống Anmaha với thể tích 0,2 ml/10g, uống 3 lần, mỗi lần cách nhau 3 tiếng. Thao tác cho chuột uống thuốc được thực hiện bởi một kỹ thuật viên có nhiều kinh nghiệm. Mức liều cho uống ở mỗi lô tăng dần: 1500 mg/kg; 3000 mg/kg; 4500 mg/kg; 6000 mg/kg; 7500 mg/kg; 9000 mg/kg; 10500 mg/kg; 12000 mg/kg thể trọng.

Theo dõi, đánh giá tình trạng chung của chuột ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau khi cho chuột uống thuốc lần cuối. Tình trạng chung của chuột được đánh giá thông qua các chỉ tiêu sau:

- Theo dõi, đánh giá tình trạng hoạt động, vận động của chuột: các chuột có biểu hiện của trạng thái kích thích thần kinh hay không (như tăng hoạt động, dễ bị kích thích bởi các tác nhân ánh sáng, tiếng động...); có biểu hiện của trạng thái ức chế thần kinh hay không (giảm hoạt động, lơ đãng, hay nằm nhiều...); có biểu hiện về tổn thương thần kinh vận động hay không (dáng đi lảo đảo, bị run các chi, nặng có thể có co giật, hay yếu cơ đi lại khó khăn...).

- Theo dõi, đánh giá tình trạng ảnh hưởng tới thần kinh thực vật: có tình trạng bị ra mồ hôi hoặc bị khô đỏ da hay không; đồng tử mắt có biểu hiện bị co, giãn hay không.

- Theo dõi, đánh giá tình trạng hô hấp:

- + Chuột có biểu hiện bị khó thở không, khi khó thở chuột sẽ có biểu hiện co rút các cơ thở vùng cổ, ngực và có biểu hiện tím tái do thiếu oxy. Dựa vào sự co rút các cơ thở đánh giá biểu hiện khó thở dạng nhanh nông hay có biểu hiện ức chế làm chậm nhịp thở...

- + Chuột có biểu hiện của ho không: khi ho chuột rùn người lại, cơn ho gây vận động đột ngột của cùng đầu và cổ. Khi phát hiện nghi ngờ chuột có biểu hiện bị ho, cho chuột vào ống có gắn thiết bị khuếch đại âm thanh để nghe và đếm số tiếng ho của chuột.

- Theo dõi, đánh giá tình trạng ăn uống của chuột: ngày đầu tiên do đưa lượng thuốc nhiều vào dạ dày, việc theo dõi đánh giá chỉ mang tính tham khảo. Từ ngày

thứ 2 trở đi, quan sát đánh giá sự ảnh hưởng của thuốc đến hoạt động ăn uống của chuột, lượng thức ăn và nước uống mà chuột tiêu thụ.

- Theo dõi, đánh giá tình trạng chất thải của chuột: các chuột có biểu hiện của đi ngoài phân nát hay lỏng nước không, xuất hiện ở những mức liều nào, sau dùng thuốc bao lâu, sau bao lâu thì hồi phục. Quan sát hậu môn các chuột. Những chuột không bị đi ngoài thì hậu môn khô. Các chuột có biểu hiện đi ngoài hậu môn ướt, dính phân, có thể có viêm tấy đỏ...

- Theo dõi đánh giá những biểu hiện bất thường khác như bị đau quặn bụng, bị ngứa đưa chân lên gãi...

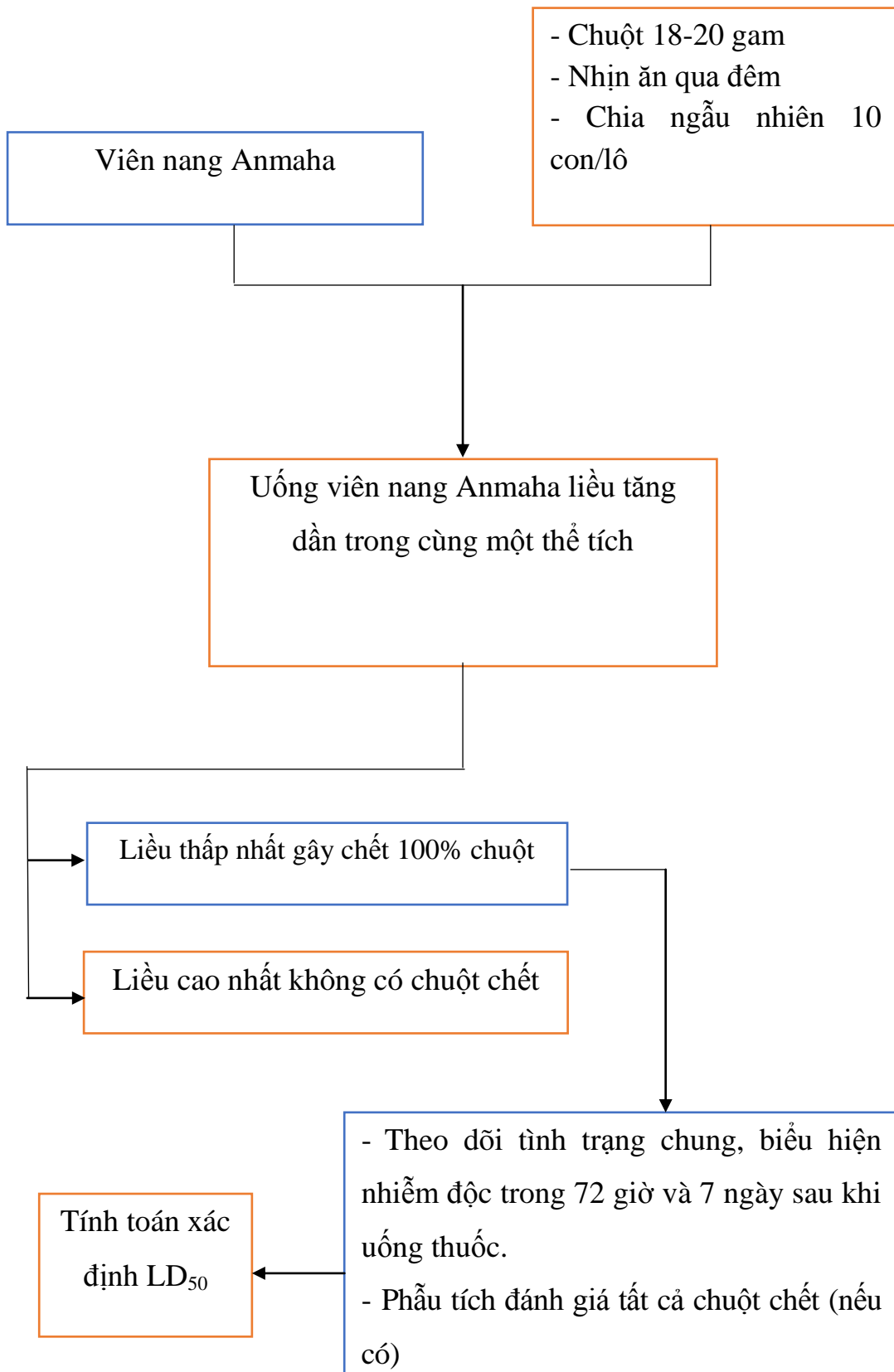
- Theo dõi, đánh giá số chuột chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau khi cho chuột uống thuốc lần cuối. Với mỗi chuột bị chết, cần ghi chép đầy đủ các biểu hiện của chuột trước khi chết, thời điểm xuất hiện các biểu hiện đó, thời gian kéo dài của các biểu hiện đó và thời điểm khi chuột chết.

Tiến hành phẫu tích quan sát tình trạng các tạng ngay sau khi có chuột chết (nếu có) để xác định nguyên nhân gây độc.

Quá trình theo dõi được thực hiện bởi các nghiên cứu viên có kinh nghiệm, chia thành nhiều ca để theo dõi liên tục, mỗi ca gồm 2 người theo dõi.

Nếu có chuột chết, tìm liều cao nhất không gây chết chuột (0%), liều thấp nhất gây chết chuột hoàn toàn (100%) và các liều trung gian. Số chuột chết được đếm theo từng lô. Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD50 của thuốc thử. Tiến hành phẫu tích quan sát tình trạng các tạng ngay sau khi có chuột chết (nếu có) để xác định nguyên nhân gây độc.

Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng chung của chuột và số chuột chết ở mỗi lô (nếu có) cho đến hết 7 ngày sau khi uống thuốc. Các dấu hiệu bất thường của chuột cũng như số chuột chết trong thời gian sau 72 giờ cho đến hết 7 ngày sau khi uống thuốc được dùng để xem xét đánh giá về khả năng gây độc muộn của viên nang Anmaha.



Sơ đồ 2.1. Sơ đồ nghiên cứu độc tính cấp

2.5.2. Đánh giá tác dụng điều trị xơ vữa mạch trên chuột cống trắng

Đánh giá tác dụng điều trị xơ vữa mạch tiến hành trên chuột cống trắng, theo mô hình gây xơ vữa mạch được mô tả bởi Valentina Yurina và cộng sự năm 2019 [49].

Chuột cống trắng (chủng Wistar) đủ tiêu chuẩn thí nghiệm, được phân ngẫu nhiên vào 5 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 (chứng sinh lý): không gây xơ vữa mạch, uống nước cất.
- Lô 2 (chứng bệnh lý): gây xơ vữa mạch + uống nước cất.
- Lô 3 (tham chiếu): gây xơ vữa mạch + uống Atorvastatin 3 mg/kg/24h.
- Lô 4 (lô trị 1): gây xơ vữa mạch + uống Anmaha liều 336 mg/kg/24h
- Lô 5 (lô trị 2): gây xơ vữa mạch + uống Anmaha liều 672 mg/kg/24h

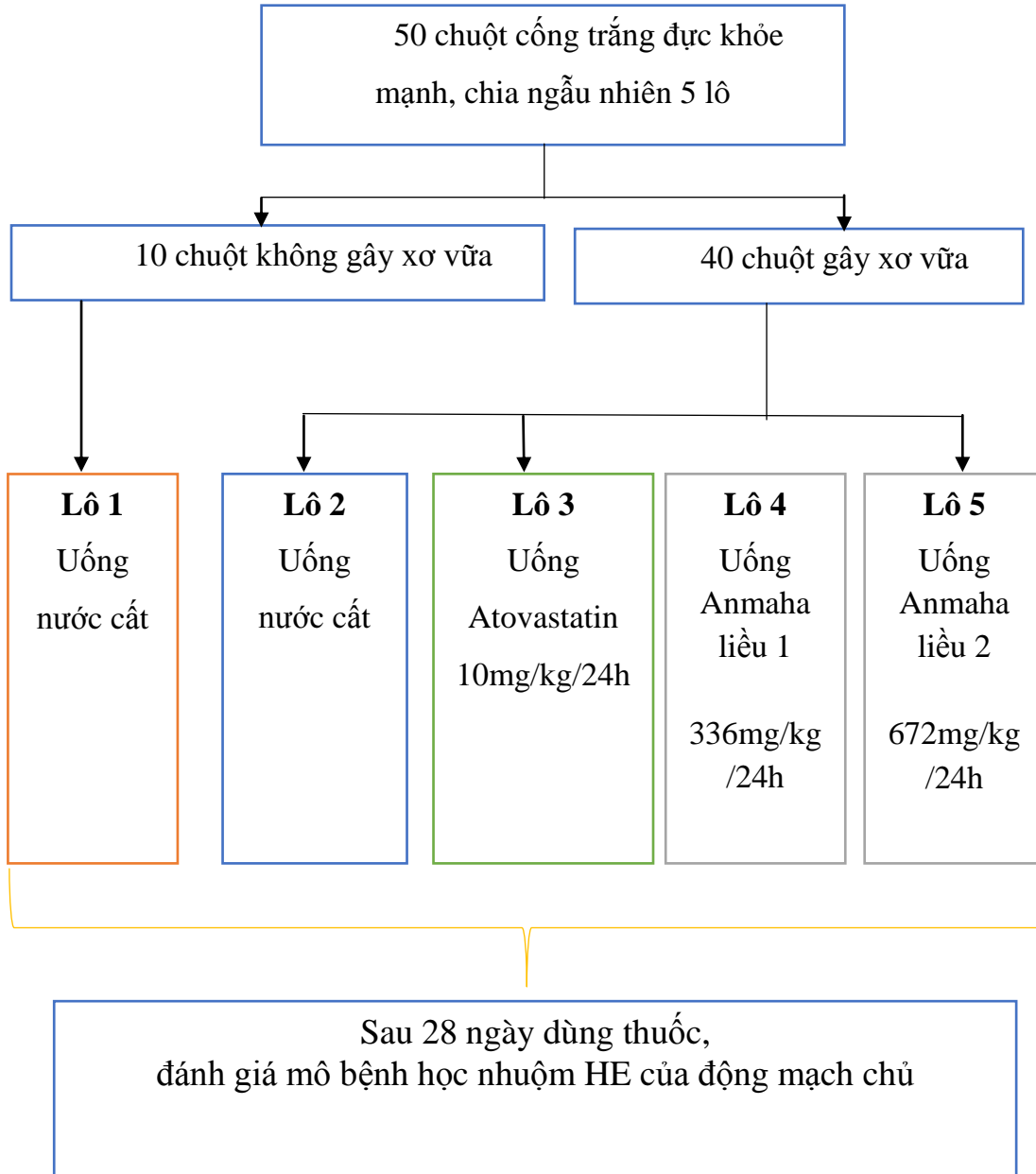
Tiến hành gây xơ vữa động mạch theo phương pháp được mô tả bởi Valentina Yurina và cộng sự. Chuột cống trắng được cho ăn thức ăn nhiều mỡ cháy trong thời gian 8 tuần. Thức ăn nhiều dầu mỡ cháy cho chuột được chế biến theo công thức sau: Bột ngô 42,7 %, dầu đậu nành 7%, Casein 20%, Sucrose 10%, Cellulose 5%, Gelatin 3%, mỡ lợn cháy (đun nóng ở 190⁰C trong 24 giờ) 10%, acid cholic 0,3%, Cholesterol 2%. Lấy máu tại các thời điểm 0, 4 và 8 tuần để xét nghiệm các chỉ số lipid máu: TG, TC, HDL-C, LDL-C.

Thuốc được cho uống hàng ngày vào một giờ cố định (8h sáng) cùng với quá trình cho chuột ăn chế độ ăn gây xơ vữa động mạch.

Chỉ số xơ vữa mạch (chỉ số Atherogenic index - A.I) được tính toán theo công thức:

$$A.I = (TC - HDL-C) / HDL-C$$

Kết thúc 28 ngày dùng thuốc, chuột được mổ, lấy gan đánh giá hình ảnh đại thể và vi thể gan, lấy động mạch chủ làm tiêu bản đánh giá mức độ tổn thương xơ vữa.



Sơ đồ 2.2. Sơ đồ nghiên cứu tác dụng điều trị xơ vữa mạch

2.6.SAI SỐ VÀ CÁCH KHỔNG CHẾ SAI SỐ

Các phương pháp được áp dụng để hạn chế tối đa các sai số có thể xảy ra trong quá trình thu thập, phân tích và xử lý số liệu:

- Động vật nghiên cứu được lựa chọn tương đối đồng đều, khỏe mạnh, không có dị tật hay dấu hiệu bất thường.
- Thời gian thực hiện các bước thí nghiệm giữa các lô chuột là thống nhất cùng một thời điểm.
- Số liệu được đo đạc cẩn thận và chính xác bằng các dụng cụ, máy móc tại phòng thí nghiệm. Lưu trữ số liệu, thông tin bằng số ghi chép, chụp ảnh.
- Xử lý số liệu bằng phần mềm chuyên dụng trên máy tính.

2.7.ĐẠO ĐỨC NGHIÊN CỨU

- Đề cương nghiên cứu được thông qua Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học và khoa học của Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam trước khi triển khai nghiên cứu.
- Nghiên cứu được thực hiện trên chuột nhắt trắng và chuột cống trắng. Số lượng động vật thử nghiệm sử dụng trong các mô hình thí nghiệm được hạn chế ở mức tối thiểu và đủ xử lý thống kê.
- Những chuột chết trong quá trình làm thí nghiệm (nếu có) và số chuột chết sau quá trình làm thí nghiệm hoàn thành đều được xử lý theo đúng quy định.

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

2.8.XỬ LÝ SỐ LIỆU

Các số liệu được xử lý theo các phương pháp thống kê y sinh học, so sánh bằng test Anova sử dụng phần mềm SPSS 20.0.

Số liệu được biểu diễn dưới dạng $\bar{x} \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

CHƯƠNG 3 : KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP

3.1.1. Kết quả theo dõi, đánh giá tình trạng chung của chuột trong vòng 72 giờ sau uống thuốc thử

- *Kết quả về tình trạng hoạt động, vận động của chuột:* các chuột ở tất cả các lô hoạt động, vận động bình thường, không có chuột nào có biểu hiện của các trạng thái kích thích hoặc ức chế thần kinh; không có chuột nào có biểu hiện về tổn thương thần kinh vận động.

- *Kết quả về ảnh hưởng tới thần kinh thực vật:* các chuột ở tất cả các lô đều không thấy có biểu hiện về ảnh hưởng của thuốc lên tình trạng thần kinh thực vật; không có chuột nào có tình trạng bị ra mồ hôi hoặc bị khô đỏ da; đồng tử mắt của các chuột bình thường, không có chuột nào có biểu hiện bị bị co, giãn đồng tử.

- *Kết quả về ảnh hưởng tới tình trạng hô hấp:* Các chuột ở tất cả các lô đều có tình trạng hô hấp bình thường. Chuột không có biểu hiện gì của khó thở, không thấy có tím tái, không có ho.

- *Kết quả về tình trạng ăn uống của chuột:* từ ngày thứ 2 trở đi các chuột ở tất cả các lô đã ăn uống bình thường, không có biểu hiện của việc bỏ ăn cũng như không có biểu hiện của việc ăn uống tăng lên.

- *Kết quả về tình trạng chất thải của chuột:* các chuột đi ngoài phân khuôn, màu sắc bình thường. Kiểm tra hậu môn của các chuột thấy hậu môn khô, không có tẩy đỏ.

- *Kết quả về đánh giá những biểu hiện bất thường khác:* Các chuột ở tất cả các lô đều không có biểu hiện bất thường gì khác (không bị đau quận bụng, không bị ngứa đưa chân lên gãi...).

3.1.2. Kết quả theo dõi, đánh giá số chuột chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau uống thuốc thử

Kết quả nghiên cứu được trình bày ở bảng 3.1

Bảng 3.1. Kết quả đánh giá số chuột chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau uống thuốc thử

Lô chuột	Số chuột thí nghiệm	Liều sử dụng (mg/kg TLCT)	Thể tích cho uống	Số chuột sống / chết sau 72 giờ
Lô 1	10	1500	0,2 mL/10g x 3 lần	10/0
Lô 2	10	3000	0,2 mL/10g x 3 lần	10/0
Lô 3	10	4500	0,2 mL/10g x 3 lần	10/0
Lô 4	10	6000	0,2 mL/10g x 3 lần	10/0
Lô 5	10	7500	0,2 mL/10g x 3 lần	10/0
Lô 6	10	9000	0,2 mL/10g x 3 lần	10/0
Lô 7	10	10500	0,2 mL/10g x 3 lần	10/0
Lô 8	10	12000	0,2 mL/10g x 3 lần	10/0

Chuột nhắt trắng được uống thuốc thử với các mức liều khác nhau từ liều thấp nhất là 1500 mg/kg thể trọng đến liều cao nhất là 12000 mg/kg thể trọng, 0,2ml/10g, uống 3 lần, mỗi lần cách nhau 3 tiếng.

So với liều dự kiến có tác dụng trên chuột nhắt trắng là 576 mg/kg, mức liều 12000 mg/kg gấp 20,83 lần. Như vậy, chuột đã uống đến liều gấp 20,83 lần liều dự kiến có tác dụng mà không có chuột nào chết, không có dấu hiệu bất thường nào ở các chuột.

3.1.3. Kết quả theo dõi, đánh giá tình trạng chung và số chuột chết ở mỗi lô trong thời gian sau 72 giờ cho đến hết 07 ngày sau uống thuốc thử

3.1.3.1. Kết quả theo dõi, đánh giá tình trạng chung của chuột ở mỗi lô trong thời gian sau 72 giờ cho đến hết 7 ngày sau uống thuốc thử

- *Kết quả về tình trạng hoạt động, vận động của chuột:* các chuột ở tất cả các lô hoạt động, vận động bình thường, không có chuột nào có biểu hiện của các trạng thái kích thích hoặc ức chế thần kinh; không có chuột nào có biểu hiện về tổn thương thần kinh vận động.

- *Kết quả về ảnh hưởng tới thần kinh thực vật:* các chuột ở tất cả các lô đều không thấy có biểu hiện về ảnh hưởng của thuốc lên tình trạng thần kinh thực vật; không có chuột nào có tình trạng bị ra mồ hôi hoặc bị khô đỏ da; đồng tử mắt của các chuột bình thường, không có chuột nào có biểu hiện bị bị co, giãn đồng tử.

- *Kết quả về ảnh hưởng tới tình trạng hô hấp:* Các chuột ở tất cả các lô đều có tình trạng hô hấp bình thường. Chuột không có biểu hiện gì của khó thở, không thấy có tím tái, không có ho.

- *Kết quả về tình trạng ăn uống của chuột:* Các chuột ở tất cả các lô đã ăn uống bình thường, không có biểu hiện của việc bỏ ăn cũng như không có biểu hiện của việc ăn uống tăng lên.

- *Kết quả về tình trạng chất thải của chuột:* Các chuột ở tất cả các lô đi ngoài bình thường, phân khuôn, hậu môn khô.

- *Kết quả về đánh giá những biểu hiện bất thường khác:* Các chuột ở tất cả các lô đều không có biểu hiện bất thường gì khác (không bị đau quặn bụng, không bị ngứa đưa chân lên gãi...).

3.1.3.2. Kết quả theo dõi, đánh giá số chuột chết ở mỗi lô trong thời gian sau 72 giờ cho đến hết 7 ngày sau uống thuốc thử

Trong thời gian sau 72 giờ cho đến hết 7 ngày sau uống thuốc thử, không có chuột nào bị chết.

3.2. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG ĐIỀU TRỊ XƠ VỮA MẠCH

3.2.1. Sự thay đổi hàm lượng cholesterol toàn phần trong máu chuột

Kết quả được trình bày ở bảng 3.2

Bảng 1.2. Hàm lượng cholesterol toàn phần (mmol/l) trong máu chuột (n =10)

Lô nghiên cứu	Thời điểm xét nghiệm	Trước thí nghiệm (a)	Sau 14 ngày (b)	Sau 28 ngày (c)	p
Chứng sinh lý (1)		1,82 ± 0,33	1,86 ± 0,21	1,84 ± 0,31	$p > 0,05$
Mô hình (2)		4,21 ± 0,69	4,14 ± 0,54	4,03 ± 0,62	$p > 0,05$
Thuốc thử liều 1 (3)		4,25 ± 0,76	3,28 ± 0,46*	2,66 ± 0,43**	$p_{b-a} < 0,05$
Thuốc thử liều 2 (4)		4,24 ± 0,81	2,92 ± 0,55**	2,48 ± 0,53**	$p_{c-b} < 0,05$
Tham chiếu (5)		4,18 ± 0,73	2,92 ± 0,63**	2,47 ± 0,38**	$p_{c-a} < 0,01$
p		$p_{-1} < 0,01$	$p_{-1} < 0,01$; * $p_{-2} < 0,05$; ** $p_{-2} < 0,01$		-

Nhận xét:

- Tại thời điểm trước thí nghiệm (ngay sau khi kết thúc 8 tuần cho chuột ăn béo), các lô cho chuột ăn thức ăn nhiều mỡ chấy (từ lô 2 đến lô 5) có hàm lượng cholesterol toàn phần trong máu tăng cao rõ rệt so với lô chứng sinh lý ($p < 0,01$).
- Ở lô mô hình, sau khi kết thúc 8 tuần cho chuột ăn thức ăn nhiều mỡ chấy, hàm lượng cholesterol toàn phần trong máu giảm nhẹ không đáng kể ($p > 0,05$).
- Ở các lô dùng thuốc, so sánh thời điểm sau so với thời điểm trước, hàm lượng cholesterol toàn phần trong máu giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$ và $p < 0,01$).
- Tại thời điểm sau 14 ngày, lô dùng thuốc thử liều 2 và lô dùng thuốc tham chiếu Atorvastatin có hàm lượng cholesterol toàn phần trong máu giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,01$, lô dùng thuốc thử liều 1 giảm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Tại thời điểm sau 28 ngày, lô dùng thuốc thử liều 1, liều 2, và thuốc tham chiếu Atorvastatin có hàm lượng cholesterol toàn phần trong máu đều giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,01$.

3.2.2. Sự thay đổi hàm lượng Triglycerit (TG) máu chuột

Kết quả được trình bày ở bảng 3.3.

Bảng 3.3. Hàm lượng TG (mmol/l) trong máu chuột (n = 10)

Thời điểm xét nghiệm Lô nghiên cứu	Trước thí nghiệm (a)	Sau 14 ngày (b)	Sau 28 ngày (c)	p
Chứng sinh lý (1)	0,94 ± 0,32	0,92 ± 0,27	0,95 ± 0,23	$p > 0,05$
Mô hình (2)	1,73 ± 0,35	1,62 ± 0,56	1,54 ± 0,46	$p > 0,05$
Thuốc thử liều 1 (3)	1,71 ± 0,69	1,47 ± 0,41*	1,35 ± 0,48**	$p_{b-a} < 0,05$
Thuốc thử liều 2 (4)	1,69 ± 0,28	1,40 ± 0,46**	1,24 ± 0,40**	$p_{c-b} < 0,05$
Tham chiếu (5)	1,74 ± 0,35	1,41 ± 0,53**	1,23 ± 0,37**	$p_{c-a} < 0,01$
p	$p_{-1} < 0,01$	$p_{-1} < 0,01$; * $p_{-2} < 0,05$; ** $p_{-2} < 0,01$		-

Nhận xét:

- Tại thời điểm trước thí nghiệm (ngay sau khi kết thúc 8 tuần cho chuột ăn béo), các lô cho chuột ăn thức ăn nhiều mỡ chấy (từ lô 2 đến lô 5) có hàm lượng TG trong máu tăng cao rõ rệt so với lô chứng sinh lý ($p < 0,01$).

- Ở lô mô hình, sau khi kết thúc 8 tuần cho chuột ăn thức ăn nhiều mỡ chấy, hàm lượng TG trong máu giảm nhẹ không đáng kể ($p > 0,05$).

- Ở các lô dùng thuốc, so sánh thời điểm sau so với thời điểm trước, hàm lượng TG trong máu giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$ và $p < 0,01$).

- Tại thời điểm sau 14 ngày, lô dùng thuốc thử liều 2 và lô dùng thuốc tham chiếu Atorvastatin có hàm lượng TG trong máu giảm có ý nghĩa thống kê so với

lô mô hình với $p < 0,01$, lô dùng thuốc thử liều 1 giảm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Tại thời điểm sau 28 ngày, lô dùng thuốc thử liều 1, liều 2, và thuốc tham chiếu Atorvastatin có hàm lượng TG trong máu đều giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,01$.

3.2.3. Sự thay đổi hàm lượng HDL-Cholesterol máu chuột

Kết quả được trình bày ở bảng 3.4.

Bảng 3.4. Hàm lượng HDL-Cholesterol máu (mmol/l) chuột (n = 10)

Thời điểm xét nghiệm Lô nghiên cứu	Trước thí nghiệm (a)	Sau 14 ngày (b)	Sau 28 ngày (c)	p
Chứng sinh lý (1)	0,83 ± 0,21	0,82 ± 0,18	0,84 ± 0,24	$p > 0,05$
Mô hình (2)	0,76 ± 0,26	0,79 ± 0,28	0,81 ± 0,30	$p > 0,05$
Thuốc thử liều 1 (3)	0,77 ± 0,24	0,96 ± 0,20	1,02 ± 0,23**	$p_{b-a} < 0,05$
Thuốc thử liều 2 (4)	0,74 ± 0,26	1,02 ± 0,24*	1,06 ± 0,25**	$p_{c-b} < 0,05$
Tham chiếu (5)	0,79 ± 0,27	1,04 ± 0,27*	1,08 ± 0,31**	$p_{c-a} < 0,01$
p	> 0,05	$p_{3,4,5-1} < 0,01$; * $p_{-2} < 0,05$; ** $p_{-2} < 0,01$		

Nhận xét:

- Tại thời điểm trước thí nghiệm (ngay sau khi kết thúc 8 tuần cho chuột ăn béo), các lô cho chuột ăn thức ăn nhiều mỡ cháy (từ lô 2 đến lô 5) có hàm lượng HDL - Cholesterol máu giảm nhưng không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p > 0,05$).

- Ở lô mô hình, sau khi kết thúc 8 tuần cho chuột ăn thức ăn nhiều mỡ cháy, hàm lượng HDL-Cholesterol máu tăng nhẹ không đáng kể ($p > 0,05$).

- Ở các lô dùng thuốc, so sánh thời điểm sau so với thời điểm trước, hàm lượng HDL Cholesterol trong máu tăng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$ và $p < 0,01$).

- Tại thời điểm sau 14 ngày, lô dùng thuốc thử liều 2 và lô dùng thuốc tham chiếu Atorvastatin có hàm lượng HDL - Cholesterol trong máu tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,05$, lô dùng thuốc thử liều 1 tăng chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).
- Tại thời điểm sau 28 ngày, lô dùng thuốc thử liều 1, liều 2, và thuốc tham chiếu Atorvastatin có hàm lượng HDL - Cholesterol máu đều tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,01$.

3.2.4. Sự thay đổi hàm lượng LDL-Cholesterol máu chuột

Kết quả được trình bày ở bảng 3.5.

Bảng 3.5. Hàm lượng LDL-Cholesterol (mmol/l) máu chuột (n = 10)

Thời điểm xét nghiệm Lô nghiên cứu	Trước thí nghiệm (a)	Sau 14 ngày (b)	Sau 28 ngày (c)	p
Chứng sinh lý (1)	0,60 ± 0,23	0,58 ± 0,21	0,61 ± 0,22	$p > 0,05$
Mô hình (2)	2,66 ± 0,55	2,60 ± 0,67	2,49 ± 0,69	$p > 0,05$
Thuốc thử liều 1 (3)	2,69 ± 0,54	1,63 ± 0,48*	1,01 ± 0,36**	$p_{b-a} < 0,05$
Thuốc thử liều 2 (4)	2,72 ± 0,61	1,29 ± 0,42**	0,85 ± 0,42**	$p_{c-b} < 0,05$
Tham chiếu (5)	2,62 ± 0,22	1,26 ± 0,36**	0,81 ± 0,34**	$p_{c-a} < 0,01$
p	$p_{-1} < 0,01$	$p_{-1} < 0,01$; * $p_{-2} < 0,05$; ** $p_{-2} < 0,01$		-

Nhận xét:

- Tại thời điểm trước thí nghiệm (ngay sau khi kết thúc 8 tuần cho chuột ăn béo), các lô cho chuột ăn thức ăn nhiều mỡ chấy (từ lô 2 đến lô 5) có hàm lượng LDL - Cholesterol trong máu tăng cao rõ rệt so với lô chứng sinh lý ($p < 0,01$).
- Ở lô mô hình, sau khi kết thúc 8 tuần cho chuột ăn thức ăn nhiều mỡ chấy, hàm lượng LDL - Cholesterol trong máu giảm nhẹ không đáng kể ($p > 0,05$).

- Ở các lô dùng thuốc, so sánh thời điểm sau so với thời điểm trước, hàm lượng LDL-Cholesterol trong máu giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$ và $p < 0,01$).
- Tại thời điểm sau 14 ngày, lô dùng thuốc thử liều 2 và lô dùng thuốc tham chiếu Atorvastatin có hàm lượng LDL - Cholesterol trong máu giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,01$, lô dùng thuốc thử liều 1 giảm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.
- Tại thời điểm sau 28 ngày, lô dùng thuốc thử liều 1, liều 2, và thuốc tham chiếu Atorvastatin có hàm lượng LDL - Cholesterol trong máu đều giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,01$.

3.2.5. Sự thay đổi chỉ số Atherogenic index (A.I) của các lô chuột nghiên cứu

Kết quả được trình bày ở bảng 3.6.

Bảng 3.6. Chỉ số Atherogenic index (A.I) (n = 10)

Thời điểm xét nghiệm Lô nghiên cứu	Trước thí nghiệm (a)	Sau 14 ngày (b)	Sau 28 ngày (c)	p
Chứng sinh lý (1)	1,23 ± 0,37	1,23 ± 0,41	1,21 ± 0,42	$p > 0,05$
Mô hình (2)	4,53 ± 0,46	4,21 ± 0,55	3,94 ± 0,63	$p > 0,05$
Thuốc thử liều 1 (3)	4,39 ± 0,48	2,38 ± 0,52*	1,59 ± 0,54**	$p_{b-a} < 0,05$
Thuốc thử liều 2 (4)	4,65 ± 0,44	1,87 ± 0,39**	1,34 ± 0,46**	
Tham chiếu (5)	4,43 ± 0,51	1,83 ± 0,43**	1,28 ± 0,38**	$p_{c-a} < 0,01$
p	$p_{-1} < 0,01$	$p_{-1} < 0,01$; * $p_{-2} < 0,05$; ** $p_{-2} < 0,01$		-

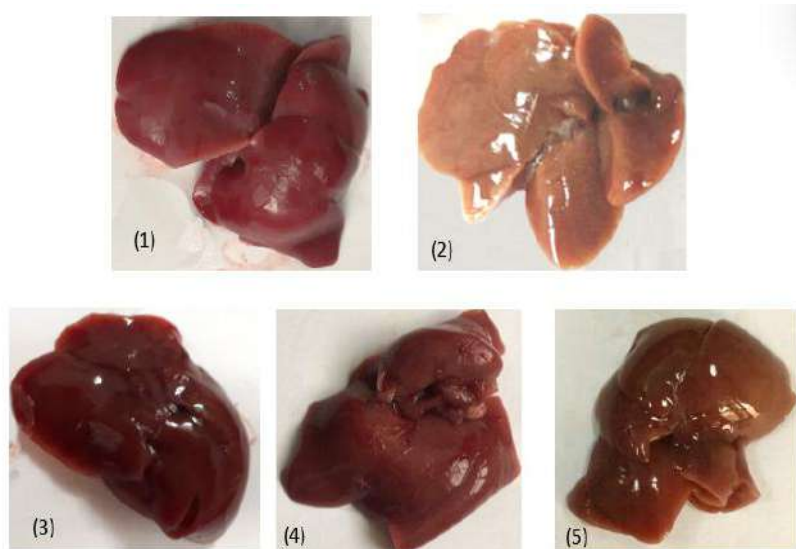
Nhận xét:

- Tại thời điểm trước thí nghiệm (ngay sau khi kết thúc 8 tuần cho chuột ăn béo), các lô cho chuột ăn thức ăn nhiều mỡ chấy (từ lô 2 đến lô 5) có chỉ số Atherogenic index tăng cao rõ rệt so với lô chứng sinh lý ($p < 0,01$).

- Ở lô mô hình, sau khi kết thúc 8 tuần cho chuột ăn thức ăn nhiều mỡ cháy, chỉ số Atherogenic index giảm nhẹ không đáng kể ($p > 0,05$).
- Ở các lô dùng thuốc, so sánh thời điểm sau so với thời điểm trước, chỉ số Atherogenic index giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$ và $p < 0,01$).
- Tại thời điểm sau 14 ngày, lô dùng thuốc thử liều 2 và lô dùng thuốc tham chiếu Atorvastatin có chỉ số Atherogenic index giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,01$, lô dùng thuốc thử liều 1 giảm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.
- Tại thời điểm sau 28 ngày, lô dùng thuốc thử liều 1, liều 2, và thuốc tham chiếu Atorvastatin có chỉ số Atherogenic index đều giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,01$.

3.2.6. Kết quả đánh giá hình ảnh đại thể và vi thể gan chuột

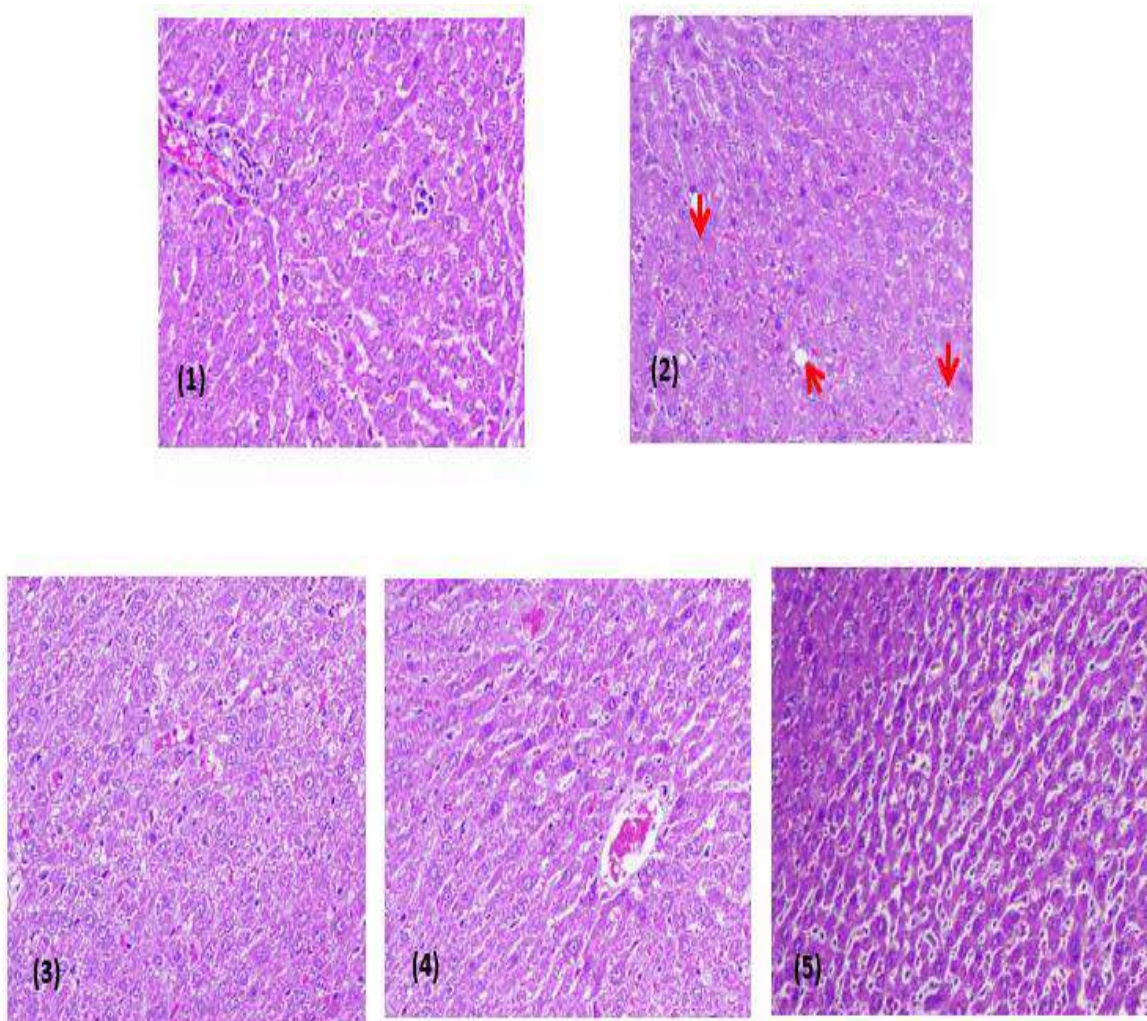
Hình ảnh đại thể gan chuột đại diện cho các lô chuột nghiên cứu được trình bày ở hình 3.1.



Hình 3.1. Hình ảnh đại thể gan chuột. (1) lô chứng sinh lý, (2) lô mô hình, (3) lô thuốc thử liều 1, (4) lô thuốc thử liều 2, (5) lô tham chiếu Atorvastatin.

Kết quả quan sát đại thể bằng mắt thường và dưới kính lúp có độ phóng đại 25 lần cho thấy: Ở lô chứng sinh lý, gan sẫm màu; Ở lô mô hình, gan bạc màu, màu sắc vàng sáng, thể hiện hình ảnh gan nhiễm mỡ; Các lô dùng thuốc, màu sắc của gan sẫm màu hơn so với gan ở lô mô hình, về gần với màu sắc của gan ở lô chứng sinh lý.

Hình ảnh vi thể gan chuột đại diện cho các lô chuột nghiên cứu được trình bày ở hình 3.2:



Hình 3.2. Hình ảnh vi thể gan chuột nhuộm HE (x 400). (1) lô chứng sinh lý, (2) lô chứng bệnh, (3) lô tham chiếu Atorvastatin, (4) lô thuốc thử liều 1, (5) lô thuốc thử liều 2.

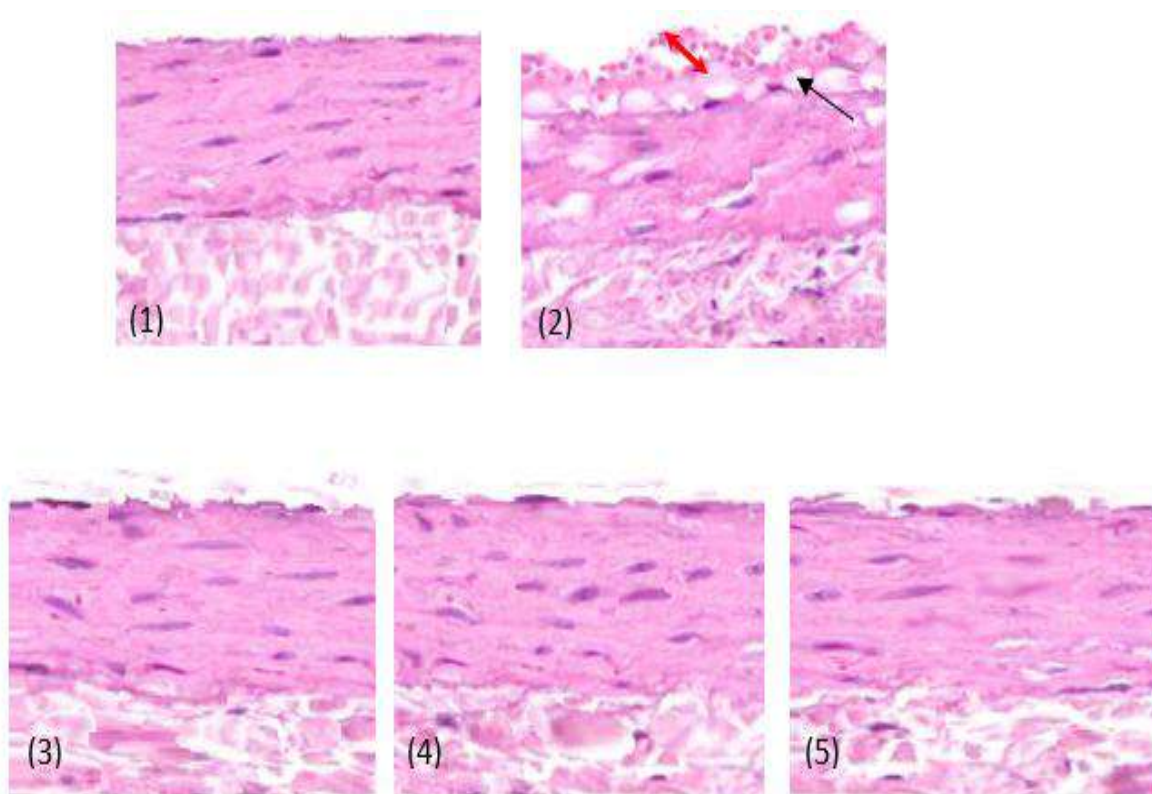
Kết quả đánh giá vi thể gan nhuộm HE cho thấy:

- Mô bệnh học gan chuột của lô chứng sinh lý cho thấy các xoang mạch nan hoa và tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy bình thường. Các tế bào gan không bị thoái hóa.
- Ở lô mô hình, các tế bào gan bị thoái hóa mỡ (mũi tên). Các xoang mạch sung huyết nhẹ.
- Các lô dùng thuốc (lô 3, 4, 5), hình ảnh mô bệnh học gan chuột về gần tương đương so với lô chứng sinh lý.

3.2.7. Kết quả đánh giá mức độ xơ vữa của động mạch chủ bụng

Tiêu bản mô bệnh học động mạch chủ bụng chuột được thực hiện và được đọc tại khoa Hình thái giải phẫu bệnh, Bệnh viện 103.

Hình ảnh mô bệnh học động mạch chủ bụng đại diện cho các lô chuột được trình bày ở hình 3.3.



Hình 3.3. Hình ảnh vi thể động mạch chủ bụng chuột. (1) lô chứng sinh lý, (2) lô mô hình, (3) lô thuốc thử liệu 1, (4) lô thuốc thử liệu 2, (5) lô tham chiếu Atorvastatin (HE x 400).

Kết quả đánh giá vi thể động mạch chủ bụng chuột cho thấy:

- Mô bệnh học động mạch chủ bụng chuột của lô chứng sinh lý thành mạch mỏng và mịn, các tế bào cơ nằm định hướng ngang với ống động mạch chủ.
- Ở lô mô hình, lòng thành mạch gồ ghề, các tế bào bọt (mũi tên đen) xuất hiện ngay lớp dưới niêm mạc, là cơ sở của sự phát triển xơ vữa (mũi tên đỏ) hình thành phía trên.
- Các lô dùng thuốc (lô 3, 4, 5), hình ảnh mô bệnh học động mạch chủ bụng chuột về gần tương đương so với lô chứng sinh lý. Lòng thành mạch có gồ ghề hơn không đáng kể so với lô chứng sinh lý, không thấy biểu hiện các tế bào bọt và xơ vữa.

CHƯƠNG 4 : BÀN LUẬN

4.1. VỀ ĐỘC TÍNH CẤP CỦA VIÊN NANG ANMAHA

Theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới và Bộ Y tế Việt Nam [56], [57], 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 Anmaha với hoạt chất chiết xuất từ dược liệu, là dạng chế phẩm mới, do đó là đối tượng cần được đánh giá về độc tính cấp.

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

Việc theo dõi đánh giá tình trạng chung của chuột, cũng như số chuột chết ở mỗi lô đòi hỏi 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 người theo dõi 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 viên nang Anmaha, không có chuột nào bị chết nên không có bất kỳ các nguyên nhân nào kể trên.

Kết quả nghiên cứu độc tính cấp đường uống của viên nang Anmaha trên chuột nhắt trắng cho thấy với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24h là 12000mg/kg thể trọng, gấp trên 20 lần (20,83 lần) liều dự kiến có tác dụng, các chuột vẫn khỏe mạnh, lông mượt, mắt trong, ăn uống và hoạt động bình thường, không có chuột nào chết.

Việc chưa tìm thấy LD₅₀ của viên nang Anmaha theo đường uống trên chuột nhắt trắng với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24h là 12000mg/kg, gấp 20,83 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 Anmaha có tính an toàn cao.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, với tính an toàn cao của viên nang Anmaha trong thử nghiệm độc tính cấp là phù hợp với tính an toàn của các dược liệu thành phần gồm tỏi đen, búp giấm, trạch tả và giảo cổ lam. Đây là các dược liệu được dân gian sử dụng nhiều, sử dụng từ lâu và hầu như chưa thấy báo cáo về độc tính của các dược liệu này.

Các nghiên cứu độc tính của Giảo cổ lam, cho thấy rằng các chất chiết xuất từ thực vật tương đối an toàn trong các thí nghiệm độc tính cấp tính và dài hạn ở liều lượng đã cho trong khi không có nghiên cứu độc tính nào được báo cáo. Nghiên cứu độc tính cấp và bán trường diễn của viên nang Vinatan gồm 2 thành phần chính là: cao chiết giảo cổ lam và polyphenol của chè xanh trên chuột nhắt trắng, dùng đến liều 25g/kg chưa thấy dấu hiệu ngộ độc ở chuột sau 7 ngày theo dõi không có chuột chết trong 72 giờ sau uống thuốc. Vì vậy chưa xác định được LD₅₀ của viên nang Vinatan trên chuột nhắt trắng theo đường uống [26].

Độc tính cấp và bán cấp tính theo đường uống, cũng như các nghiên cứu lợi tiểu được thực hiện của Búp giấm (*Hibiscus sabdariffa calyces*) được nhiều tác giả đánh giá. Tổng cộng 20 con chuột Wistar đã được sử dụng cho mỗi nghiên cứu độc tính và được phân thành 4 nhóm 5 con chuột. Chiết xuất được sử dụng với liều duy nhất hàng ngày là 125mg, 250mg và 500 mg/kg thể trọng trong 28 và 90 ngày tương ứng. Để đánh giá hoạt động lợi tiểu, 25 con chuột được chia thành 5 nhóm 5 con chuột và cho dùng nước muối sinh lý bình thường, hydrochlorothiazide 10

mg/kg, *Hibiscus sabdariffa calyces* 67,5mg, 125mg và 250 mg/kg qua đường uống, sau 18h lấy mẫu nước tiểu, đo thể tích và phân tích nồng độ các chất điện giải. Các thông số huyết học và sinh hóa được đánh giá cũng như mô bệnh học của thận và gan. Nghiên cứu này đã điều tra hồ sơ an toàn của các chính quyền cấp tính, cấp tính, bán mãn tính và khả năng lợi tiểu của chiết xuất nước của cây *Hibiscus sabdariffa calyces* [59].

Báo cáo trước đây về hồ sơ độc tính của *Hibiscus sabdariffa* cho thấy không có độc tính quan sát được ở 15g/kg calyces (liều cao) chiết xuất trong nước và ethanol ở chuột trong vòng 7 ngày sau khi uống (Reanmongkol và Itharat, 2007). Nghiên cứu này đã cung cấp thông tin quan trọng về sự thay đổi các thông số sinh hóa như là công cụ để xác định độc tính. Rõ ràng là từ các kết quả trong nghiên cứu này rằng chất chiết xuất tương đối ít độc hơn đối với các chính quyền dưới cấp tính hơn là bán mãn tính. Mặc dù vậy, tác dụng không độc hại của việc sử dụng chiết xuất dưới thời kỳ mãn tính đối với một số thông số sinh hóa cũng đã được thiết lập. Những quan sát này cho thấy rằng chiết xuất dạng nước của *Hibiscus sabdariffa calyces* là an toàn bằng đường uống trong thời kỳ bán cấp tính trong khi việc sử dụng dưới mãn tính nên được thực hiện một cách thận trọng. Lượng nước tiểu tăng lên và sự bài tiết chất điện giải xác nhận khả năng lợi tiểu của cây và nó tạo ra lợi tiểu tương đương với hydrochlorothiazide chuẩn tham chiếu [59]. Nhóm nghiên cứu do PGS.TS. Trần Thu Hương, Hội Hóa học Việt Nam và các đồng nghiệp đã lựa chọn đài hoa Bụp giấm (*Hibiscus sabdariffa L.*) làm đối tượng nghiên cứu, thử hoạt tính gây độc tế bào của dịch chiết từ đài hoa Bụp giấm. Kết quả thử cho thấy dịch chiết này không thể hiện hoạt tính ở các nồng độ thử nghiệm, độ an toàn cao [6].

Sireeratawong và cộng sự, 2013 cũng đã báo cáo về tính an toàn của chiết xuất đài hoa *Hibiscus sabdariffa* (loài màu đỏ) khi dùng liều duy nhất 5.000 mg/kg thể trọng sau 14 ngày. Họ cũng báo cáo sự an toàn ở liều lượng từ 50 đến 200 mg/kg thể trọng chiết xuất sau khi uống mỗi ngày trong 270 ngày. Ngoài các tác dụng có lợi khác nhau của *Hibiscus sabdariffa*, tính an toàn của nó để tiêu thụ làm thực phẩm hoặc thuốc cũng cần được chú ý. *Hibiscus sabdariffa* đã được báo cáo là có mức độ độc cấp tính thấp [61]. Nghiên cứu của Orisakwe và cộng sự trên động vật

sử dụng chuột bạch tạng Wistar đực báo cáo rằng sử dụng *Hibiscus sabdariffa* liều cao (4600 mg/kg) trong 3 tháng không gây ra phản ứng độc hại, mặc dù tác động tiêu cực lên tinh hoàn và số lượng tinh trùng được tìm thấy [53].

Nghiên cứu trên thực nghiệm ở chuột nhắt trắng và thỏ để đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của dịch chiết tỏi đen Lý Sơn. Chuột nhắt trắng được uống với các mức liều tăng dần (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 và 10 g/kg trọng lượng cơ thể chuột), không có chuột nào chết trong 72 giờ (kể cả mức liều tối đa có thể đưa vào dạ dày chuột 10 g/kg/24 giờ), kết quả: chưa tìm thấy LD₅₀, với liều uống tối đa mà chuột có thể uống được (10g/kg trọng lượng cơ thể). Thỏ được uống dịch chiết tỏi đen hàng ngày liều 2/kg/24 giờ và 4g/kg/24 giờ trong 42 ngày; kết quả trên thỏ, dịch chiết tỏi đen ở các mức liều 2g và 4g/kg/24 giờ uống hàng ngày trong 42 ngày không ảnh hưởng đến sự phát triển thể trọng cơ thể, các chỉ số điện tim, huyết học, sinh hóa và mô bệnh học gan, lách, thận thỏ. Cho thấy dịch chiết tỏi đen Lý Sơn có độ an toàn cao trên động vật thực nghiệm [62].

Nghiên cứu tính an toàn của bài thuốc TB15 trên thực nghiệm (công thức bài thuốc: trạch tả 30g, đại hoàng 8g, sơn tra 12g, bạch truật 20g, phá cố chỉ 10g, đan sâm 30g, chỉ xác 20g, qua lâu nhân 15g), chưa tìm thấy LD₅₀ của bài thuốc theo đường uống trên chuột nhắt trắng với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24 giờ là 228,0g/kg thể trọng. Với liều 23,2g/kg/24 giờ và liều 69,6g/kg/24 giờ cho chuột cống trắng uống liên tục trong 60 ngày, thuốc không ảnh hưởng lên trọng lượng cơ thể và điện tim của chuột; không gây thay đổi có ý nghĩa thống kê các chỉ số huyết học, sinh hóa; không gây biến đổi mô bệnh học gan, lách, thận của chuột nghiên cứu. Kết quả cho thấy bài thuốc TB15 không gây độc tính cấp và độc tính bán trường diễn trên động vật thực nghiệm [63]. Nghiên cứu của Trần Quốc Bảo và Vũ Huy Hải (2015), nhằm xác định độc tính cấp và đánh giá độc tính bán cấp của bài thuốc DQXH-08 trên chuột. Kết quả cho thấy: với liều tối đa 23,81g/kg (số lượng tối đa chuột có thể uống được) không gây chết chuột trắng sau 72 giờ, chưa xác định được LD₅₀. Với tổng liều 133,33 g/kg thể trọng dùng liên tục trong 7 ngày không gây chết chuột trong 12 ngày theo dõi. Trọng lượng cơ thể cũng như hình ảnh mô bệnh của gan, lách, thận ở các lô chuột nghiên cứu không thấy biến đổi so

với lô chuột. Vì chuột không chết nên không xác định được LD₅₀. Một chất được coi là không độc nếu như LD₅₀ của nó lớn hơn 15gam/kg thể trọng. Kết quả nghiên cứu độc tính của bài thuốc cho thấy với liều 23,81 gam/kg thể trọng chuột nhất trắng vẫn chưa chết, vì thế bài thuốc DQXH-08 không xác định được LD₅₀, có thể coi bài thuốc không có độc tính [64].

4.2. VỀ TÁC DỤNG ĐIỀU TRỊ XƠ VỮA ĐỘNG MẠCH CỦA VIÊN NANG ANMAHA TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Để đánh giá tác dụng chống xơ vữa động mạch của viên nang Anmaha, nghiên cứu này theo dõi và đánh giá trên các chỉ tiêu bao gồm, các chỉ số lipid máu, hình ảnh mô bệnh học của quai động mạch chủ chuột thực nghiệm sau 8 tuần.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi dùng Atorvastatin làm thuốc tham chiếu, do Atorvastatin thuộc nhóm statin, nhóm thuốc được coi là có tác dụng điều chỉnh RLLPM hiệu quả, có khả năng dung nạp tốt và được sử dụng rộng rãi, có tác dụng cải thiện chức năng nội mạc mạch, ổn định mảng XVĐM, chống viêm, chống huyết khối, chống oxy hóa, tăng mật độ xương, có tác dụng tốt với các thành phần lipid máu: giảm LDL-C và TG, tăng HDL-C [5], [18].

Lô mô hình sau 8 tuần cho chuột ăn chế độ ăn nhiều mỡ cháy trong thời gian dài đã làm tăng rõ cholestrol toàn phần, TG, LDL-C_I, VLDL-C, giảm HDL-Cholesterol. Điều này thể hiện tình trạng rối loạn lipid máu, các cholesterol xấu tăng cao trong khi HDL-Cholesterol giảm. Cùng với sự gia tăng lipid máu, đặc biệt các thành phần mỡ xấu, quá trình peroxy hóa lipid tăng cao. Việc tiêu thụ nhiều chất béo không lành mạnh dẫn đến cơ chế bệnh sinh của rối loạn lipid máu, một yếu tố nguy cơ xơ vữa động mạch và tim mạch bệnh. Chế độ ăn nhiều mỡ cháy làm gia tăng các cholesterol xấu trong máu và tính dễ bị tổn thương của nó đối với quá trình oxy hóa. Quá trình oxy hóa lipid hoạt động như một sự khởi đầu của rối loạn chức năng biểu mô dẫn đến sự phát triển của mảng xơ vữa và xơ vữa động mạch.

Chúng tôi dùng Anmaha liều 336 mg/kg/ngày và liều 672 mg/kg/ngày (1/3 liều tương đương lâm sàng) trong 4 tuần liên tục để đánh giá tác dụng điều trị rối loạn lipid máu, được so sánh với thuốc Atorvastatin liều 10mg/kg/ngày trên chuột cống trắng.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, Atorvastatin liều 10mg/kg có tác dụng cải thiện các chỉ số lipid máu chung: CT, TG, LDL-C, HDL-C. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của một số tác giả cũng sử dụng Atorvastatin liều 10mg/kg/ngày làm thuốc chứng dương trong mô hình điều chỉnh rối loạn chuyển hóa lipid máu trên chuột cống trắng [48].

Kết quả ở các bảng 3.2 đến 3.6 cho thấy:

Hàm lượng CT tại thời điểm sau 28 ngày, lô dùng thuốc thử liều 1, liều 2 và thuốc tham chiếu Atorvastatin có hàm lượng CT trong máu đều giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,01$.

Hàm lượng TG tại thời điểm sau 28 ngày, lô dùng thuốc thử liều 1, liều 2 và thuốc tham chiếu Atorvastatin có hàm lượng TG trong máu đều giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,01$.

Hàm lượng HDL-C tại thời điểm sau 28 ngày, lô dùng thuốc thử liều 1, liều 2 và thuốc tham chiếu Atorvastatin có hàm lượng HDL-C trong máu đều tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,05$ và $p < 0,01$.

Hàm lượng LDL-C tại thời điểm sau 28 ngày, lô dùng thuốc thử liều 1, liều 2 và thuốc tham chiếu Atorvastatin có hàm lượng LDL-C trong máu đều giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,01$.

Chỉ số Atherogenic index tại thời điểm sau 28 ngày, lô dùng thuốc thử liều 1, liều 2 và thuốc tham chiếu Atorvastatin có chỉ số Atherogenic index trong máu đều giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,01$.

So sánh với kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả Allison L. Hopkins, Marnie G. Lamm, Janet L. Funk, Cheryl Ritenbaugh năm 2013, nghiên cứu trên cả người và động vật về tác dụng của búp giấm (*Hibiscus sabdariffa* L.) trong điều trị tăng huyết áp và tăng lipid máu. Dịch chiết *Hibiscus sabdariffa* có mức độc tính thấp, LD₅₀ trong khoảng từ 2000 đến trên 5000 mg/kg/ngày. Không có dấu hiệu độc tính trên gan và thận, trừ khi dùng ở liều cao thì tác dụng không mong muốn trên gan có thể xảy ra. Có dấu hiệu cho thấy tác động của *Hibiscus sabdariffa* L. như thuốc lợi niệu, tuy nhiên nhiều trường hợp không làm ảnh hưởng đáng kể đến mức độ chất điện giải. Nghiên cứu trên động vật cho thấy sự tiêu thụ dịch chiết *Hibiscus*

sabdariffa L. từ đài và cánh hoa làm giảm huyết áp theo kiểu phụ thuộc liều (liều từ 1mg/kg/ngày đến 1000mg/kg/ngày). Trong thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên, sự tiêu thụ trà hoặc dịch chiết làm từ đài hoa *Hibiscus sabdariffa* L. (liều từ 1,25g đến 10g, chia 3 lần/ngày) làm giảm cả huyết áp tâm thu và huyết áp tâm trương trên người trưởng thành có tăng huyết áp độ I và II và người đái tháo đường type II. Tổng lượng CT (liều 1,5 mg/kg/ngày dịch chiết nước từ cánh hoa và liều 200 mg/kg/ngày dịch chiết còn từ hoa, trên 1 tháng); LDL-C và TG đều thấp hơn (liều 200 mg/kg/ngày dịch chiết còn từ hoa); dịch chiết còn từ đài hoa và lá đều làm giảm tổng lượng CT ở liều từ 200 đến 500 mg/kg/ngày, trong khi lượng HDL- C chỉ tăng lên khi dùng dịch chiết còn từ đài hoa hoặc lá ở mức liều 500 mg/kg/ngày trong 1 tháng trên chuột cống. Hơn nữa thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên cho thấy, sự tiêu thụ trà hoặc dịch chiết *Hibiscus sabdariffa* L. làm giảm đáng kể tổng lượng CT, LDL- C và TG tốt như tăng HDL-C [45].

Nhiều tài liệu nghiên cứu dịch chiết tỏi đen có tác dụng chống oxy hóa, hạ lipid máu, chống xơ vữa mạch. Tác dụng hạ lipid máu có liên quan đến tác dụng chống oxy hóa của tỏi. Tỏi đen được xem là có lợi cho bệnh nhân rối loạn lipid máu, xơ vữa mạch khi có tác dụng chống oxy hoá tốt và tác động tích cực đến LDL và CT máu. Nghiên cứu của Ried Karin và cộng sự (năm 2013) cho thấy các phát hiện cho thấy tỏi có hiệu quả trong việc giảm cholesterol xuống còn 176 mg/dL và lipoprotein tỷ trọng thấp còn 96 mg/dL ở người có nồng độ CT cao (> 200 mg/dL), tỏi được sử dụng trong thời gian dài hơn 2 tháng. Tỏi làm giảm 8% CT trong huyết thanh và giảm 38% nguy cơ bệnh mạch vành ở 50 tuổi. Lipoprotein tỉ trọng cao mức CT cải tiến nhẹ, và triglycerides không bị ảnh hưởng đáng kể. Tỏi có thể được coi như một lựa chọn thay thế với độ an toàn cao hơn so với các thuốc làm giảm cholesterol ở những bệnh nhân có hàm lượng cholesterol hơi cao [47].

Giảo cổ lam thuộc chi *Gynostemma Blume* [30], có 5 loài nhưng đa số các nghiên cứu tập trung trên loài *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb) Makino. *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb) Makino gọi là Giảo cổ lam, Thất diệp đởm, Cổ yêm, Thư tràng 5 lá, Ngũ diệp sâm, cây Trường sinh. Nhiều tài liệu nghiên cứu dịch chiết của cây *Gynostemma pentaphyllum* cho thấy cây này có tác dụng giảm lipid

máu, ức chế và phòng tế bào phát triển thành ung thư. Dịch chiết còn có tác dụng chống lão hóa, điều hòa hệ thần kinh trung ương, chống viêm giảm đau, chống loét dạ dày, đái tháo đường, tăng huyết áp.

Chi *Hibiscus* gồm khoảng 300 loài khác nhau, búp giấm hay búp giấm (*Hibiscus sabdariffa* L.) là loài thuộc họ bông (*Malvaceae*) [30], thành phần hóa học chính trong đài hoa búp giấm bao gồm chủ yếu là các acid hữu cơ, anthocyanin, flavonoid, polysaccharide. Một số tác giả cho rằng, dịch chiết nước- ethanol của đài khô hoặc lá của búp giấm có tác dụng làm giảm nồng độ LDL, triglycerid, cholesterol và cả VLDL trong máu và tăng nồng độ của HDL. Một số hoạt động dược lý của *Hibiscus sabdariffa* bao gồm giảm hoạt động chống xơ vữa động mạch và lipid huyết thanh ở chuột và thỏ ăn cholesterol cũng như bảo vệ hồng cầu của con người chống lại quá trình peroxy hóa lipid ở những loài khác.

Béo phì là tình trạng tích tụ mỡ thừa trong cơ thể, mất cân bằng năng lượng, tăng sinh mỡ... làm tăng khối lượng mô mỡ thông qua quá trình sinh mỡ và gây nguy hiểm cho sức khỏe, là một vấn đề sức khỏe cộng đồng lớn liên quan đến việc gia tăng tỷ lệ mắc các bệnh chuyển hóa như tiểu đường loại 2, huyết áp cao, bệnh tim, bệnh gan, bệnh thận, bệnh túi mật và một số loại ung thư [1]. Nguyên nhân cơ bản của bệnh béo phì có thể kể đến là do chế độ ăn uống, rối loạn di truyền, lối sống ít vận động và các yếu tố tâm lý. Sự mất cân bằng giữa năng lượng thu vào và chi tiêu cũng gây ra sự tích tụ của các mô mỡ thừa [2]. Oyindamola Vivian Ojulari, Seul Gi Lee, Ju-Ock Nam (2019), đã nghiên cứu tác dụng có lợi của các hợp chất hoạt tính sinh học tự nhiên từ *Hibiscus sabdariffa* L. đối với bệnh béo phì. Nhóm nghiên cứu đã kiểm tra nghiêm túc tác động của chiết xuất *Hibiscus sabdariffa* trên các thông số khác nhau liên quan đến sự phát triển của bệnh béo phì như; ảnh hưởng của *Hibiscus sabdariffa* đến trọng lượng cơ thể, đến sự tích tụ lipid, chuyển hóa CT và các thông số huyết tương, tác dụng ức chế của *Hibiscus sabdariffa* đối với lipase tuyến tụy, và đối với sự biệt hóa/tạo mỡ của tế bào mỡ. Đánh giá này đã thu thập các báo cáo về các tác dụng chống béo phì khác nhau của các hợp chất hoạt tính sinh học của *H. sabdariffa* trong các mô hình tế bào và động vật, cũng như ở người [27].

Một nghiên cứu gần đây được thực hiện trên tế bào tiền tế bào mỡ 3T3-L1 cho thấy chiết xuất nước của *H.sabdariffa* và polyphenol của *H. sabdariffa* ở nồng độ 500 μ g/mL và 10 μ g/mL đã ức chế đáng kể sự biệt hóa tạo mỡ của tiền tế bào mỡ [59]. Các tác giả này kết luận rằng polyphenol chứa trong *H. sabdariffa* chủ yếu chịu trách nhiệm về ảnh hưởng của nó đối với sự hình thành mỡ. Huang TW và cộng sự [40], cũng cho thấy chiết xuất polyphenolic của *H. sabdariffa* hiệu quả hơn trong việc ngăn chặn sự hình thành mỡ so với *Hibiscus sabdariffa* như là dấu hiệu của sự biệt hóa tế bào mỡ, trong khi SREBP 1 được tìm thấy giảm theo cách phụ thuộc vào nồng độ sau khi điều trị bằng cả *Hibiscus sabdariffa*.

Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, sau khi gây vữa xơ mạch trên chuột, thuốc được cho chuột uống để đánh giá tác dụng điều trị, làm hồi phục lại tình trạng vữa xơ trên thành mạch chuột. Kết quả nghiên cứu cho thấy thuốc nghiên cứu thể hiện tác dụng làm giảm lipid máu, giảm rối loạn mỡ máu và kết quả làm giảm nhiễm mỡ gan, đặc biệt làm giảm tổn thương vữa xơ động mạch trên mô hình chuột cống gây vữa xơ động mạch bằng chế độ ăn giàu chất béo xấu (rán cháy). Tác dụng của cao khô tỏi đen được đánh giá cùng thuốc tham chiếu Atovastatin 3mg/kg/24h. Đây là thuốc thuộc nhóm statin, có tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu và chống xơ vữa mạch tốt. Kết quả nghiên cứu cho thấy viên nang liều 336 mg/kg/ngày và liều 672 mg/kg/ngày có tác dụng tốt trong điều trị xơ vữa mạch, tương đương với thuốc tham chiếu Atorvastatin 10 mg/kg/24h, hứa hẹn là một chế phẩm tốt giúp hỗ trợ điều trị rối loạn lipid máu, chống xơ vữa mạch.

KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng điều trị xơ vữa động mạch của viên nang Anmaha trên động vật thực nghiệm thu được kết quả như sau:

1. Về độc tính cấp

Chưa tìm thấy LD₅₀ của viên nang Anmaha theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống là 12.000 mg/kg thể trọng, mà không gây chết chuột nào, không có biểu hiện nào của độc tính cấp.

2. Về tác dụng điều trị xơ vữa động mạch trên chuột cống trắng

Trên mô hình gây xơ vữa mạch bằng chế độ ăn nhiều mỡ chấy ở chuột cống trắng, viên nang liều 336 mg/kg/ngày và liều 672 mg/kg, cho uống trong 28 ngày bắt đầu từ khi kết thúc 8 tuần ăn béo gây xơ vữa, có tác dụng tốt điều trị xơ vữa mạch, tương đương với thuốc tham chiếu Atorvastatin liều 10 mg/kg cân nặng:

- Làm giảm các chỉ số xét nghiệm lipid trong máu, gồm: hàm lượng TG, cholesterol toàn phần, LDL-Cholesterol, VLDL-Cholesterol, chỉ số xơ vữa mạch (chỉ số Atherogenic index – A.I).
- Làm tăng HDL-Cholesterol trong máu.
- Làm giảm tình trạng gan nhiễm mỡ.
- Làm giảm hình ảnh tổn thương xơ vữa mạch động mạch chủ bụng chuột nghiên cứu. Hình ảnh vi thể nhuộm HE động mạch chủ bụng của các lô dùng thuốc không khác biệt nhiều so với của lô chứng sinh lý.

KIẾN NGHỊ

Sau khi thực hiện xong đề tài, nhóm nghiên cứu có một số kiến nghị như sau:

- Tiếp tục nghiên cứu đánh giá về độc tính bán trường diễn, tác dụng và cơ chế tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu, chống xơ vữa mạch... của viên nang Anmaha trên động vật thực nghiệm.
- Tiến hành nghiên cứu đánh giá tính an toàn và tác dụng của viên nang Anmaha trên lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Hội Tim mạch Việt Nam** (2010). *Khuyến cáo 2010 về các bệnh lý tim mạch và chuyển hóa*, Nhà xuất bản Y học.
2. **Pahwa R, Jialal I.** (2021). *Atherosclerosis*. Stat Pearls Publishing.
3. **Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, et al** (2017). Heart disease and stroke statistics. *The American Heart Association*, 135:1–459.
4. **White J, Swedlow DI, Preiss D, et al** (2016). Association of lipid fractions at risk for coronary artery disease and diabetes. *JAMA Cardiol.* 1(6): 692-699.
5. **Nguyễn Trọng Thông** (2011). *Thuốc điều trị rối loạn lipoprotein máu*, Dược lý học, tập 2, Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam, tr.176-185.
6. **Trần Thu Hương và các cộng sự** (2018). Nghiên cứu quy trình chiết xuất phân đoạn giàu hợp chất polyphenol từ loài Hibiscus sabdariffa L.(Malvaceae) ứng dụng để chế tạo thực phẩm chức năng. *Đề tài nghiên cứu khoa học*, Hội Hóa học Việt Nam.
7. **Eun-Soo Jung M.S** (2014). Reduction of blood lipid parameters by a 12-wk supplementation of aged black garlic: A randomized controlled trial. *Nutrition*, Vol. 30(9), p.1034-9.
8. **Gauhar Rehman, Hwang Seung-Lark, Jeong Si-Sung, et al.** (2012), "Heat-processed Gynostemma pentaphyllum extract improves obesity in ob/ob mice by activating AMP-activated protein kinase", *Biotechnology letters*, 34(9), pp. 1607-1616).
9. **Nguyễn Văn Long, Hoàng Văn Lương, Phạm Văn Vượng, Nguyễn Hoàng Ngân, Nguyễn Duy Thức** (2009). Nghiên cứu tác dụng hạ lipid máu của tỏi thu hái tại đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi trên thực nghiệm. *Đề tài nghiên cứu khoa học*, Học viện Quân y.
10. **Trần Quốc Bảo** (2012). Xơ vữa động mạch. *Bài giảng Nội khoa Y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Quân đội nhân dân, tr.136 - 148.
11. **ESC/EAS Guidelines** (2011), ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias, *European Heart Journal*, (32): 1769-1818.
12. **Dichgans M, Pulit SL, Rosand J** (2019). Stroke genetics: discovery, biology, and clinical applications. *Lancet Neurol*, (6): 587-599.

13. **Szterk A., Zmyslowski A.** (2017). Current knowledge on the mechanism of atherosclerosis and pro-atherosclerotic properties of oxysterols. *Lipids in Health and Disease*, vol. 16, pp. 188.
14. **Goff DC Jr, Lloyd-Jones DM, Bennett G, et al** (2013). ACC/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*, 129: S49-S73, 2014.
15. **Perez-Martinez P, Katsiki N, Mikhailidis DP** (2020). The Role of n-3 Fatty Acids in Cardiovascular Disease: Back to the Future. *Angiology*, 71(1):10-16.
16. **Esper RJ, Nordaby RA** (2019). Cardiovascular events, diabetes and guidelines: the virtue of simplicity. *Cardiovasc Diabetol*, 18(1):42.
17. **Stone NJ, Robinson J, Lichtenstein AH, et al** (2014). ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 63:2899–2934.
18. **Bộ Y tế** (2015). *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh nội tiết, chuyển hóa*, Nhà xuất bản Y học Hà Nội, tr.208-219, 255-265.
19. **Trường Đại học Y Hà Nội - Khoa y học cổ truyền** (2012). Xơ vữa động mạch. *Bệnh học nội khoa y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học.
20. **Lương y Nguyễn Thiên Quyển** (1998). *Chẩn đoán phân biệt chứng hậu trong Đông y*, Nhà xuất bản Mũi Cà Mau, Hội Y học cổ truyền Hà Nội, tr, 201-215.
21. **Hoàng Bảo Châu** (1997), *Đàm thấp*, Nội khoa Y học cổ truyền, Nhà xuất bản Y học, tr.326-343.
22. **Tuệ Tĩnh** (1999), “*Đàm ẩm*”, Tuệ Tĩnh toàn tập, Nhà xuất bản Y học.
23. **Lê Thị Minh Phương** (2019). Nghiên cứu tác dụng chống oxy hóa và xơ vữa động mạch của viên nang mềm “Ích trí vương” trên thực nghiệm và lâm sàng. *Luận án tiến sĩ*, Bệnh viện Y học cổ truyền Quân đội.
24. **Vũ Thị Thuận** (2012). Nghiên cứu tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu và giảm xơ vữa mạch máu của bài thuốc BBT trên thực nghiệm. *Luận văn bác sĩ chuyên khoa cấp II*, Trường Đại học Y Hà Nội.

25. **Nguyễn Thị Thúy, Phạm Thị Vân Anh, Nguyễn Duy Như** (2015). Giảm chỉ tiêu khát linh điều trị rối loạn lipid máu trên động vật đái tháo đường tít 2 thực nghiệm. *Tạp chí Dược học*, 473, tr.48- 52.
 26. **Phạm Thanh Tùng, Trương Việt Bình, Nguyễn Trọng Thông, Phạm Thị Vân Anh** (2017). Nghiên cứu tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu của viên nang Vinatan trên mô hình gây rối loạn lipid máu ngoại sinh. *Tạp chí Dược học*, 489, tr.42-44.
 27. **Oyindamola Vivian Ojulari, Seul Gi Lee, Ju-Ock Nam**. (2019). Beneficial Effects of Natural Bioactive Compounds from Hibiscus sabdariffa L. on Obesity. *Molecules*, 24(1), 210.
 28. **Zhong XN, Wang HH, Hu XQ et al**. (2013). Effects of Naoxintong on atherosclerosis and inducible nitric oxide synthase expression in atherosclerotic rabbit". *Chin Med J (Engl)*, 126(6), pp. 1166 – 1170.
 29. **Fu WJ, Lei T, Nie H et al** (2017). Anti-atherosclerosis and cardio-protective effects of the Angong Niu Huang Pill on a high fat and vitamin D3 induced rodent model of atherosclerosis. *Journal of Ethnopharmacology*, 195(4), pp. 118-126.
 30. **Võ Văn Chi** (2021). *Từ điển Cây thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học. tr.265-266, 991-992, 1032-1033.
 31. **Borlinghaus, J., Albrecht, F., Gruhlke, M. C., Nwachukwu, I. D., & Slusarenko, A. J.** (2014). Allicin: chemistry and biological properties. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 19(8), 12591–12618.
 32. **Dana Wang, Yonghui Feng, Jun Liu** (2010). Black garlic (*Allium sativum*) extracts enhance the Immune system. *Medicinal and Aromatic plant science and Biotechnology*, 4(1), pp.37-40.
 33. **Y.Y. Jeong, J.H. Ryu, J.H. Shin, M.J. Kang, J.R. Kang, J. Han, D. Kang** (2016). Comparison of anti-oxidant and anti-inflammatory effects between fresh and aged black garlic extracts. *Molecules*, pp. 43.
 34. **S. Choi, H.S. Cha, Y.S. Lee** (2014). Physicochemical and antioxidant properties of black garlic. *Molecules*, pp. 16811-16823.
 35. **Trịnh Nam Trung và cộng sự** (2015). Nghiên cứu đánh giá tác dụng ức chế một số dòng tế bào ung thư trên thực nghiệm và bào chế viên nang tối đen. *Đề tài nghiên cứu khoa học*, Học viện Quân y.
-

36. **Phạm Xuân Sinh** (2018). *Dược học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học.
37. **Đỗ Tất Lợi** (2019). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học.
38. **Bộ Y tế** (2018). *Dược điển Việt Nam*, lần xuất bản thứ năm, Nhà xuất bản Y học.
39. **Bộ môn Dược lý** (2013). *Dược lý học*, Trường Đại học Y Hà Nội, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
40. **Huang TW, Chang CL, Kao ES, Lin JH** (2015). Effect of hibiscus sabdariffa flower extract on high-fat diet-induced obesity and liver injury in hamsters. *Thực phẩm Nutr. Res*, pp.29018.
41. **Lê Tiến Dũng và cộng sự** (2020). Nghiên cứu sản xuất các sản phẩm hỗ trợ điều trị tăng huyết áp và rối loạn mỡ máu từ đài hoa cây Bụp giấm (*Hibiscus sabdariffa*) trồng tại Đắk Lắk, *Đề tài nghiên cứu khoa học*, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam.
42. **Đặng Thị Yên, Đặng Quốc Tiến** (2018). Nghiên cứu quy trình sản xuất trà búp giấm hòa tan, *Đề tài nghiên cứu khoa học*, Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM
43. **Riaz G., Chopra R** (2018). A review of the phytochemical and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L. *Biomed. Other pharmaceuticals*, 102: 575–586.
44. **Perez-Torres I., Ruiz-Ramirez A., Banos G., El-Hafidi M** (2013). *Hibiscus sabdariffa* Linnaeus (Malvaceae), curcumin and resveratrol as alternative agents against metabolic syndrome. *Cardiovasc Hemolysis Agent Med*, 11: 25–37.
45. **Hopkins et al** (2013). *Hibiscus sabdariffa* L. in the treatment of hypertension and hyperlipidemia: A comprehensive review of animal and human studies. *Fitoterapia*, pp.84–94.
46. **Phạm Tuấn Anh, Phạm Thanh Kỳ, Trịnh Thị Diệp Thanh** (2014). Định lượng saponin toàn phần trong Giảo cổ lam *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino trồng ở 3 vùng bằng phương pháp đo quang. *Tạp chí Dược học*. 454, tr.52-56.
47. **Ried, Karin & Toben, Catherine & Fakler, Peter.** (2013). Effect of garlic on serum lipids: An updated meta-analysis. *Nutrition reviews*, 71.pp.282-299. 10.1111/nure.12012.
48. **Phạm Thanh Tùng** (2019). Nghiên cứu tính an toàn và tác dụng của viên nang cứng Vinatan trong điều trị hội chứng rối loạn lipid máu trên thực nghiệm và lâm sàng. *Luận văn Tiến sĩ*, Trường HVYDCT Việt Nam.

49. **Yurina V, Yunita EP, Raras TYM et al.** (2019). Prolonged-Heated High-Fat Diet Increase the Serum LDL Cholesterol Level and Induce the Early Atherosclerotic Plaque Development in Wistar Rats. *Journal of Tropical Life Science* 9 (1): 9 – 14.
50. **Đỗ Trung Đàm** (2014), “*Phương pháp Litchfield – Wilcoxon*”, *Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc*. Nhà xuất bản Y học, tr.101-112.
51. **Phạm Tử Dương Nguyễn Thế Khánh** (2005). *Xét nghiệm sử dụng trong lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học, tr 40, 101, 108, 118 - 140.
52. **Dazhuo Shi, Keji Chen Hao Xu** (2012). Atherosclerosis: An Integrative East-West Medicine Perspective. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Volume 2012, Article ID 148413, 4.
53. **Orisakwe et al** (2004). Testicular effects of sub-chronic administration of Hibiscus sabdariffa calyx aqueous extract in rats. *Reprod. Toxicol.* 18: 295-298.
54. **Mensah, G. A., Wei, G. S., Sorlie, P. D., Fine, L. J., Rosenberg, Y., Kaufmann, P. G., Mussolino, M. E., Hsu, L. L., Addou, E., Engelgau, M. M., & Gordon, D.** (2017). Decline in Cardiovascular Mortality: Possible Causes and Implications. *Circulation research*, 120(2), 366–380.
55. **Peter Libby** (2010). The pathogenesis, Prevention and Treatment of Atherosclerosis. *Harrison’s Cardiovascular Medicine, McGraw-Hill – Medical Publishing Division*, pp. 322 - 420.
56. **Bộ Y Tế** (2012). Thông tư Hướng dẫn về thử thuốc trên lâm sàng (03/2012/TT-BYT).
57. **World Health Organization**. 2000. Working group on the safety and efficacy of herbal medicine. Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization.
58. **Adedapo A.A. Abatan M. Olorunsogo O** (2004). Toxic effects of some plants in the genus Euphorbiceae on haematological and biochemical parameters of rats. *Vet. Arh.* 74: 53-62.
59. **Reanmongkol W. Itharat A.** Antipyretic activity of the extracts of Hibiscus sabdariffa calyces L. in experimental animals. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 2007; 29: 29-38.

- 60. Akindahunsi A.A. Olaleye M.T** (2003). Toxicological investigation of aqueous-methanolic extract of the calyces of *Hibiscus sabdariffa* L. *J. Ethnopharmacol.* 89: 161-164.
- 61. Sireeratawong S. Itharat A. Khonsung P. Lertprasertsuke N. Jaijoy K.** (2013). Toxicity studies of the water extract from the calyces of *Hibiscus sabdariffa*. In rats. *Afr. J. Tradit., Complementary Altern. Med*; 10 122-127.
- 62. Vũ Bình Dương, Nguyễn Văn Long** (2015). Nghiên cứu tính an toàn của dịch chiết tối đen lý sơn trên thực nghiệm. *Đề tài nghiên cứu khoa học*, Học viện Quân y 103.
- 63. Hà Thị Nga, Nguyễn Hoàng Ngân, Trần Quốc Bảo** (2017). Đánh giá kết quả nghiên cứu độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của dịch chiết bài thuốc TB15 trên động vật thực nghiệm. *Tạp chí Y Dược học quân sự*, 3-2017.
- 64. Trần Quốc Bảo, Vũ Huy Hải** (2015), Nghiên cứu tính an toàn của bài thuốc DQXH – 08 trên động vật thực nghiệm. *Đề tài nghiên cứu khoa học*, Học viện Quân y 103.

PHỤ LỤC 1
QUY TRÌNH SẢN XUẤT VIÊN NANG ANMAHA

1. Đặc điểm máy móc và trang thiết bị

Tên máy, dụng cụ	Quy cách	Nội dung sử dụng	SL
Cân đĩa	200g	Cân kiểm tra trọng lượng túi	1 cái
Cân đồng hồ	100 kg	Cân bột, cân dược liệu	1 cái
Đèn tử ngoại	TQ	Tiệt khuẩn phòng	6 cái
Hệ thống chiết xuất, cô cao	TQ	Nấu chiết dược liệu, cô cao	1 bộ
Khay inox	Các cỡ	Sấy dược liệu, sấy cao	20 cái
Máy rửa	TQ	Rửa dược liệu	1 cái
Máy xay	TQ	Xay cao	1 cái
Máy xát hạt	TQ	Làm cốm	1 cái
Máy đóng nang	TQ	Đóng gói	1 cái
Máy điều hòa	Nhật	Điều hòa phòng	2 cái
Máy hút ẩm	Nhật	Lọc không khí phòng	2 cái
Rây các cỡ		Rây bột	3 cái
Rổ nhựa	Các loại	Rửa dược liệu, đựng thuốc	3 cái
Tủ sấy	TQ, VN	Sấy dược liệu	2 cái

2. Công thức điều chế cho 1 viên nang 450mg

Bột cao khô tỏi đen	120mg
Bột cao khô búp giấm	100mg
Bột cao khô giảo cổ lam	90mg
Bột cao khô trạch tả	90mg
Tá dược (Tinh bột ngô, Natri starch glycolat, Magnesi stearat, aerosil, Lactose)	Vừa đủ 1 viên (450mg)

- **Tính chất:** Viên nang cứng, bên trong chứa 400mg bột cao khô dược liệu, tương ứng với 450mg.

- **Tiêu chuẩn:** Viên nang Anmaha do khoa Dược - Học viện Quân y 103 cung cấp đạt tiêu chuẩn TCCS.

PHỤ LỤC 2

CÁC VỊ THUỐC TRONG VIÊN NANG ANMAHA

1. Tỏi đen

- Tỏi có tên khoa học là *Allium sativum* L., họ hành *Alliaceae*.
- Tính vị, công năng: Tỏi có vị cay, tính ôn, quy kinh tỳ, phế, vị.
- Theo một số nghiên cứu, tỏi thường có chứa 62,8% nước; 6,3% protein; 0,1% chất béo; 29,0% hydrat cacbon. Ngoài ra còn có một vài nguyên tố vi lượng như Ca, Fe, P, vitamin... Thành phần quan trọng có tác dụng sinh học trong tỏi là allicin. Tuy nhiên allicin không có sẵn trong tỏi mà được sinh ra từ alliin dưới tác dụng của enzym alliinase có sẵn trong tỏi.

- Tỏi đen là tỏi đã lên men, có tên tiếng Anh là Black garlic hoặc Fermented garlic.



- Tỏi được chứng minh có tác dụng tốt trong hạ lipid máu, giảm vữa xơ mạch, ức chế tăng cholesterol và triglyceride, chống oxy hóa của tỏi lên men tăng gấp 25 lần so với tỏi tươi. Tác dụng của tỏi đen thể hiện rõ nhất trong tác dụng chống oxy hóa, một cơ chế quan trọng trong phòng chống vữa xơ mạch và nhiều bệnh lý khác. Ngoài ra tỏi đen còn nhiều tác dụng quý khác như kháng lại các tế bào khối u tăng cường miễn dịch.

2. Bụp giấm

- Tên khoa học: *Hibiscus sabdariffa* L. thuộc họ Bông *Malvaceae*.
- Tên thường gọi: Actiso đỏ, bụp giấm, bụp giấm...



- Thành phần hóa học: Thành phần hóa học chính trong đài hoa bụp giấm bao gồm chủ yếu là các acid hữu cơ, anthocyanin, flavonoid, polysaccharide.
- Tính vị, công năng: Bụp giấm có vị chua, tính mát, có tác dụng thanh nhiệt, giải khát, liễm phế, chỉ khái.
- Tác dụng dược lý: Dịch chiết nước- ethanol của đài khô hoặc lá của bụp giấm có tác dụng làm giảm nồng độ LDL, triglycerid, cholesterol và cả VLDL trong máu và tăng nồng độ của HDL. Do đó, làm giảm nguy cơ mắc các bệnh tim mạch như bệnh mạch vành, xơ vữa động mạch. Cơ chế giảm LDL có thể là do sự ức chế tổng hợp triacylglycerol, do đó giảm nồng độ LDL. Ngoài ra bụp giấm còn có nhiều tác dụng khác như chống co thắt cơ trơn, tác dụng kháng khuẩn, tác dụng chống viêm, chống oxy hóa, lợi tiểu, hạ huyết áp, chống ung thư, hạ đường huyết...

3. Giảo cổ lam

- Tên khoa học: *Gynostemma pentaphyllum*, họ Bầu bí *Cucurbitaceae*.
- Tên khác: Cổ yêm, trường sinh thảo, thất diệp đảm, ngũ diệp sâm.
- Thành phần hóa học: Thành phần hóa học chính là flavonoid và saponin. Số saponin của giảo cổ lam nhiều gấp 3- 4 lần so với nhân sâm. Trong đó, một số có cấu trúc hoá học giống như cấu trúc có trong nhân sâm (ginsenosid). Ngoài ra giảo cổ lam còn chứa các vitamin và các chất khoáng như selen, kẽm, sắt, mangan, phospho...

- Tác dụng dược lý: Giảo cổ lam có nhiều tác dụng tốt đối với hệ tim mạch, làm hạ lipid máu, hạ glucose máu, tăng lưu lượng vành, giảm áp lực máu, làm giảm nhịp tim, làm tăng độ bền mạch ngoại vi, động mạch não và động mạch vành. Những thành phần mang lại hoạt tính này được báo cáo là gynosaponin E, G, K, progypenosid A2, I, J, M, N và O. Ngoài ra giảo cổ lam có nhiều tác dụng khác như tăng cường miễn dịch, chống oxy hóa, an thần, giảm đau...

4. Trạch tả

- Tên khác: Mã đề nước.
- Tên khoa học: *Alisma plantago-aquatica* L., họ Trạch tả *Alismataceae*.
- Thành phần hóa học:
- Trạch tả chứa các Alisol A, alisol B, alisol A monacetate, 23- acetat alisol B, alisol B monacetate, epialisol A asparagine, choline, tinh dầu, alcaloit, vitamin B12, kali có hàm lượng 147,5 mg %.
- Tính vị công năng: Trạch tả có vị ngọt, tính hàn, vào 2 kinh thận và bàng quang, có tác dụng lợi thủy, thẩm thấp, thanh nhiệt.
- Tác dụng dược lý: Trạch tả có tác dụng lợi tiểu thải natri, kali, clo và thải ure, hạ cholesterol, beta-lipoprotein và triglycerid trong máu. Ngoài ra trạch tả còn thể hiện một số tác dụng khác như chống viêm, hạ huyết áp.

PHỤ LỤC 3
NHẬT KÝ NGHIÊN CỨU THỰC NGHIỆM
của học viên Nguyễn Thị Thu Hương

- Học viên: Nguyễn Thị Thu Hương
- Chuyên ngành: Y học cổ truyền
- Lớp Cao học 12 (2019-2021), Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam.
- Thầy hướng dẫn: PGS.TS.Nguyễn Hoàng Ngân

TS.Trần Anh Tuấn

- Đề tài: Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng điều trị xơ vữa động mạch của viên nang Anmaha trên động vật thực nghiệm.
- Địa điểm tiến hành nghiên cứu: Bộ môn Dược lý - Học viện Quân y.
- Thời gian nghiên cứu: 06/2021 - 09/2021.
- Xử lý số liệu, viết luận văn: 09/2021 - 02/2022.

***Các nội dung nghiên cứu:**

1. Đánh giá độc tính cấp của viên nang Anmaha trên chuột nhắt trắng: 01/06/2021 - 18/06/2021.
2. Đánh giá tác dụng tác dụng điều trị xơ vữa động mạch của viên nang trên chuột cống trắng: 21/06/2021 – 21/09/2021.

- Từ 21/09/2021 - 28/10/2021: Tiến hành thu thập và xử lý số liệu.
- Từ 10/2021 - 02/2022: Tiến hành kiểm tra và hoàn thiện luận văn.

1. Nghiên cứu độc tính cấp của viên nang Anmaha trên chuột nhắt trắng

+ 01/06/2021 – 08/06/2021: Nuôi dưỡng chuột thí nghiệm trong phòng nuôi động vật thí nghiệm một tuần trước khi tiến hành thí nghiệm.

+ 08/06/2021: Cân chuột. Chia lô, đánh dấu. Cho chuột nhịn ăn 12h qua đêm.

+ 09/06/2021: Cho chuột uống thuốc với thể tích 0,2ml/10g thể trọng/lần nhưng với các liều tăng dần (1500 mg/kg; 3000 mg/kg; 4500 mg/kg; 6000 mg/kg; 7500 mg/kg; 9000 mg/kg; 10500 mg/kg; 12000 mg/kg thể trọng), 3 lần/ 24 giờ, mỗi lần uống cách nhau 3 giờ.

+ 09/06/2021 - 12/06/2021: Theo dõi tình trạng chung (hoạt động, vận động; lông; đồng tử mắt; hô hấp; ăn uống; bài tiết; bất thường khác) và số lượng chuột chết ở mỗi lô trong 72 giờ.

+ 12/06/2021 - 16/06/2021: Tiếp tục theo dõi tình trạng chung của chuột đến hết ngày thứ 07 sau khi uống thuốc thử lần đầu.

2. Nghiên cứu tác dụng điều trị xơ vữa động mạch của viên nang trên chuột cống trắng

+ 21/06/2021 - 28/06/2021: Nuôi dưỡng chuột thí nghiệm trong phòng nuôi động vật thí nghiệm một tuần trước khi tiến hành thí nghiệm.

+ 28/06/2021: Cân chuột. Chia lô, đánh dấu. Lô 1 (chứng sinh lý): không gây xơ vữa mạch, uống nước cất. Lô 2 (chứng bệnh lý): gây xơ vữa mạch + uống nước cất. Lô 3 (tham chiếu): gây xơ vữa mạch + uống Atovastatin 10 mg/kg/24h. Lô 4 (lô trị 1): gây xơ vữa mạch + uống Anmaha liều 336 mg/kg/24h. Lô 5 (lô trị 2): gây xơ vữa mạch + uống Anmaha liều 672 mg/kg/24h

+ 28/06/2021 - 23/08/2021: Chuột cống trắng được cho ăn thức ăn nhiều mỡ cháy trong thời gian 8 tuần.

+ 23/08/2021: Lấy máu thời điểm T0 xét nghiệm các chỉ số lipid máu: TG, TC, HDL-C, LDL-C.

+ 24/08/2021 - 21/09/2021: Cho chuột uống thuốc nghiên cứu (Anmaha), thuốc tham chiếu (Atovastatin) hoặc nước cất theo phân lô.

+ 07/09/2021: Lấy máu thời điểm T14 xét nghiệm các chỉ số lipid máu: TG, TC, HDL - C, LDL - C.

+ 21/09/2021: Lấy máu thời điểm T14 xét nghiệm các chỉ số lipid máu: TG, TC, HDL-C, LDL - C.

Mổ chuột lấy gan đánh giá đại thể và làm tiêu bản vi thể nhuộm HE. Lấy động mạch chủ động làm tiêu bản vi thể nhuộm HE.

PHỤ LỤC 4

Hình ảnh thuốc Anmaha sử dụng trong nghiên cứu



