

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y - DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



HOÀNG TRỌNG TUẤN

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP, ĐỘC
TÍNH BÁN TRƯỜNG DIỄN VÀ TÁC
DỤNG CHỐNG SAY NẮNG, SAY NÓNG
CỦA CHẾ PHẨM THANH NHIỆT TRÊN
ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

HÀ NỘI, NĂM 2022

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y - DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



HOÀNG TRỌNG TUẤN

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP, ĐỘC
TÍNH BÁN TRƯỜNG DIỄN VÀ TÁC
DỤNG CHỐNG SAY NẮNG, SAY NÓNG
CỦA CHẾ PHẨM THANH NHIỆT TRÊN
ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

Chuyên ngành: Y học cổ truyền

Mã số: 8720115

Người hướng dẫn khoa học:

- 1. PGS.TS. Nguyễn Hoàng Ngân**
- 2. PGS.TS. Nguyễn Duy Thuận**

HÀ NỘI, NĂM 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 tới 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, cùng toàn thể thầy cô giảng viên Học viện Y – Dược học cổ truyền Việt Nam đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới PGS.TS. Nguyễn Hoàng Ngân và PGS.TS. Nguyễn Duy Thuận 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 chân thành cảm ơn quý thầy cô trong Hội đồng chấm đề cương, Hội đồng chấm luận văn và các nhà khoa học, đồng nghiệp đã đóng góp những ý kiến, kinh nghiệm quý báu để luận văn này hoàn thiện hơn.

Tôi xin chân thành cảm ơn lãnh đạo: Bộ môn Ung bướu, phòng Khoa học công nghệ và Hợp tác quốc tế cùng toàn thể thầy cô, các anh chị em trong Bộ môn, Phòng đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi hoàn thành khóa học.

Cuối cùng tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành nhất tới gia đình, những người thân yêu và đặc biệt là vợ tôi đã luôn bên cạnh động viên tôi từ những lúc khó khăn nhất, đã dành cho tôi những điều kiện tốt nhất, giúp tôi yên tâm học tập và hoàn thành luận văn này.

Tôi xin trân trọng cảm ơn!

Tác giả luận văn

Hoàng Trọng Tuấn

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Hoàng Trọng Tuấn, học viên cao học khóa 13 tại 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 PGS.TS. Nguyễn Duy Thuận.

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..... năm 2022

Tác giả

Hoàng Trọng Tuấn

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Tổng quan về say nóng	3
1.1.1. Một số rối loạn bệnh lý có thể gặp do tác động của nắng nóng ...	3
1.1.2. Những biện pháp phòng, cấp cứu và điều trị say nóng	4
1.2. Tổng quan Y học cổ truyền về trúng thử	6
1.2.1. Khái niệm về thử	6
1.2.2. Đặc tính của thử	7
1.2.3. Trúng thử	7
1.3. Tình hình nghiên cứu chống say nóng bằng y học cổ truyền trên thế giới và trong nước	11
1.3.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới	11
1.3.2. Tình hình nghiên cứu trong nước	13
1.4. Tổng quan về các phương pháp nghiên cứu độc tính và ý nghĩa về việc nghiên cứu tính an toàn của thuốc y học cổ truyền	13
1.4.1. Thuốc y học cổ truyền và nguyên nhân tiến hành thử độc tính ...	13
1.4.2. Các phương pháp thử nghiệm độc tính cấp	14
1.4.3. Các phương pháp thử nghiệm độc tính bán trường diễn	16
1.5. Tổng quan về các phương pháp nghiên cứu tạo gánh nặng nhiệt	18
1.5.1. Mô hình nghiên cứu trên thỏ	18
1.5.2. Mô hình nghiên cứu trên chuột	19
1.6. Tổng quan về cao khô Thanh nhiệt	19
1.6.1. Nguồn gốc xuất xứ và công thức của cao khô Thanh nhiệt	19
1.6.2. Tổng quan các vị thuốc trong cao khô Thanh nhiệt	20
Chương 2. CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	28

2.1. Chất liệu và phương tiện nghiên cứu	28
2.1.1. Chất liệu nghiên cứu	28
2.1.2. Phương tiện nghiên cứu	29
2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu	29
2.2.1. Địa điểm nghiên cứu	29
2.2.2. Thời gian nghiên cứu	29
2.3. Động vật nghiên cứu	29
2.4. Phương pháp nghiên cứu	30
2.4.1. Đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn	30
2.4.2. Đánh giá tác dụng tăng khả năng chịu đựng với gánh nặng nhiệt của cao khô Thanh nhiệt trên mô hình thực nghiệm	31
2.5. Sơ đồ nghiên cứu	34
2.6. Xử lý và phân tích số liệu	35
2.7. Đạo đức trong nghiên cứu	35
2.8. Sai số và không chế sai số	35
Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	36
3.1. Kết quả đánh giá độc tính cấp, bán trường diễn của cao khô Thanh nhiệt trên thực nghiệm	36
3.1.1. Kết quả đánh giá độc tính cấp	36
3.1.2. Kết quả đánh giá độc tính bán trường diễn	36
3.2. Đánh giá tác dụng tăng khả năng chịu đựng với gánh nặng nhiệt của cao khô Thanh nhiệt trên mô hình thực nghiệm	49
3.2.1. Kết quả theo dõi biến đổi thân nhiệt, huyết áp và tần số mạch của chuột khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt	49
3.2.2. Kết quả biến đổi một số chỉ số huyết học khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt	51

3.2.3. Kết quả biến đổi một số chỉ số hóa sinh đánh giá chức năng gan, thận sau gánh nặng nhiệt	53
3.2.4. Kết quả thời gian sống trung bình của chuột khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt	55
Chương 4. BÀN LUẬN	56
4.1. Về độc tính cấp và bán trường diễn của cao khô Thanh nhiệt	56
4.2. Về tác dụng tăng khả năng chịu đựng với gánh nặng nhiệt của cao khô Thanh nhiệt trên mô hình thực nghiệm	62
KẾT LUẬN	71
KIẾN NGHỊ	72
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
Phụ lục	

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Viết tắt	Tiếng việt	Tiếng Anh
ALT		Alanine aminotransferase
AST		Aspartate aminotransferase
ĐVTN	Động vật thí nghiệm	
ICH	Hội nghị quốc tế về hài hòa hóa các thủ tục đăng ký dược phẩm sử dụng cho con người	International Conference on Harmonization
MAO		Enzym monoaminoxidase
OECD	Tổ chức Hợp tác và Phát triển kinh tế	Organization for Economic Cooperation and Development
VKH	Vi khí hậu	
YHCT	Y học cổ truyền	
YHĐ	Y học hiện đại	
WHO	Tổ chức y tế thế giới	World Health Organization

DANH MỤC BẢNG BIỂU

Bảng 2.1: Thành phần bài thuốc Thanh nhiệt	28
Bảng 2.2: Động vật nghiên cứu	29
Bảng 3.1: Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt đến thể trọng chuột (n=10)	37
Bảng 3.2: Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt lên số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột (n = 10, $\bar{x} \pm SD$)	38
Bảng 3.3: Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt lên hematocrit và thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột (n = 10, $\bar{x} \pm SD$)	39
Bảng 3.4: Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt lên số lượng bạch cầu và tiểu cầu trong máu chuột (n = 10, $\bar{x} \pm SD$)	40
Bảng 3.5: Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt đối với hoạt độ AST và ALT (n = 10, $\bar{x} \pm SD$)	41
Bảng 3.6: Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt lên các chỉ số albumin và bilirubin toàn phần trong máu (n = 10, $\bar{x} \pm SD$)	42
Bảng 3.7: Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt lên cholesterol toàn phần trong máu (n = 10, $\bar{x} \pm SD$)	43
Bảng 3.8: Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt lên hàm lượng creatinin máu chuột (n = 10, $\bar{x} \pm SD$)	44
Bảng 3.9: Nhiệt độ trung tâm của chuột tại các thời điểm thí nghiệm khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt	49
Bảng 3.10: Tần số tim của chuột tại một số thời điểm thí nghiệm khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt	50
Bảng 3.11: Huyết áp động mạch của chuột tại một số thời điểm thí nghiệm khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt	50

Bảng 3.12: Biến đổi một số chỉ số hồng cầu của chuột sau tác động của gánh nặng nhiệt	51
Bảng 3.13: Biến đổi một số chỉ số bạch cầu của chuột sau tác động của gánh nặng nhiệt	52
Bảng 3.14: Biến đổi một số chỉ số hóa sinh đánh giá chức năng gan sau tác động của gánh nặng nhiệt	53
Bảng 3.15: Biến đổi chỉ số creatinin ở chuột sau gánh nặng nhiệt	54
Bảng 3.16: Thời gian sống trung bình của chuột dưới tác động của gánh nặng nhiệt (n = 10, $\bar{x} \pm SD$)	55

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Ảnh 1.1: Nhân sâm (<i>Radix Ginseng</i>)	20
Ảnh 1.2: Mạch môn (<i>Radix Ophiopogonis japonici</i>)	22
Ảnh 1.3: Ngũ vị tử (<i>Fructus Schisandrae chinensis</i>)	24
Ảnh 1.4: Cát căn (<i>Radix Puerariae Thomsonii</i>)	25
Ảnh 1.5: Cam thảo (<i>Radix et Rhizoma Glycyrrhizae</i>)	26
Ảnh 3.1: Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột lô chứng	45
Ảnh 3.2: Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột lô trị 1	45
Ảnh 3.3: Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột lô trị 2	45
Ảnh 3.4: Hình ảnh vi thể gan chuột lô chứng. HE, x 400	46
Ảnh 3.5: Hình ảnh vi thể gan chuột lô trị 1. HE, x 400	46
Ảnh 3.6: Hình ảnh vi thể gan chuột lô trị 2. HE, x 400	46
Ảnh 3.7: Hình ảnh vi thể lách chuột lô chứng. HE, x 400	47
Ảnh 3.8: Hình ảnh vi thể lách chuột lô trị 1. HE, x 400	47
Ảnh 3.9: Hình ảnh vi thể lách chuột lô trị 2. HE, x 400	47
Ảnh 3.10: Hình ảnh vi thể thận chuột lô chứng. HE, x 400	48
Ảnh 3.11: Hình ảnh vi thể thận chuột lô trị 1. HE, x 400	48
Ảnh 3.12: Hình ảnh vi thể thận chuột lô trị 2. HE, x 400	48

ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo Tổ chức Y tế thế giới (WHO), tình trạng khí hậu cực đoan do biến đổi khí hậu ảnh hưởng rất lớn tới sức khỏe của cộng đồng, đã cướp đi mạng sống của 300.000 người mỗi năm và ảnh hưởng đến cuộc sống của 300 triệu người trên trái đất, trong đó có tác động không nhỏ từ các đợt nắng nóng (WHO, 2003) [1]. Tại châu Âu làn sóng nhiệt năm 2003 khiến 70.000 ca tử vong, trong đó 28,9 % do say nắng, tăng thân nhiệt hoặc mất nước [2].

Việt Nam thuộc vùng có khí hậu nhiệt đới gió mùa, khí hậu nóng ẩm, hàng năm có tới gần 300 ngày nhiệt độ trung bình trên 20°C và độ ẩm không khí trên 80%, chế độ mưa phong phú và lượng bức xạ nhiệt khá cao. Ở khu vực miền Bắc, năng lượng bức xạ tổng cộng thu được lên đến 130 – 135 kcal/cm²/năm [3], [4]. Hiện nay, nhiều lao động phải làm việc trong điều kiện khắc nghiệt của môi trường. Như vậy tổn thương do nhiệt có ảnh hưởng không nhỏ tới sức khỏe và hoạt động của bộ đội nói riêng và người lao động nói chung. Tình trạng này cần có những biện pháp khắc phục.

Các biện pháp dự phòng say nắng hiện tại đó là không làm việc quá lâu ngoài trời nắng hoặc trong môi trường nóng bức cũng như tránh các hoạt động thể lực quá sức. Uống đầy đủ nước khi trời nóng hoặc lao động nặng. Luôn trang bị đầy đủ thiết bị chống nắng khi lao động, làm việc ngoài trời nắng như quần áo bảo hộ lao động, mũ, nón, kính,... Làm thoáng mát môi trường làm việc, đặc biệt là các công xưởng, hầm lò rất có ý nghĩa trong việc phòng chống say nắng, say nóng [3].

Y học cổ truyền (YHCT) từ xưa đã đề cập đến những tổn thương cơ thể do nắng – nóng gây ra và xếp vào chứng trúng thử. Có nhiều bài thuốc điều trị trúng thử như: Bạch hồ gia nhân sâm thang, Trúc diệp thạch cao thang, An cung ngư hoàng hoàn, Chí bảo đan... [5]. Căn cứ vào nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh của chứng trúng thử (say nắng – say nóng) theo y học cổ truyền, chúng tôi nghiên cứu bào chế cao khô Thanh nhiệt phòng chống say nắng – say nóng. Cao khô Thanh nhiệt được xây dựng

trên cơ sở bài Sinh mạch tán, được gia thêm các vị thuốc giúp sản phẩm toàn diện hơn, phù hợp với nhiều bệnh cảnh khác nhau của chứng say nắng say nóng. Cao khô Thanh nhiệt đã được bào chế thành dạng cao khô bằng phương pháp chiết xuất siêu âm tại Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga. Để bước đầu đánh giá cơ sở khoa học cũng như hiện đại hóa y học cổ truyền chúng tôi tiến hành đề tài: “***Nghiên cứu độc tính cấp, độc tính bán trường diễn và tác dụng chống say nắng, say nóng của chế phẩm Thanh nhiệt trên động vật thực nghiệm***”, với hai mục tiêu:

1. *Đánh giá độc tính cấp, bán trường diễn của cao khô Thanh nhiệt trên thực nghiệm.*
2. *Đánh giá tác dụng tăng khả năng chịu đựng với gánh nặng nhiệt của cao khô Thanh nhiệt trên mô hình thực nghiệm.*

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan về say nóng

Lao động, tập luyện trong điều kiện khí hậu nóng ẩm làm thân nhiệt tăng nhanh và các chức năng của cơ thể phải hoạt động rất căng thẳng. Theo Vitte, khi nhiệt độ môi trường từ 32°C trở lên, lao động với cường độ nhẹ đã làm tăng thân nhiệt, còn khi lao động với cường độ nặng thì thân nhiệt tăng ngay từ mức nhiệt độ môi trường là 22°C. Nhiều loại hình lao động quân sự có cường độ cao, phải tiến hành trong những điều kiện vi khí hậu và khí hậu khắc nghiệt sẽ tạo điều kiện làm tăng thân nhiệt nhanh. Lao động ở những nơi vật có tính bức xạ nhiệt cao, môi trường chật hẹp, thông khí kém là những yếu tố nguy cơ gây mất cân bằng của hai quá trình sinh nhiệt và thải nhiệt của cơ thể [3],[6]. Lao động trong điều kiện khí hậu nóng ẩm hoặc trong môi trường vi khí hậu nóng ẩm là yếu tố bất lợi tác động lên cơ thể người chiến sĩ, gây ảnh hưởng tới khả năng lao động, sức khỏe và có thể đe dọa tính mạng nếu không có biện pháp tổ chức lao động, luyện tập hợp lý và phòng chống nóng [3].

1.1.1. Một số rối loạn bệnh lý có thể gặp do tác động của nắng nóng

Say nóng là rối loạn bệnh lý xảy ra do thân nhiệt tăng quá cao khi lao động căng thẳng, kéo dài trong điều kiện nắng nóng. Say nóng trải qua 3 giai đoạn (mức độ):

- Giai đoạn 1 (mức độ 1): Thân nhiệt chưa tăng nhiều: các biện pháp thải nhiệt được huy động tối đa (da đỏ, vã mồ hôi), chưa có biểu hiện của rối loạn chuyển hóa
- Giai đoạn 2 (mức độ 2): Thân nhiệt bắt đầu tăng cao: có rối loạn chuyển hóa, khó chịu, nhưng trung tâm điều hòa nhiệt và các trung tâm khác chưa rối loạn chức năng thân nhiệt chưa vượt quá 41°C.

- Giai đoạn 3 (mức độ 3): Khi thân nhiệt vượt 41,5°C thì rối loạn trung tâm điều hòa thân nhiệt, thân nhiệt tăng nhanh (dù đã ra khỏi môi trường nóng), mất muối và mất nước nặng, có các biểu hiện thần kinh... Nạn nhân có cảm giác rất nóng, hốt hoảng, thờ nhanh

và nông, có thể thở chu kỳ, mạch nhanh và yếu, huyết áp hạ, thiếu niệu hoặc vô niệu, mồ hôi giảm hoặc không tiết... tiến tới các triệu chứng thần kinh: uể oải, thờ ơ, vật vã, co giật và hôn mê. Chuyển hóa bị rối loạn làm cho cơ thể lâm vào tình trạng nhiễm toan, nhiễm độc nặng. Nạn nhân có thể chết (ở 42°C hay 42,5°C) sau vài giờ trong tình trạng trụy tim mạch và thân nhiệt quá cao – nếu không được cứu chữa (bằng hạ thân nhiệt, bù muối và nước, trợ tim...) [3].

1.1.2. Những biện pháp phòng, cấp cứu và điều trị say nóng

1.1.2.1. Biện pháp dự phòng say nóng

- Cải thiện môi trường lao động:

+ Dùng phương tiện che chắn: mũ, quần áo bảo vệ.

+ Đảm bảo thông gió tốt để thải nhiệt bằng đối lưu và bay hơi mồ hôi (nhà xưởng thông thoáng, quạt hút gió và quạt thông gió).

+ Sử dụng các loại quần áo thông thoáng, khả năng thấm nước cao.

- Tuyển chọn sức khỏe phù hợp đặc điểm, tính chất công việc:

Hoạt động của một số ngành nghề vừa đòi hỏi khả năng thể lực tốt, nhất là khả năng sức bền, vừa chịu sự tác động của yếu tố nóng ẩm cao. Vì vậy phải tuyển chọn và kiểm tra sức khỏe để đưa những người có đủ sức khỏe vào trong các nghề đó.

- Biện pháp rèn luyện:

+ Rèn luyện thể lực chung có tác dụng nâng cao sức đề kháng chung của cơ thể.

+ Rèn luyện với nóng nhằm nâng cao trạng thái thích nghi của cơ thể. Để đạt hiệu quả rèn luyện thường phải cần từ 7 - 10 ngày rèn luyện với nóng ẩm. Rèn luyện theo nguyên tắc nâng dần, thường xuyên.

+ Việc rèn luyện thể lực và rèn luyện với nóng cần thực hiện theo những nguyên tắc cơ bản để việc rèn luyện có thể đạt hiệu quả cao.

- Biện pháp dinh dưỡng phù hợp:

+ Cần đảm bảo về chất lượng và dễ ăn; có nhiều yếu tố vi lượng, đủ các vitamin và có đủ canh để ăn.

- + Đảm bảo đủ nước uống trước, trong và sau lao động.
- Biện pháp tổ chức lao động hợp lý:
 - + Điều chỉnh cường độ lao động hợp lý trong những thời điểm, những ngày nóng ẩm: giảm cường độ lao động khi nóng ẩm cao.
 - + Tổ chức thực hiện lao động, luyện tập vào những giờ mát trong ngày và nghỉ ngơi vào những giờ nắng nóng cao điểm (11 - 14 giờ).
 - Thời gian nghỉ ngơi và bù nước đủ [3],[7].

1.1.2.2. Cấp cứu và điều trị say nóng

Mục tiêu chung là tiến hành các biện pháp cấp cứu tích cực cho đến khi nhiệt độ lõi về dưới 39°C. Khả năng mắc bệnh và tử vong phụ thuộc vào khoảng thời gian và mức độ tăng nhiệt độ lõi của cơ thể. Do đó quy trình điều trị tổn thương do nóng phải nhằm một mục tiêu cơ bản là hạ nhiệt độ lõi của cơ thể xuống bình thường càng nhanh càng tốt. Chẩn đoán sớm và điều trị đúng cách là hai điều kiện quan trọng giúp người bệnh tăng khả năng sống sót [3],[7].

- Biện pháp chung:
 - + Ngừng lao động, đưa vào chỗ râm mát, tăng cường thông gió.
 - + Cởi bỏ quần áo, đặt người bệnh ở tư thế nằm đầu thấp.
 - + Chườm lạnh ở những vùng có mạch máu lớn đi qua.
 - + Bù nước (uống nước muối nhạt, mát, dung dịch orerol, truyền dịch).
 - + Hồi sức tim phổi nếu có ngừng hô hấp, ngừng tim.
 - + Tiếp tục theo dõi thân nhiệt, sự tỉnh táo, lượng nước tiểu.
 - + Sử dụng thuốc theo phác đồ cấp cứu: thuốc kích thích tim mạch, thuốc chống tăng động, thuốc nâng huyết áp.
 - + Với trường hợp nặng, thực hiện các biện pháp cấp cứu (hạ thân nhiệt...) ngay sau khi được phát hiện và trên đường vận chuyển đến cơ sở có bộ phận hồi sức tích cực.
- Biện pháp cụ thể:
 - Cấp cứu và điều trị nhiễm nóng phụ thuộc vào độ nặng của bệnh:

+ Trường hợp nhẹ: tắm nước nhiệt độ 25 - 30°C trong 5 - 6 phút, sau đó dùng khăn lau khô người, nghỉ ngơi yên tĩnh. Trường hợp nặng hơn, ngâm nạn nhân vào nước nhiệt độ 28 - 30°C trong 7 - 8 phút, sau đó dùng khăn khô lau khô, nghỉ ngơi yên tĩnh.

Có thể lau người bằng khăn tắm nước mát - ủ ẩm (nhiệt độ 25 - 26°C) trong 10 - 15 phút, sau đó dùng khăn lau khô, nghỉ ngơi yên tĩnh. Uống nhiều nước, dùng thuốc an thần, tim mạch theo chỉ định.

+ Trường hợp nặng: ngâm trong nước mát (25 - 26°C), ủ khăn ẩm, mát trên các vùng ngực và bụng và nơi có các động mạch lớn đi qua (cổ, bẹn...). Truyền dịch (dung dịch muối đẳng trương). Rửa dạ dày bằng nước mát... Nếu có triệu chứng của tăng áp lực hộp sọ (cứng gáy, triệu chứng Kernig) có thể chỉ định hút 20ml dịch não tủy. Trong trường hợp quá nặng (ngừng thở, ngừng tim) cần nhanh chóng tiến hành các kỹ thuật hồi sức cấp cứu.

Có nghiên cứu chỉ ra việc sử dụng dexamethasone hoặc kết hợp manitol giúp cải thiện triệu chứng của đột quỵ nhiệt do làm giảm kích hoạt đông máu, chống viêm toàn thân, và cải thiện tình trạng thiếu máu cục bộ não [3],[7],[8].

1.2. Tổng quan Y học cổ truyền về trúng thử

1.2.1. Khái niệm về thử

- Thử là hỏa nhiệt của mùa hạ, trong khoảng thời gian sau hạ chí đến trước lập thu. Ngoại tà hỏa nhiệt trong tự nhiên gọi là thử tà. Thử tà gây bệnh gọi là thử bệnh.

- Thử là chủ khí mùa hạ. Thử tà có tính theo tiết mùa rõ rệt và gây bệnh chủ yếu từ thời tiết sau hạ chí đến trước lập thu. Thử tà có thể đơn độc gây bệnh vào mùa hạ, thử thuộc ngoại tà và không thấy nội thử. Thử tà gây bệnh phân ra âm và dương. Mùa hạ về ban ngày thời tiết quá nóng, hoặc làm việc dưới ánh nắng mặt trời lâu, hoặc làm việc nơi có nhiệt độ cao mà gây nên thử bệnh thì đều thuộc dương thử; hoặc do thời tiết nóng bức, ăn nhiều đồ mát lạnh, thích sống ngoài trời, thích ngâm lạnh quá lâu cũng gây nên thử bệnh và thuộc về âm thử [9],[10],[11].

1.2.2. Đặc tính của thử

- Thử là dương tà hay gây sốt và hiện tượng viêm nhiệt, khát, mạch hồng, ra mồ hôi.
- Thử hay đi lên trên, tản ra ngoài (thăng tán) làm mất tân dịch: gây ra mồ hôi nhiều, mất nước và điện giải có thể gây hôn mê, trụy mạch.
- Hay phối hợp với thấp lúc cuối hạ sang thu gây ra các chứng ỉa chảy, lỵ [10].

1.2.3. Trúng thử

1.2.3.1. Khái niệm về trúng thử

- Từ thời Tần Việt Nhân - Hiệu Biên Thuộc trong “Hoàng Đế - Nội kinh (TK VIII – III, TCN)”, Y học cổ truyền phương Đông đã mô tả hội chứng say nóng trong phạm trù “Trúng thử”, nguyên nhân do mùa hè nóng nực, nhiệt độ môi trường và độ ẩm tăng cao mà bệnh nhân phải làm việc, lao động với cường độ cao liên tục ở nơi thông khí kém, nên rối loạn công năng điều hòa thân nhiệt của cơ thể, dẫn đến hệ thống thần kinh trung ương, hệ thống tuần hoàn bị trở ngại. Biểu hiện cấp tính là chủ yếu [12].

- Dựa trên biện chứng luận trị của YHCT, “Trúng thử” được chia làm 3 thể: say nóng co giật (kinh quyết) và say nóng suy kiệt. Trúng thử còn được gọi là trúng nhiệt, trúng khát, phát sa. Nếu xuất hiện hôn mê, co giật, liệt tứ chi thì đó là chứng tối cấp bách của bệnh, còn gọi là thử phong, thử quyết, thử khinh, thử bế.

- Trúng thử trong y học cổ truyền có sự tương đồng với say nóng của y học hiện đại, biểu hiện lâm sàng giống nhau, do vậy trong điều trị có ý nghĩa tham khảo.

1.2.3.2. Cơ chế bệnh sinh của trúng thử theo y học cổ truyền

- “Trúng thử” xảy ra chủ yếu do mùa hè nóng nực, môi trường khí nóng quá cao, cơ thể không có khả năng thích ứng, vì vậy nguyên nhân “Trúng thử” là do ngoại cảm, (tà khí thử nhiệt); nhưng nguyên nhân bên trong là chính khí hư suy, cơ thể không kịp thích ứng với môi trường, khí nóng và độ ẩm môi trường tăng cao lại lao động ở chỗ thông khí kém.

- Thử là hỏa nhiệt chi tà (Đan Khê tâm pháp – Trúng thử) viết: “Thử nãi hạ nguyệt viêm thử dã”, “thịnh nhiệt chi khí giả, hỏa dã”.

- Thử nhiệt xâm phạm từ bên ngoài: mùa hạ quá nóng, cảm nhiễm thử nhiệt hoặc thử thấp ngoại tà, tà nhiệt nội uất, bùng bít thanh khiếu gây rối loạn thăng giáng, khí hóa thất thường, rối loạn âm dương khí huyết, cuối cùng gây trúng thử. Vì mùa hạ oi bức là thịnh nhiệt, hỏa có tính chất thượng viêm, có xu thế cấp truyền. Do vậy, trúng thử phát bệnh cấp, chuyển biến nhanh, tả khí dễ nội hãm tâm bào.

- Chính khí bất túc tà thử gây bệnh cho người bệnh: nguyên nhân là do người bệnh nguyên khí hao hư, tỳ vị hư nhược, do đó cơ thể người già yếu, phụ nữ sau sinh, trẻ nhỏ và người béo phì, đa đăm đa ẩm dễ mắc trúng thử. Những cơ thể trên thuộc chính hư nội ẩm, ngoại nhiễm thử nhiệt, nội ngoại hợp tà gây bệnh trúng thử.

- Lao lực gây ra: mùa hè nắng nóng, làm việc ngoài trời, cơ thể đói mệt, mất ngủ gây chính khí nội hư, công năng tạng phủ thất điều. Do đó dễ nhiễm thử nhiệt gây ra trúng thử [9],[10].

1.2.3.3. Phân thể lâm sàng điều trị

a. Thử tà vào Dương minh vị

- Triệu chứng: Sợ nóng, tâm phiền, đầu nhức và choáng váng, hơi thở to, miệng khô khát nước, mồ hôi nhiều, lưng hơi sợ lạnh, mạch hồng đại mà khô.

- Cơ chế bệnh sinh: Thử là tà khí hỏa nhiệt, nung đốt Dương minh, cho nên mới phát bệnh là thấy ngay chứng mình nóng dữ dội mà sợ nóng, tâm phiền. Thử nhiệt bốc lên, thì đầu nhức choáng váng, mà mặt đỏ hồng, chứng này so với chứng nhiệt nung nấu ở trong, bức tân dịch tiết ra ngoài thì háo khát nhiều mồ hôi mà thở hơi to, nhiệt thịnh, ra nhiều mồ hôi, tổn thương đến khí dịch, thì lưng hơi sợ lạnh, mạch hồng đại mà khô. Chứng này nhức đầu sợ lạnh, tà ở biểu, tất không có mồ hôi hoặc ít mồ hôi, mà mạch phù, và cũng không đến háo khát, thở to. Nay tuy đầu nhức và choáng váng, nhưng lưng hơi sợ lạnh mà mạch hồng đại và háo khát nhiều mồ hôi, sợ nóng tâm buồn bức thì rõ ràng là lý nhiệt bốc lên, tổn thương đều khí dịch mà gây nên như vậy.

- Phép chữa: Thanh khí tiết nhiệt, bổ khí sinh tân.

- Bài thuốc: Bạch hổ gia nhân sâm thang (ôn bệnh điều biện) [9],[10].

b. Thử tà làm tổn thương tân dịch và chính khí

- Triệu chứng: Mình nóng, hơi thở to, tâm phiền, nước tiểu vàng, khát nước, tự ra mồ hôi, chân tay mỏi, tinh thần mệt, mạch hư không có lực.

- Cơ chế bệnh sinh: Mình nóng, hơi thở nóng, tâm phiền, nước tiểu vàng là lý có nhiệt tà. Khát nước, tự ra mồ hôi, là tân dịch đã bị tổn thương. Chân tay mỏi, tinh thần mệt, mạch hư không có lực là nguyên khí hư suy. Tổng hợp các chứng mà phân tích thì chứng này cũng là do nhiệt làm tổn thương tân dịch và khí mà gây nên, nhưng so với chứng trước thì chứng này nhiệt tà nhẹ mà tân dịch tổn thương nặng hơn.

- Phép chữa: Thanh nhiệt tiêu thử, bổ khí sinh tân.

- Bài thuốc: Vương thị thanh thử ích khí thang (ôn nhiệt kinh vĩ) [10].

c. Tân dịch và chứng khí sắp thoát

- Triệu chứng: Mình nóng đã lui, mồ hôi ra không dứt, thở suyễn sắp thoát, mạch tán đại.

- Cơ chế bệnh sinh: Chứng này tà thử nhiệt đã giải trừ, nhưng vì chính khí tổn thương nhiều quá, không giữ vững ở ngoài được, cho nên mình không nóng mà mồ hôi vã ra không dứt, mạch tán đại mà không có lực, tân dịch và chính khí tổn thương quá nhiều, hơi ít không đủ để thở, cho nên thở suyễn sắp thoát.

- Phép chữa: Bổ liễm tâm khí.

- Bài thuốc: Sinh mạch tán (Ôn bệnh điều biện) [10].

d. Thử tà làm tổn thương tâm thận

- Triệu chứng: Tâm nóng buồn phiền vật vã, tiêu khát không thôi, lưỡi đỏ, rêu lưỡi khô.

- Cơ chế bệnh sinh: Chứng này là vì thử nhiệt lưu lại lâu ngày tổn thương tới tâm thận mà gây nên. Nhiệt tà giúp tâm hỏa ở trên mạnh quá, thì tâm nóng, buồn phiền vật vã. Thử nhiệt đốt thận âm ở dưới, thận thủy không giao tế lên trên được thì tiêu khát không thôi, lưỡi đỏ cũng là dấu hiệu tổn thương âm. Rêu lưỡi vàng khô là triệu chứng lý nhiệt.

- Phép chữa: Thanh tâm nhiệt, bỏ thận.
- Bài thuốc: Liên mai thang (ôn bệnh điều biện) [10].

e. Thử tà nhập vào dinh huyết

* Thử tà nhập và tâm dịch:

- Triệu chứng: Mạch hư, lưỡi đỏ, tâm phiền, miệng khô, đêm ngủ không yên, có lúc nói sáng.

- Cơ chế bệnh sinh: Thử đễ vào tâm, cho nên trong quá trình chứng thử ôn rất dễ hiện ra chứng tà vào tâm dinh. Thử tà vào phần dinh, tâm dinh bị hao tổn cho nên mạch hư lưỡi đỏ.

- Phép chữa: thanh tâm khai khiếu [9].

* Thử tà nhập vào phân huyết:

- Triệu chứng: Nóng rát buồn phiền, vật vã, ban sắc tím đen, lưỡi đỏ rêu khô, nặng thì hôn mê, nói càn, hay cười.

- Cơ chế bệnh sinh: chứng này là độc bệnh thử nhiệt quá thịnh, vào sâu đến phân huyết. Nhiệt tà quá thịnh, âm huyết tổn thương nặng thì nóng rát, buồn phiền vật vã. Độc tà đốt cháy ở dinh huyết, thì sắc ban tím đen, lưỡi đỏ rêu khô. Tâm chủ huyết, huyết nóng hãm tâm bào, tâm thần rối loạn, cho nên hôn mê, nói càn, hay cười.

- Phép chữa: Lương huyết giải độc, thanh tâm khai khiếu.

- Bài thuốc: Thần tê đan (Ôn nhiệt kinh vĩ) [9],[10].

f. Chứng thử thấp làm trở ngại trung tiêu

- Triệu chứng: Nóng dữ, phiền khát, mồ hôi nhiều, nước tiểu ít, mạch hồng đại.

- Phép chữa: thanh nhiệt, hóa thấp.

- Bài thuốc: Bạch hổ gia thương truat thang [9],[10].

g. Thử thấp lan tràn ở tam tiêu

- Triệu chứng: Minh nóng, mặt đỏ, tai điếc, ngực tức bụng đầy, đi ỉa nước loãng, tiểu tiện ngắn ít, ho đờm có dính huyết, không khát nước lắm, lưỡi đỏ hồng, rêu lưỡi vàng tron.

- Cơ chế bệnh sinh: Chứng thử thấy uất ở trong ròi, bốc lên thì thấy chứng mình nóng, mặt đỏ, tai điếc.

- Phép chữa: Thanh nhiệt, lợi thấp; thanh giải tà thử thấp ở Thượng tiêu, Trung tiêu, Hạ tiêu.

- Bài thuốc: Tam thạch thang (ôn bệnh điều biện) [9],[10].

h. Chứng thử kèm hàn thấp

- Triệu chứng: Đầu nhức, mình nóng, sợ lạnh, không ra mồ hôi, thân hình co quắp, bụng đầy tâm phiền, rêu lưỡi mỏng nhót.

- Cơ chế bệnh sinh: tháng hè cảm thử, lại vì hóng mát, uống nước lạnh đến nỗi thử bị hàn thấp ngăn mát, hàn uất cơ biểu, thì đầu nhức mình nóng, sợ lạnh không ra mồ hôi, thân hình co quắp. Thấp tà ngăn trở ở trong thì rêu lưỡi nhót, bụng đầy. Thử nhiệt uất ở trong thì tâm phiền không yên.

- Phép chữa: giải biểu tán hàn, hóa thấp tiêu thử.

- Bài thuốc: Tân gia hương nhu ẩm (Ôn bệnh điều biện); Hoàng liên hương nhu ẩm (Loại chứng hoạt nhân thử) [9],[10].

1.3. Tình hình nghiên cứu chống say nóng bằng y học cổ truyền trên thế giới và trong nước

1.3.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới

Trên thế giới các biện pháp phòng chống say nóng hiện nay chủ yếu tập trung vào các yếu tố bên ngoài như quần áo bảo hộ, lều bạt che nắng, các loại nước uống tăng cường điện giải và các loại nước giải khát nhằm bổ sung nước và điện giải cho cơ thể. Các bài thuốc chủ yếu phục vụ cho quá trình điều trị sau khi bị say nóng. Hầu như chưa có nghiên cứu về các loại thuốc uống để phòng ngừa say nóng [7].

Y học cổ truyền có nhiều biện pháp điều trị say nóng, trong đó có một số bài thuốc thường dùng như Bạch hổ thang, Chi tử xị thang, Trúc diệp Thạch cao thang, Nhân trần cao thang, Sinh mạch tán, Thanh thử ích khí thang. Pháp điều trị của y học cổ truyền là bổ khí thanh nhiệt giải thử. Bài thuốc Sinh mạch tán đã được chứng minh

có hiệu quả trong hỗ trợ điều trị các triệu chứng liên quan của bệnh say nóng. Tuy nhiên, các nghiên cứu chỉ dừng lại thử nghiệm lâm sàng, phần lớn kết quả nghiên cứu chỉ dừng lại việc xác định dược tính của bài thuốc. Trong khi để có thể ứng dụng bài thuốc rộng rãi trên thị trường cần có những nghiên cứu cụ thể về phương thức, công thức bào chế hay nghiên cứu chế biến từ nguồn nguyên liệu thô thành các thành phẩm khác để tiêu thụ và tiếp cận người sử dụng hơn [5].

Nghiên cứu dược lý hiện đại của Nien-Lu Wang và cộng sự (2005) đánh giá bài thuốc Sinh mạch tán được chiết xuất từ nhân sâm (*panax ginseng*), mạch môn (*ophiopogon japonicas*), ngũ vị tử (*schisandra chinensis*) cho thấy có hiệu quả trong ức chế sinh NO trong não và các cytokine gây viêm trong huyết thanh trên động vật thí nghiệm [13].

Theo KaH. Wong (2011) Puerarin có trong cát căn giúp ngăn chặn sự chết theo chương trình của tế bào thần kinh (apoptosis) bằng cách tăng cường sự biểu hiện protein sốc nhiệt 70 (Hsp70) giúp bảo vệ sự thoái hóa tế bào và đẩy nhanh quá trình phục hồi các chức năng của tế bào [14].

Lun-Chien Lo và cộng sự (2012) tiến hành đánh giá hiệu quả điều trị của Sinh mạch tán trong điều trị bệnh nhân ung thư (≥ 18 tuổi) đang xạ trị. Các bệnh nhân đã được uống 08 viên nang Sinh mạch tán 0,5 mg x 3 lần/ngày x 4 tuần, cho thấy điều trị bằng Sinh mạch tán làm giảm tác dụng phụ do xạ trị gây ra cũng như cải thiện chức năng tim [15].

Fang Li và cộng sự (2019) Nghiên cứu cơ chế bảo vệ tim mạch cấp độ phân tử từ việc kết hợp ba loại hợp chất ginsenoside Rb1, ruscogenin, schisandrin đặc trưng của phương “Sinh mạch tán” trên bệnh thiếu máu cục bộ cơ tim. Kết quả nghiên cứu cho thấy hợp chất GRS có tác dụng bảo vệ tim mạch đáng kể chống lại tổn thương do thiếu máu cục bộ cơ tim tương tự như Sinh mạch tán, cung cấp bằng chứng dược lý để tiếp tục phát triển thuốc YHHĐ cho bệnh tim mạch dựa trên phương dược YHCT [16].

Chunhua Liu và cộng sự (2022) nghiên cứu Chiết xuất Sinh mạch tán làm giảm tổn thương tim trong tình trạng thiếu oxy liên tục mãn tính thông qua việc ngăn chặn tổn thương oxy hóa và điều hòa chuyển hóa glucose [17].

Zhang, X. và cộng sự (2022) nghiên cứu Sinh mạch tán cải thiện tổn thương gan do căng thẳng nhiệt gây ra thông qua điều chỉnh quá trình chuyển hóa năng lượng và quá trình autophagy phụ thuộc vào AMPK/Drp1. Kết quả của cho thấy rằng Sinh mạch tán làm giảm bớt rối loạn chức năng gan do stress nhiệt gây ra bằng cách giảm alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) và tỷ lệ AST/ALT trong huyết thanh và cải thiện tổn thương bệnh lý ở gan. Ngoài ra, Sinh mạch tán ức chế phản ứng viêm, tổn thương oxy hóa và biểu hiện quá mức protein sốc nhiệt trong mô gan sau khi tiếp xúc với nhiệt [18].

1.3.2. Tình hình nghiên cứu trong nước

Nghiên cứu của Phan Văn Minh (2018) cao khô Giải thử khang đã có tác dụng dự phòng say nóng trên động vật thực nghiệm thể hiện qua các chỉ số sau: Chuột 2 lô trị uống cao khô Giải thử khang có mức tăng thân nhiệt thấp hơn lô chứng ở các thời điểm ($p < 0,05$). Sự biến thiên huyết áp và tần số mạch của chuột 2 lô trị ít hơn lô chứng. Thời gian sống dưới tác động liên tục của gánh nặng nhiệt của lô trị 1 ($76,1 \pm 1,71$) và lô trị 2 ($74,6 \pm 2,08$) dài hơn lô chứng ($61,2 \pm 1,86$) với $p < 0,05$. Chỉ số creatinin ở lô chứng tăng có ý nghĩa ($p < 0,05$), ở 2 lô trị tăng không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) [19].

1.4. Tổng quan về các phương pháp nghiên cứu độc tính và ý nghĩa về việc nghiên cứu tính an toàn của thuốc y học cổ truyền

1.4.1. Thuốc y học cổ truyền và nguyên nhân tiến hành thử độc tính

Thuốc y học cổ truyền Việt Nam đã có lịch sử tồn tại và phát triển từ hàng ngàn năm nay. Lịch sử phát triển của thuốc cổ truyền gắn liền với lịch sử tồn tại, phát triển của dân tộc Việt Nam. Thuốc đông y, thuốc từ dược liệu dễ dàng được đón nhận nhờ

vào bề dày lịch sử cũng như người dân tin rằng thuốc YHCT bào chế từ thảo dược sẽ ít có tác dụng phụ hơn so với thuốc tây.

Đáp ứng thị hiếu người tiêu dùng, các nhà sản xuất thuốc cổ truyền của Việt Nam đã “tự do” cho ra đời hàng loạt các chế phẩm không qua thử nghiệm hoặc thử nghiệm không đầy đủ theo chuẩn từ nhiều dược liệu khác nhau, đa dạng phong phú về tên gọi, chủng loại, thành phần, tác dụng cũng như cách bào chế, giá cả tạo nên một thị trường thuốc từ dược liệu, thuốc đông y khó kiểm soát [20]. Vì vậy, việc nghiên cứu độc tính của các thuốc y học cổ truyền là điều cấp thiết.

1.4.2. Các phương pháp thử nghiệm độc tính cấp

1.4.2.1. Mục tiêu

Thử độc tính cấp nhằm cung cấp thông tin cho việc xếp loại mức độ độc của thuốc; điều trị ngộ độc cấp; thiết lập mức liều cho những thử nghiệm độc tính tiếp theo. Do vậy, các phép thử độc tính cấp cần xác định.

- Liều an toàn;
- Liều dung nạp tối đa;
- Liều gây ra độc tính có thể quan sát được;
- Liều thấp nhất có thể gây chết động vật thí nghiệm (nếu có);
- Liều LD₅₀ gần đúng (nếu có thể xác định được);
- Những triệu chứng ngộ độc điển hình có thể quan sát được trên động vật và

khả năng hồi phục (nếu có) [20].

1.4.2.2. Mô hình thử

Nguyên tắc lựa chọn: Tùy theo mục đích của mỗi nghiên cứu và loại mẫu thử và những thông tin sẵn có để lựa chọn mô hình thử thích hợp. Loài động vật gặm nhấm thường được sử dụng là chuột nhắt, chuột cống; loài không gặm nhấm có thể dùng là chó hoặc khỉ. Số nhóm và số lượng cho mỗi nhóm tùy theo mô hình áp dụng.

Thử sơ bộ: thường được thực hiện trong hầu hết các mô hình thử. Dựa vào kết quả trong thử nghiệm sơ bộ để lựa chọn, bố trí thử nghiệm chính thức. Với những

trường hợp thông tin cho thấy mẫu thử hoặc các chất liên quan có thể không độc hoặc ít độc, có thể thử trên một loài động vật (gặm nhấm). Đối với các chế phẩm có độc cao hoặc có yêu cầu đặc biệt về khoa học, cần thiết thử trên hai loài động vật thí nghiệm (ĐVTN) (gặm nhấm và không gặm nhấm).

Khuyến cáo: Để bảo vệ động vật, các mô hình sử dụng số ít động vật thí nghiệm được ưu tiên lựa chọn [20].

- Mô hình liều cố định:

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

- Mô hình Tăng - Giảm:

Nguyên tắc: Mô hình thử Tăng - Giảm được các nước thuộc OECD áp dụng và ban hành chính thức năm 2001 (OECD 425). Thử nghiệm được tiến hành trên các mức liều được tính theo hệ số bước nhảy liều, thực hiện lần lượt trên từng ĐVTN theo tiến trình tăng hoặc giảm liều và tiếp tục cho đến khi đạt điều kiện dừng lại. Đánh giá kết quả bằng quan sát các biểu hiện và triệu chứng ngộ độc theo qui định chung và tính giá trị LD₅₀ gần đúng (nếu có) theo qui định riêng của phương pháp.

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

- Mô hình thử theo Behrens:

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

- Mô hình theo Litchfield – Wilcoxon:

Nguyên tắc: Mô hình được Litchfield - Wilcoxon đề xuất năm 1949 sau khi xem xét, cải tiến và cố gắng khắc phục những hạn chế của một số phương pháp trước đó. Kết quả được ghi đồ thị trên giấy log - probit và được tính theo phương pháp toán đồ có hiệu chỉnh, do vậy cho kết quả chính xác hơn. Trước đây, phương pháp thường được áp dụng trong tính giá trị LD₅₀ cho những chất có độc tính cao.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp Litchfield – Wilcoxon do có tính chính xác cao nhất.

1.4.3. Các phương pháp thử nghiệm độc tính bán trường diễn

1.4.3.1. Mục tiêu

Thử độc tính dài ngày chỉ được tiến hành sau khi đã có thông tin về độc tính cấp trên động vật và mẫu thử được dự định sử dụng hoặc tiếp xúc dài ngày trên người.

Thử độc tính dài ngày nhằm xác định khả năng dung nạp của động vật thí nghiệm khi dùng mẫu thử nhiều lần. Thông tin cần xác định có những biểu hiện độc tính sau khi dùng dài ngày, bao gồm:

- Mức liều không hoặc có gây thay đổi đáng kể tới chức năng, cơ quan hoặc một số biểu hiện sống có thể quan sát được trên động vật thí nghiệm;

- Những độc tính có thể quan sát được trên động vật và khả năng hồi phục nếu có [20].

1.4.3.2. Lựa chọn mô hình thử

Căn cứ vào các thông tin của mẫu thử và kết quả thử độc tính cấp để thiết kế mô hình, mức liều thử.

- Trường hợp mẫu thử không thể hiện độc tính cấp hoặc rất ít độc, có thể thử trên 1 loài động vật (gặm nhấm).

- Trường hợp mẫu thử thể hiện độc tính cấp cao, liều gây độc gần với liều có tác dụng dược lý, cần thiết thử trên 2 loài động vật (gặm nhấm và không gặm nhấm) [20].

1.4.3.3. Thời gian thử

Thời gian thử trên động vật được tính dựa theo thời gian dự kiến dùng trên người hoặc có thể thử với các khoảng thời gian xác định. Ngoài ra, thời gian thử còn phụ thuộc vào đích của thử nghiệm là cung cấp thông tin cho thử lâm sàng giai đoạn nào. Khi cần thông tin cho thử lâm sàng giai đoạn 1 hoặc 2, thời gian có thể ngắn hơn (14-28 ngày); khi cần cung cấp thông tin cho thử lâm sàng giai đoạn 3, thời gian thử cần dài hơn (28-90 ngày). Hiện nay, tài liệu hướng dẫn của các nước tham gia hòa hợp ICH giới thiệu tính thời gian thử độc tính theo 2 cách:

- Thời gian thử thuốc bằng 3-4 lần thời gian dự kiến dùng trên người.
- Thời gian thử theo từng khoảng xác định: 14 ngày, 28 hoặc 90 ngày. Lựa chọn từng khoảng thời gian thử tùy theo yêu cầu từng mẫu và điều kiện thử nghiệm.

Đánh giá mức độ độc sẽ được xem xét trên báo cáo kết quả tương ứng với từng khoảng thời gian đã thử [20].

1.4.3.4. Liều dùng

Thuốc được dùng chủ yếu qua đường uống bằng dụng cụ chuyên biệt.

Mức liều thử phải được lựa chọn sao cho có ý nghĩa trong việc đánh giá về khả năng an toàn hay mức độ gây độc của mẫu thử khi dùng nhiều ngày trên động vật. Mức liều thử thường được tính từ các thông tin thu được từ thử độc tính cấp, và được quy đổi tương đương theo liều giữa các loài nếu thử trên loài khác nhau. Với những nghiên cứu đầy đủ, thử nghiệm được thiết kế với 3 mức liều (tương đương 3 nhóm thử):

- Liều thấp: mức liều đủ để mẫu thử có tác dụng dược lý hoặc điều trị (tức là tương đương mức liều dự kiến dùng để điều trị cho người);
- Liều trung bình: mức liều có thể không gây những độc tính quan sát được hoặc gây ảnh hưởng không đáng kể;

- Liều cao: mức liều dự kiến sẽ quan sát được biểu hiện ngộ độc trên cơ quan của ĐVTN hoặc đến mức thể tích giới hạn cao nhất mà ĐVTN có thể dùng được.

Thử nghiệm nên được tiến hành song song với 1 nhóm chứng trong cùng điều kiện với cùng số lượng động vật đã dùng trong nhóm thử. Tuy nhiên, trong thời điểm hiện tại phần lớn các nghiên cứu có thể chấp nhận với 1 nhóm chứng và 2 nhóm thử (liều thấp và liều cao).

Cho động vật dùng thuốc hàng ngày, 7 ngày/tuần, trừ khi có chế độ liều đặc biệt. Số động vật trên mỗi nhóm tùy theo loài 8-10 con (gặm nhấm); hoặc 2-4 con (không gặm nhấm). Việc dùng các động vật không gặm nhấm thường rất tốn kém, đặc biệt là các loài linh trưởng. Khi cần thử nghiệm trên động vật không gặm nhấm, đề cương cần được xem xét bởi Hội đồng khoa học hoặc khi có yêu cầu của cơ quan quản lý hoặc nhà sản xuất [20].

1.5. Tổng quan về các phương pháp nghiên cứu tạo gánh nặng nhiệt

1.5.1. Mô hình nghiên cứu trên thỏ

Shih và cộng sự (1984) nghiên cứu trên thỏ tiếp xúc với môi trường nhiệt độ cao (40°C). Sau thời gian tiếp xúc, thỏ bị sốc nhiệt, hôn mê, nhiệt độ trực tràng tăng cao [21]. Lin và Lin (1990), gây tăng gánh nặng nhiệt trên thỏ cho thấy có sự gia tăng nhiệt độ cơ thể khi tiêm các chất đối kháng canxi cho thỏ [22]. Palmi và Sgaragli (1989) cho rằng các tế bào thần kinh chịu trách nhiệm trong điều hòa nhiệt độ cơ thể chịu tác động của các chất đối kháng canxi [23]. Tuy nhiên, nghiên cứu trên thỏ chi phí cao hơn, đòi hỏi cơ sở nuôi động vật thí nghiệm phức tạp hơn, môi trường gây nhiệt độ cao với số lượng lớn thỏ khó khăn hơn so với nghiên cứu trên chuột nên hạn chế việc sử dụng chúng trong các nghiên cứu thường quy.

1.5.2. Mô hình nghiên cứu trên chuột

Chuột là động vật thường được sử dụng trong các nghiên cứu trên mô hình tạo gánh nặng nhiệt ở động vật [24],[25],[26]. Chuột có thể được cho vận động tự do, hoặc giam giữ trong không gian hẹp, hoặc thực hiện các bài tập...trong điều kiện

nhệt độ môi trường xung quanh cao, cho đến khi nhiệt độ cơ thể đạt đến mức nhất định, thường là 40,5°C. Nhiệt độ này được đánh giá là nhiệt độ cơ thể tối thiểu quan sát được trên chuột có thể gây tử vong cho chuột trong vòng 24 giờ. Mức độ nghiêm trọng của chứng tăng thân nhiệt tỷ lệ thuận với nhiệt độ cơ thể đạt được và thời gian kéo dài cả mức nhiệt độ đó. Mức độ nghiêm trọng của chứng tăng thân nhiệt tăng làm tăng các biểu hiện rối loạn bệnh lý của chuột và tỷ lệ tử vong. Các nghiên cứu cho thấy với việc tạo ra nhiệt độ cơ thể 40,5°C trong 15 phút ở chuột đã tạo ra nhiệt độ cơ thể cao và tỷ lệ tử vong nhỏ (dưới 25% ở chuột vận động và 10% ở chuột hạn chế vận động) [24],[25],[26].

1.6. Tổng quan về cao khô Thanh nhiệt

1.6.1. Nguồn gốc xuất xứ và công thức của cao khô Thanh nhiệt

Cao khô Thanh nhiệt được bào chế dưới dạng cao khô, xây dựng trên cơ sở bài Sinh mạch tán, gia thêm các vị thuốc giúp sản phẩm toàn diện hơn, phù hợp với nhiều bệnh cảnh khác nhau của chứng say nóng. Các vị thuốc được gia thêm gồm: Cát căn, Cam thảo. Trong bài lấy Nhân sâm làm quân dược. Nhân sâm đại bổ nguyên khí, ích huyết, kiện tỳ ích phế, sinh tân, an thần ích trí. Hai vị thần dược là Mạch môn, Cát căn. Mạch môn dưỡng âm, sinh tân, thanh phế. Cát căn có tác dụng giải thử, thoái nhiệt, sinh tân, giải cơ hợp với Mạch môn tăng thêm tác dụng sinh tân. Mạch môn, Cát căn giúp tả hỏa sinh tân dịch. Tá dược là Ngũ vị tử tác dụng liễm phế chỉ hãn. Sứ dược là Cam thảo, với tác dụng hòa trung dẫn thuốc, ích khí, nhuận phế, thông hành 12 kinh và hoãn cấp.... Như vậy, cao khô Thanh nhiệt được xây dựng dựa trên lý luận y học cổ truyền kết hợp với bằng chứng khoa học ứng dụng trong việc phòng chống say nóng.

Thành phần cao khô Thanh nhiệt như sau:

STT	Tên vị thuốc	Tên khoa học	Liều (gam)
1	Nhân sâm	<i>Radix Ginseng</i>	10
2	Mạch môn	<i>Radix Ophiopogonis japonici</i>	15
3	Ngũ vị tử	<i>Fructus Schisandrae chinensis</i>	5
4	Cát căn	<i>Radix Puerariae Thomsonii</i>	10
5	Cam thảo	<i>Radix et Rhizoma Glycyrrhizae</i>	5
Tổng			45 (g)

1.6.2. Tổng quan các vị thuốc trong cao khô Thanh nhiệt

1.6.2.1. Nhân sâm (*Radix Ginseng*)



Ảnh 1.1: Nhân sâm (*Radix Ginseng*)

- Tên khoa học: *Radix Ginseng*.
- Tên khác: Bạch điều sâm, bạch sâm, biệt trực sâm, Triều tiên sâm.....
- Tính vị, quy kinh: Cam, khô, bình. Vào kinh tỳ, phế, tâm.
- Công năng, chủ trị: Đại bổ nguyên khí, ích huyết, kiện tỳ ích phế, sinh tân, an thần ích trí. Chủ trị: Khí hư muộn thoát, chân tay lạnh, mạch vi, tỳ hư, kém ăn, phế hư ho suyễn; tân dịch thương tổn, miệng khát nước, nội nhiệt tiêu khát, đái tháo, bệnh lâu ngày gây yếu, tâm hồi hộp, suy tim kiệt sức, hay choáng ngất.
- Thành phần hóa học:
Saponin.

Thành phần chính trong Nhân sâm là các saponin triterpenoid nhóm dammaran gọi chung là ginsenosid. Hàm lượng saponin trong rễ củ chính vào khoảng 3,3%. Ở rễ con hàm lượng saponin có thể tới 6,4%. Rễ sâm trồng có hàm lượng saponin thấp hơn sâm mọc hoang.

- Tác dụng dược lý:

Ginsenosid hoặc dịch chiết từ Nhân sâm có những tác dụng sau:

Kháng histamin: ngăn ngừa hiện tượng co thắt ruột chó gây ra do tiêm histamin phosphat.

+ Kháng cholin: giảm co thắt ruột của chuột lang cô lập khi gây co thắt bởi acetyl cholin.

+ Giảm lượng cholesterol của huyết thanh thí nghiệm trên chuột.

+ Tác dụng làm giảm hoạt động nhưng lại làm thức tỉnh, trên chuột làm thí nghiệm thấy nằm nhiều nhưng ngủ ít.

+ Có tác dụng chống stress ở chuột thí nghiệm.

+ Tăng khả năng nhận biết và trí nhớ của chuột.

+ Trên huyết áp có hai giai đoạn nâng và hạ.

+ Tác dụng kích thích tổng hợp ARN trên gan chuột công nếu tiêm ginsenosid vào màng bụng 4 giờ trước khi tiêm các chất tiền sinh.

+ Tác dụng chuyển glucose thành glycogen, ngăn ngừa hiện tượng giảm glycogen, ATP hoặc creatin phosphat và ngăn ngừa hiện tượng tăng acid lactic và acid pyruvic trong cơ của chuột công thí nghiệm bằng phương pháp cho chuột bơi, do đó cung cấp nhanh chóng năng lượng cho cơ hoạt động. Ginsenosid có tác dụng tăng sức nếu đưa thuốc vào dạ dày chuột nhắt trắng trước khi làm thí nghiệm cho chuột chạy đến kiệt sức.

+ Tăng bài niệu kèm thải urê.

+ Tăng tác dụng bảo vệ cơ thể đối với bức xạ tốt hơn ionol.

+ Tác dụng giảm sốt, giảm đau do thấp khớp.

+ Tác dụng tăng tính dục, Ginsenosid Rc có tác dụng tăng tính linh động của tinh trùng.

+ Tác dụng kích thích miễn dịch.

- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 4 g đến 10 g. Dạng thuốc hãm hoặc lấy dịch chiết bằng cách: Thái lát mỏng cho vào chén sứ, thêm ít nước, đậy nắp, đun cách thủy đến khi chiết hết mùi vị.

- Kiêng kỵ: Không được dùng phối hợp với Lê lô, Ngũ linh chi [27],[28],[29].

1.6.2.2. Mạch môn (*Radix Ophiopogonis japonici*)



Ảnh 1.2: Mạch môn (*Radix Ophiopogonis japonici*)

- Tên khoa học: *Radix Ophiopogonis japonici*

Mạch môn là rễ phơi hay sấy khô của cây Mạch môn - *Mạch môn (Ophiopogon japonicus (Thunb.) Ker. Gawl)*. họ Mạch môn – Convallariaceae.

- Tính vị, quy kinh: Cam, vi khổ, vi hàn. Vào các kinh tâm, phế, vị.

- Công năng, chủ trị: dưỡng âm sinh tân, nhuận phế thanh hỏa, trừ phiền nhiệt, chỉ khái huyết, hóa đờm, chỉ ho, dùng chữa hư hao, ho, thổ huyết, ho ra máu, miệng khô khát, bệnh nhiệt tân dịch khô.

- Thành phần hóa học và tác dụng dược lý:

+ Theo các nghiên cứu, mạch môn có chứa nhiều steroid, saponin, homoisoflavonoid, eudesmane sesquiterpenodi và poly. Các hợp chất này đã được phân lập từ các bộ phận khác nhau của mạch môn. Trong đó steroide, saponin và homoisoflavonoid là những thành phần có hoạt phổ rộng, được xem như là thành phần chính của mạch môn (*O. japonicus*) [30].

+ Qua các nghiên cứu đã công bố cho thấy, thành phần chính của rễ củ mạch môn là các hợp chất saponin có khung steroid, các hợp chất homoisoflavonoid, các polysaccharide, các hợp chất eudesmane sesquiterpenoid. Những hợp chất này thể hiện đa dạng các hoạt tính sinh học như: kháng viêm, chống oxy hóa, gây độc tế bào, phòng và điều trị bệnh ... [31],[32],[33].

+ Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng, việc dư thừa NO gây ra tình trạng viêm, sản xuất quá nhiều NO trong hệ thần kinh trung ương dẫn đến những tổn hại thần kinh, thúc đẩy một số rối loạn thần kinh khác nhau như parkinson và alzheimer. Chính vì vậy, việc ức chế quá trình sản sinh ra NO được coi là một phương án tiềm năng để phòng chống và điều trị các bệnh viêm liên quan đến hệ thần kinh. Peng-Fei Tu cùng các cộng sự sau khi phân lập được các homoisoflavonoid từ rễ củ mạch môn đã tiến hành khảo sát hoạt tính kháng viêm của các hợp chất này thông qua quá trình ức chế sự sản sinh của NO đã thể hiện tác dụng ức chế sự sản sinh NO đầy tiềm năng [33].

+ Các hợp chất homoisoflavonoid cũng đã được các nhà khoa học tiến hành khảo sát hoạt tính kháng viêm thông qua tác động của chúng lên sự phát sinh các yếu tố gây viêm chemokine eotaxin với sự kích thích của yếu tố IL-4 và sự kết hợp của IL-4 với yếu tố hoại tử khối u TNF- α trong các tế bào BEAS-2B để bắt chước điều kiện cơ thể sống trong bệnh hen phế quản dị ứng. Kết quả khảo sát cho thấy, homoisoflavonoid từ rễ củ mạch môn góp phần mang lại nhiều tác dụng hữu ích trong việc điều trị bệnh hen suyễn dị ứng [33]. Ngoài ra, nhóm dẫn xuất ruscogenin đã thể hiện hoạt tính kháng viêm qua con đường ICAM-1, TNF- α và NF- κ B, ức chế thể hiện qua iNOS, caveolin-1 và CD31 [31]. Nghiên cứu trên in vitro đã chỉ ra rằng opiopogonin C ức chế leukocyteendothelial thông qua kháng histamin hoặc ức chế protein kinase C [34].

- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 6g đến 12g. Dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

- Kiên kỵ: Tỳ vị hư hàn, ăn uống chậm tiêu, ỉa chảy không nên dùng [27],[28],[29].

1.6.2.3. Ngũ vị tử (*Fructus Schisandrae chinensis*)



Ảnh 1.3: Ngũ vị tử (*Fructus Schisandrae chinensis*)

- Tên khoa học: *Fructus Schisandrae chinensis*.

- Tính vị, quy kinh: Toan, hàn, ôn. Quy vào kinh phế, thận.

- Công năng, chủ trị: Liễm phế chỉ ho, sinh tân chỉ hàn, bổ thận cố tinh, chỉ tả, an thần. Chủ trị: Ho lâu ngày và hư suyễn, mộng tinh, di tinh, hoạt tinh, đái dầm, niệu tan, tiêu chảy kéo dài, tỵ hãn, đạo hãn, tân dịch hao tổn, háo khát, mạch hư, nội nhiệt, tiêu khát, đánh trống ngực và mất ngủ.

- Thành phần hóa học: gồm có sesquicarene, b-bisabolene, b-chamigrene, a-ylangene, schizandrin, pseudo-g-schizandrin, deoxyschizandrin, schzandrol, citral, stigmasterol, vitamin C, vitamin E.

- Tác dụng dược lý:

+ Đối với hệ thần kinh trung ương: Thuốc có tác dụng làm cân bằng 2 quá trình hưng phấn và ức chế của vỏ não. Ngũ vị tử có tác dụng nâng cao trí lực hiệu suất và chất lượng công tác. Chất schizandrin có tác dụng giảm đau, an thần và giải nhiệt.

+ Tác động đối với hệ thần kinh ngoại biên: Uống hoặc chích vào khoang bụng chuột nhất chất schizandrin thấy có tác dụng kích thích hệ thống tiết ra chất cholin, liều nhỏ có tác dụng kích thích tiếp nhận chất nicotin.

+ Đối với hệ hô hấp: Nước sắc Ngũ vị tử kích thích hô hấp qua tác động trực tiếp trên hệ thống thần kinh trung ương. Thuốc được dùng để hỗ trợ hô hấp bị suy do dùng morphin. Nước sắc Ngũ vị tử có tác dụng hưng phấn hô hấp rõ, đồng thời có tác dụng hoá đàm, chỉ khái.

+ Đối với hệ tim mạch: Ngũ vị tử không có tác dụng đối với áp huyết. Khi chích tĩnh mạch lượng lớn Ngũ vị tử thì thấy hạ huyết áp. Tác dụng này xảy ra nếu bỏ chất acidic tự nhiên đi. Dịch chiết alcol của Ngũ vị tử có tác dụng giãn mạch.

+ Tác dụng khác: ức chế vi khuẩn, kháng virus, làm tăng dự trữ glycogen và glucose ở gan...

- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 1,5g đến 6g, phối hợp trong các bài thuốc.

- Kiên kỵ: Đang cảm sốt cao, lên sởi, sốt phát ban [27],[28],[29].

1.6.2.4. Cát căn (*Radix Puerariae Thomsonii*)



Ảnh 1.4: Cát căn (*Radix Puerariae Thomsonii*)

Rễ củ đã phơi hay sấy khô của cây sắn dây – *Pueraria thomsonii* Benth., thuộc phân họ đậu – Faboideae, họ Đậu – Fabaceae.

- Tên khoa học: *Radix Puerariae Thomsonii*.

- Tính vị, quy kinh: Tân, cam, lương. Quy vào các kinh tỳ, vị.

- Công năng, chủ trị: Giải cơ, thoát nhiệt, thấu chẩn, sinh tân chỉ khát, thăng tỳ dương để chỉ tả. Chủ trị: sốt, cứng gáy, khát, tiêu khát, sởi chưa mọc, lỵ, ỉa chảy do ngoại tà.

- Thành phần hóa học: genistein, formononetin, daidzein-8-C-apiosyl (1@6)-glucoside), genistein-8-C-apiosyl (1@6)- glucoside), puerarinxyloside, PG 2, 3'-hydroxypuerarin PG-1, 3'-methoxypuerarin, PG-3

- Tác dụng dược lý:

+ Tác dụng giải nhiệt: Trên động vật thực nghiệm, nước sắc Cát căn có tác dụng giải nhiệt mạnh (Nghiên cứu dược lý tác dụng giải nhiệt một số thuốc Trung y, Tạp chí Trung Hoa Y học 1956, 42 (10): 964-967).

+ Tác dụng giãn cơ: Chất daidzein có tác dụng giãn cơ ở ruột của chuột, tương tự như chất spasmaverine.

+ Tác dụng đối với tim mạch: Chích chất puerarin vào động mạch cảnh trong của chó được gây mê, thấy tăng lưu lượng máu trong não và giảm sức đề kháng của mạch máu, tác dụng này kéo dài khoảng 20 phút. Chích tĩnh mạch có tác dụng nhẹ hơn và không thể so sánh với hiệu quả của epinephrin hoặc norepinephrine. Cát căn thường làm tăng lưu lượng máu trong não người bị xơ vữa động mạch. Chất tincture hoặc chất puerarin của Cát căn làm tăng lưu lượng máu trong động mạch vành của chó.

- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 9g đến 15g [27],[28],[29].

1.6.2.5. Cam thảo (*Radix et Rhizoma Glycyrrhizae*)



Ảnh 1.5: Cam thảo (*Radix et Rhizoma Glycyrrhizae*)

Chi *Glycyrrhiza* có nhiều loài và thứ khác nhau. Dược điển Việt Nam V quy định dùng rễ phơi hay sấy khô của 3 loài Cam thảo là: *Glycyrrhiza uralensis* Fisher, *Glycyrrhiza inflata* Bat. và *Glycyrrhiza* L. Họ Đậu – Fabaceae.

- Tên khoa học: *Radix et Rhizoma Glycyrrhizae*.

- Tính vị, quy kinh: Cam, bình. Vào các kinh tâm, phế, tỳ, vị và thông 12 kinh.

- Công năng, chủ trị: Kiện tỳ ích khí, nhuận phế chỉ ho, giải độc, chỉ thống, điều hòa tác dụng các vị thuốc trong bài thuốc. Chích Cam thảo: Bổ tỳ, ích khí, phục mạch.

- Thành phần hóa học: Rễ của Cam thảo – *G. uralensis* chứa glucid 4,7-10,97%, tinh bột 4,17-5,92%. Hoạt chất thuộc nhóm sapanosid là glycyrrhizin; thuộc nhóm flavonoid là liquiritin, liquiritigenin, isoliquiritin, isoliquiritigenin, neo-liquiritin, neoisoliquiritin, licurazid. Rễ Cam thảo nhẵn – *G. glabra* chứa 20-25% tinh bột, 3-

10% glucose và saccharose, các cumarin, triterpen và các sterol. Dược liệu chứa các hoạt chất saponin triterpene và flavonoid.

- Tác dụng dược lý:

+ Dịch chiết Cam thảo có tác dụng chống loét dạ dày.

+ Tác dụng long đờm do các saponin: tương tự như cortisol, glycyrrhizin làm giữ nước trong cơ thể kèm theo tích các ion Na^+ và Cl^- và tăng thải ion K^+ , giảm lượng nước tiêu, tăng huyết áp.

+ Tác dụng ức chế enzym monoaminoxidase (MAO) của 2 hoạt chất liquiritigenin và isoliquiritigenin cũng được phát hiện.

+ Nghiên cứu gần đây còn cho thấy Cam thảo có tác dụng nâng cao khả năng miễn dịch của cơ thể.

+ Thông qua tác dụng hưng phấn hạ khâu não - tuyến tùng - vỏ thượng thận, tạo ra tác dụng giống như kích tổ vỏ thượng thận, vai trò của nó tương tự như phenylbutazine hoặc hydrocortisone ức chế phản ứng sốt tại trung khu thân nhiệt, giảm giải phóng các chất gây sốt nội sinh. Hiệu quả giảm nhiệt rất nhanh chóng và khả quan.

- Cách dùng, liều lượng: 4-80g/ngày.

- Kiêng kỵ: Cam thảo Không dùng chung với các vị Đại kích, Nguyên hoa, Hải táo, Cam toại [27],[29],[35].

Chương 2

CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu và phương tiện nghiên cứu

2.1.1. Chất liệu nghiên cứu

Chất liệu nghiên cứu là Cao khô Thanh nhiệt, được bào chế từ bài thuốc Thanh nhiệt (bảng 2.1), xây dựng trên cơ sở bài thuốc cổ phương “Sinh mạch tán” gia thêm 2 vị Cát căn và Cam thảo. Các dược liệu đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V [27].

Bảng 2.1: Thành phần bài thuốc Thanh nhiệt

STT	Tên vị thuốc	Tên khoa học	Liều (gam)
1	Nhân sâm	<i>Radix Ginseng</i>	10
2	Mạch môn	<i>Radix Ophiopogonis japonici</i>	15
3	Ngũ vị tử	<i>Fructus Schisandrae chinensis</i>	5
4	Cát căn	<i>Radix Puerariae Thomsonii</i>	10
5	Cam thảo	<i>Radix et Rhizoma Glycyrrhizae</i>	5
<i>Tổng</i>			45 (g)

Cao khô Thanh nhiệt được bào chế theo quy trình công nghệ của Trung tâm nhiệt đới Việt - Nga, đạt tiêu chuẩn cơ sở. Đóng gói: đóng túi PE 2 lớp, có nhãn đúng quy định. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Liều dự kiến sử dụng trên người là 3,75g cao khô dược liệu/người/ngày, hay 75mg cao khô dược liệu/kg/24h. Qui đổi ra liều dự kiến có tác dụng ở chuột nhắt trắng (hệ số 12) là $75 \times 12 = 900 \text{ mg/kg/24h}$; liều dự kiến có tác dụng ở chuột cống trắng (hệ số 7) là $75 \times 7 = 525 \text{ mg/kg/24h}$ [36].

- Dạng dùng trong nghiên cứu thực nghiệm: cao khô Thanh nhiệt được hòa tan trong nước cất ở các nồng độ khác nhau cho chuột uống để đánh giá tính an toàn và tác dụng dược lý trên thực nghiệm.

2.1.2. Phương tiện nghiên cứu

- Máy xét nghiệm sinh hoá tự động Chemix 180 hãng Sysmex;
- Máy xét nghiệm huyết học tự động XE2100, hãng Sysmex;
- Buồng Vi khí hậu 21(VKH 21);
- Hệ thống PowerLab với các cảm biến: cảm biến nhiệt độ MLT 415/D, cảm biến huyết áp MLT 844, cảm biến ghi điện tim MLA 2540 (Nhật Bản);
- Cân phân tích 10-4, model CP224S (Sartorius - Đức);
- Bộ dụng cụ phẫu thuật động vật cỡ nhỏ, hóa chất và các dụng cụ thí nghiệm khác.

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

2.2.1. Địa điểm nghiên cứu

Bộ môn Dược lý – Học viện Quân y.

2.2.2. Thời gian nghiên cứu

Từ tháng 05/2022 đến tháng 12/2022.

2.3. Động vật nghiên cứu

Bảng 2.2. Động vật nghiên cứu

Động vật	Sl	Tiêu chuẩn	Nghiên cứu
Chuột nhắt trắng chủng Swiss	08	Khỏe mạnh, trọng lượng $20,0 \pm 2,0g$	Độc tính cấp
Chuột cống trắng chủng Wistar	30	Khỏe mạnh, trọng lượng $180 \pm 20g$	Độc tính bán trường diễn
	90	Khỏe mạnh, trọng lượng 200-250g	Tác dụng tăng khả năng chịu đựng với gánh nặng nhiệt

- Động vật thí nghiệm do Ban chăn nuôi - Học viện Quân y cung cấp, nuôi dưỡng trong phòng nuôi động vật thí nghiệm ít nhất một tuần trước khi tiến hành thí nghiệm. Động vật ăn theo tiêu chuẩn động vật nghiên cứu, nước sạch đun sôi để nguội uống tự do.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

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

2.4.1. Đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn

2.4.1.1. Đánh giá độc tính cấp

* Động vật dùng trong nghiên cứu:

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, gồm 08 con, cân nặng $20,0 \pm 2,0g$, được nuôi trong phòng thí nghiệm bảo đảm theo yêu cầu.

* Phương pháp thực hiện:

Độc tính cấp của cao khô Thanh nhiệt trên động vật thực nghiệm được xác định bằng đường uống theo phương pháp thử nghiệm giới hạn áp dụng cho mẫu thử có nguồn gốc từ thực vật ít độc tính, theo hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu của Bộ y tế [37].

* Thí nghiệm:

Chuột nhắt trắng khỏe mạnh, được cho nhịn ăn 15 giờ trước khi thí nghiệm. Cho chuột uống cao khô Thanh nhiệt với liều tăng dần (1,0g/kg; 2,0g/kg; 5,0g/kg; 10,0g/kg) trong thử nghiệm sơ bộ, mỗi mức liều thử trên 01 chuột. Thử nghiệm giới hạn với liều 10,0g/kg được tiến hành khi ở tất cả các mức liều đã thử chuột đều sống và không có biểu hiện độc tính. Tiếp tục cho 04 chuột khác uống mẫu thử với liều 10,0g/kg. Theo dõi trong 7 ngày, sau đó tiếp tục theo dõi cho đến hết 14 ngày. Nếu có 3 con chết thì dừng thử nghiệm giới hạn, tiến hành thử nghiệm chính thức theo nguyên tắc giảm liều. Trong trường hợp này, LD₅₀ nhỏ hơn mức liều giới hạn. Nếu có ít nhất 3 con sống thì LD₅₀ lớn hơn mức liều giới hạn đã thử, dừng thử nghiệm và theo dõi tiếp cho đủ thời gian quy định hoặc tiến hành thử nghiệm chính thức ở các mức liều cao hơn để tính được giá trị LD₅₀ nếu thấy cần thiết hoặc giảm để xác định mức liều không gây triệu chứng ngộ độc gì.

2.4.1.2. Đánh giá độc tính bán trường diễn

* Động vật dùng trong nghiên cứu:

Chuột cống trắng trưởng thành cả hai giống, khỏe mạnh, gồm 30 con, cân nặng 180 ± 20 g. Chuột cống trắng được chia thành 3 lô, mỗi lô 10 con. Chuột được cho uống thuốc thử hoặc nước cất liên tục trong 60 ngày, thể tích cho uống là 5ml/kg/24 h.

- Lô chứng sinh lý: uống nước cất.
- Lô trị 1: uống cao khô Thanh nhiệt, liều 525 mg/kg/24h.
- Lô trị 2: uống cao khô Thanh nhiệt, liều 1575 mg/kg/24h.

* Phương pháp thực hiện:

Độc tính bán trường diễn của chế phẩm trên động vật thực nghiệm được xác định theo hướng dẫn của WHO, OECD, quy chế đánh giá tính an toàn và hiệu lực thuốc cổ truyền của Bộ Y tế [37],[38],[39].

* Các chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình nghiên cứu:

- Tình trạng chung và thể trọng của chuột.
- Đánh giá chức năng gan thông qua định lượng một số enzym và chất chuyển hóa trong máu: ALT, AST, cholesterol, albumin.

- Đánh giá chức năng thận thông qua định lượng nồng độ creatinin huyết thanh. Các thông số theo dõi được kiểm tra vào trước lúc uống thuốc, sau 30 ngày và sau 60 ngày uống thuốc.

- Mô bệnh học: Xét nghiệm vi thể được thực hiện sau 60 ngày uống thuốc, chuột được mổ để quan sát đại thể toàn bộ các cơ quan. Kiểm tra ngẫu nhiên cấu trúc vi thể gan, thận, lách của 30% số chuột ở mỗi lô.

2.4.2. Đánh giá tác dụng tăng khả năng chịu đựng với gánh nặng nhiệt của cao khô Thanh nhiệt trên mô hình thực nghiệm

* Động vật thí nghiệm: gồm 90 con chuột cống 7 tuần tuổi, khối lượng nặng khoảng 200 - 250 gam. Toàn bộ chuột cống được chia thành 3 nhóm: nhóm chứng, nhóm dùng placebo và nhóm nghiên cứu, mỗi nhóm 30 con.

- Mỗi nhóm placebo và nhóm nghiên cứu được chia ra thành 3 nhóm:

+ Nhóm theo dõi triệu chứng tim mạch, hô hấp và xét nghiệm huyết học, sinh hoá: 10 con;

+ Nhóm theo dõi triệu chứng vận động: 10 con;

+ Nhóm theo dõi thời gian sống sót: 10 con.

- Nhóm chứng: Cho tiếp xúc với điều kiện không khí bình thường, nhiệt độ $25 \pm 20^{\circ}\text{C}$, độ ẩm không khí 40-50%, chu kỳ sáng tối là 12/12, chế độ dinh dưỡng duy trì như bình thường.

* Tiến hành nghiên cứu:

- Phương pháp tạo gánh nặng nhiệt: sử dụng mô hình tạo gánh nặng nhiệt của Chi Chyuan Liu [8],[40]:

+ Buồng vi khí hậu 21: được thiết kế bằng lồng kính không màu, do đó quan sát được phía bên trong dễ dàng. Buồng VKH 21 có thể điều chỉnh nhiệt độ và độ ẩm theo mục đích nghiên cứu thông qua các cảm biến về nhiệt độ và cảm biến về độ ẩm.

+ Phương pháp tạo gánh nặng nhiệt theo mô hình của Chi-Chyuan Liu: chuột nghiên cứu sẽ được đặt vào buồng vi khí hậu, duy trì điều kiện nhiệt độ 40°C , độ ẩm 60% trong thời gian 30 phút.

Chuột được cho uống cưỡng bức, nước cất hoặc thuốc nghiên cứu được đưa thẳng vào dạ dày chuột bằng kim cong đầu tù. Sau thời điểm uống nước cất hoặc thuốc nghiên cứu 60 phút, chuột được đưa vào buồng VKH 21 duy trì điều kiện nhiệt độ 40°C , độ ẩm 60% để chịu gánh nặng nhiệt.

* Các chỉ tiêu nghiên cứu và phương pháp xác định:

- Các chỉ tiêu thân nhiệt, huyết áp, tần số tim:

Sau thời điểm uống nước cất hoặc thuốc nghiên cứu 60 phút, chuột được gây mê bằng ketamin tiêm dưới da bụng, cố định trên bảng gỗ, phẫu tích bộc lộ động mạch cảnh bên trái, đặt cathete có gắn cảm biến MLT 844 vào lòng động mạch cảnh trái và cố định điện cực theo dõi huyết áp. Tiếp theo, gắn 3 điện cực kim có cảm biến MLA 2540 vào 2 chi trước và chi sau phải theo dõi điện tim. Đặt đầu đo nhiệt độ gắn

cảm biến MLT 415/D vào hậu môn chuột để theo dõi thân nhiệt. Tất cả các điện cực được kết nối với hệ thống Power Lab để ghi các dữ liệu, hiển thị liên tục các chỉ số huyết áp, tần số tim, thân nhiệt trên màn hình.

+ Thân nhiệt: thân nhiệt được theo dõi liên tục từ thời điểm trước khi đưa chuột vào buồng VKH 21 gây tăng thân nhiệt, suốt quá trình gây tăng thân nhiệt (30 phút) trong buồng VKH 21 và 30 phút sau khi đưa chuột ra khỏi buồng VKH 21.

+ Huyết áp được đo ở động mạch cảnh trái của chuột bằng catheter gắn cảm biến MLT 844.

+ Điện tim được ghi liên tục bằng điện cực kim gắn ở 2 chi trước và chi sau phải bằng cảm biến MLA 2540.

- Các chỉ tiêu huyết học, sinh hóa:

+ Sau thời điểm uống nước cất hoặc thuốc nghiên cứu 60 phút, chuột được gây mê bằng ketamin tiêm dưới da bụng, lấy máu lần thứ nhất ở vị trí hốc mắt, cố định chuột trên bảng gỗ. Sau khi lấy máu, cho chuột vào buồng VKH 21 duy trì điều kiện nhiệt độ 40°C, độ ẩm 60% để chịu gánh nặng nhiệt trong 30 phút, lấy máu lần thứ hai ở phút thứ 30. Các chỉ số huyết học được xét nghiệm bằng máy Sweab alpha của Uwelab, các chỉ số sinh hóa được xét nghiệm bằng máy BTS 350 của Biosystem.

+ Các chỉ số huyết học nghiên cứu: số lượng hồng cầu, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu, các thể tích và thông số hồng cầu.

+ Các chỉ số sinh hóa: hoạt độ enzym AST, ALT huyết tương, nồng độ ure, creatinin huyết tương, điện giải, calci máu, CK-MB, LDH, CPK, Myoglobin huyết tương.

- Thời gian sống sót:

Sau thời điểm uống nước cất hoặc thuốc nghiên cứu 60 phút, chuột được gây mê bằng ketamin tiêm dưới da bụng, cố định trên bảng gỗ, gắn 3 điện cực kim có cảm biến MLA 2540 vào 2 chi trước và chi sau bên phải theo dõi điện tim. Chuột được đặt vào buồng VKH 21 duy trì nhiệt độ 40°C, độ ẩm 60% thời gian theo dõi

không hạn chế. Xác định khoảng thời gian sống của chuột tính từ thời điểm bắt đầu cho chuột vào buồng VKH 21 đến khi chuột chết (điện tâm đồ là đường đẳng điện).

- Khả năng phối hợp vận động: đo trên thiết bị Rotarod. Cho chuột trèo lên trục quay ở chính giữa máy. Cho trục quay xung quanh mình nó với tốc độ 20 vòng/phút. Đếm thời gian chuột trụ được trên trục quay.

* Đánh giá khả năng chịu đựng gánh nặng nhiệt trên chuột dựa vào:

- Sự thay đổi thân nhiệt của chuột khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt trong buồng VKH 21.

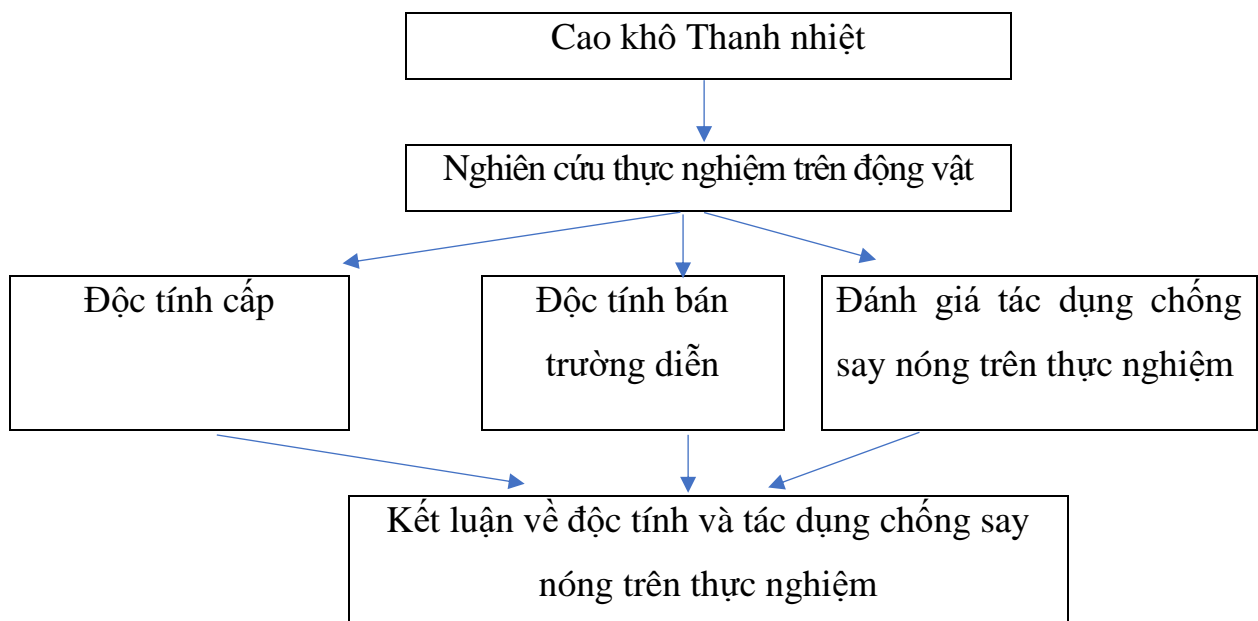
- Sự thay đổi của các chỉ số huyết học, hóa sinh máu (chức năng gan, chức năng thận, điện giải đồ) sau khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt trong buồng VKH 21.

- Biến đổi và khả năng phục hồi chức năng tim mạch khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt trong buồng VKH 21.

- Sự thay đổi khả năng phối hợp vận động.

- Thời gian sống của chuột khi chịu tác động liên tục của gánh nặng nhiệt trong buồng VKH 21.

2.5. Sơ đồ nghiên cứu



2.6. Xử lý và phân tích số liệu

- Số liệu nghiên cứu được trình bày dưới dạng: số trung bình \pm độ lệch chuẩn ($\bar{x} \pm SD$).
- So sánh hai trung bình bằng T-test Student và thuật toán Kaplan-Mayer.
- Khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.7. Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên chuột nhắt trắng và chuột cống trắng, số lượng động vật sử dụng trong các mô hình thí nghiệm phù hợp, đủ để thu được kết quả đảm bảo độ tin cậy và đủ xử lý thống kê.

Số chuột sau khi thí nghiệm hoàn thành đều được xử lý theo đúng quy định.

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

2.8. Sai số và không 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 sổ ghi chép, chụp ảnh.

+ Xử lý số liệu bằng phần mềm chuyên dụng trên máy tính.

Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả đánh giá độc tính cấp, bán trường diễn của cao khô Thanh nhiệt trên thực nghiệm

3.1.1. Kết quả đánh giá độc tính cấp

Sau khi cho chuột uống cao khô Thanh nhiệt với liều tăng dần (1,0g/kg; 2,0g/kg; 5,0g/kg; 10,0g/kg) trong thử nghiệm sơ bộ, mỗi mức liều thử trên 01 chuột, tất cả các chuột đều sống và không có biểu hiện độc tính.

Thử nghiệm giới hạn với liều 10,0g/kg được tiến hành, tiếp tục cho 04 chuột khác uống mẫu thử với liều 10,0g/kg.

Kết quả theo dõi trong 7 ngày cho thấy tất cả các chuột uống mẫu thử đều sống và không có biểu hiện độc tính.

Các chuột được theo dõi tiếp cho đến hết 14 ngày, quan sát thấy chuột hoạt động, ăn uống bình thường, không có biểu hiện độc tính.

Như vậy, chưa xác định được LD₅₀ của cao khô Thanh nhiệt theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Với mức liều cao nhất cho chuột uống trong 24h là 10,0g/kg thể trọng không xuất hiện độc tính cấp.

3.1.2. Kết quả đánh giá độc tính bán trường diễn

3.1.2.1. Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt lên tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng của chuột cống trắng khi dùng dài ngày

a. Tình trạng chung

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

b. Sự thay đổi thể trọng của chuột

Bảng 3.1: Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt đối với thể trọng chuột (n = 10)

Thời điểm XN	Lô chúng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	pgiữa các lô
Trọng lượng cơ thể ($\bar{x} \pm SD$)				
Trước thí nghiệm (a)	186,38 $\pm 4,60$	188,15 $\pm 4,93$	186,89 $\pm 5,12$	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	210,36 $\pm 4,56$	211,18 $\pm 5,25$	210,10 $\pm 5,08$	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$
Sau 60 ngày (c)	221,25 $\pm 4,36$	222,31 $\pm 3,45$	221,83 $\pm 4,68$	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$
Ptrong cùng lô	$p_{b,c-a} < 0,01; p_{c-b} < 0,01$			-

Nhận xét:

- Tại thời điểm ban đầu, thể trọng chuột ở các lô là tương đương ($p > 0,05$).
 - So sánh giữa các thời điểm sau so với trước thấy thể trọng chuột của cả ba lô nghiên cứu đều tăng, sự thay đổi có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.
 - Tại các thời điểm sau 30 ngày và 60 ngày uống thuốc, thể trọng chuột các lô cho uống cao khô Thanh nhiệt không có sự khác biệt so với ở lô chúng sinh lý ($p > 0,05$).
- Như vậy cao khô Thanh nhiệt với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không ảnh hưởng đến sự phát triển thể trọng của chuột.

3.1.2.2. Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt đối với một số chỉ tiêu huyết học của chuột

Kết quả được trình bày ở các bảng 3.2, 3.3 và 3.4:

Bảng 3.2: Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt lên số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chúng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	pgiữa các lô
Số lượng hồng cầu chuột ($\times 10^{12}/l$)				
Trước thí nghiệm (a)	$7,05 \pm 0,56$	$6,95 \pm 0,52$	$6,92 \pm 0,76$	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	$6,98 \pm 0,54$	$7,11 \pm 0,68$	$7,09 \pm 0,59$	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 60 ngày (c)	$7,02 \pm 0,58$	$7,06 \pm 0,49$	$7,01 \pm 0,52$	$p_{3-1} > 0,05$
Trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-
Hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột (g/dL)				
Trước thí nghiệm (a)	$13,02 \pm 0,82$	$12,96 \pm 0,75$	$12,93 \pm 0,97$	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	$12,86 \pm 1,03$	$13,02 \pm 0,98$	$12,98 \pm 1,12$	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 60 ngày (c)	$12,85 \pm 1,16$	$13,06 \pm 0,82$	$13,04 \pm 0,74$	$p_{3-1} > 0,05$
Trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-

Nhận xét:

- So sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Như vậy cao khô Thanh nhiệt với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên các chỉ tiêu về số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột.

Bảng 3.3: Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt lên hematocrit và thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chúng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	P giữa các lô
Hematocrit (%)				
Trước thí nghiệm (a)	32,81 ± 2,30	32,79 ± 2,45	32,69 ± 2,25	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	32,56 ± 1,69	33,04 ± 1,94	32,94 ± 1,98	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 60 ngày (c)	32,65 ± 2,21	32,88 ± 1,76	32,69 ± 2,19	$p_{3-1} > 0,05$
P trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-
Thể tích trung bình hồng cầu (fl)				
Trước thí nghiệm (a)	46,68 ± 1,38	46,85 ± 1,63	46,28 ± 2,11	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	46,35 ± 2,19	46,57 ± 1,45	46,64 ± 1,38	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 60 ngày (c)	46,89 ± 1,67	46,72 ± 1,96	46,51 ± 2,21	$p_{3-1} > 0,05$
P trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-

Nhận xét:

- So sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, hematocrit và thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, hematocrit và thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Như vậy cao khô Thanh nhiệt với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên các chỉ tiêu về hematocrit và thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột.

Bảng 3.4: Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt lên số lượng bạch cầu và tiểu cầu trong máu chuột ($n = 10$, $\bar{x} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chúng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	p giữa các lô
Số lượng bạch cầu (G/l)				
Trước thí nghiệm (a)	6,92 ± 0,96	7,02 ± 1,71	6,95 ± 0,95	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	6,89 ± 1,12	6,86 ± 1,05	7,09 ± 1,12	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 60 ngày (c)	6,79 ± 1,68	6,94 ± 1,12	7,15 ± 1,71	$p_{3-1} > 0,05$
P trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-
Số lượng tiểu cầu (G/l)				
Trước thí nghiệm (a)	546,92 ± 91,12	533,86 ± 58,69	528,41 ± 83,96	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	514,16 ± 97,57	542,42 ± 76,94	532,95 ± 71,72	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 60 ngày (c)	525,81 ± 110,02	519,33 ± 84,36	560,91 ± 90,18	$p_{3-1} > 0,05$
P trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-

Nhận xét:

- So sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, số lượng bạch cầu và số lượng tiểu cầu trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, số lượng bạch cầu và số lượng tiểu cầu trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Như vậy cao khô Thanh nhiệt với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên các chỉ tiêu về số lượng bạch cầu và số lượng tiểu cầu trong máu chuột.

3.1.2.3. Đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan khi dùng cao khô Thanh nhiệt dài ngày

Kết quả được trình bày ở bảng 3.5:

Bảng 3.5: Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt đối với hoạt độ AST và ALT ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	P giữa các lô
Hoạt độ AST (UI/l)				
Trước thí nghiệm (a)	95,72 ± 13,39	96,86 ± 12,83	96,19 ± 16,57	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	100,69 ± 14,54	95,38 ± 15,72	94,93 ± 14,95	
Sau 60 ngày (c)	105,21 ± 12,36	94,15 ± 13,99	93,86 ± 16,18	
P trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-
Hoạt độ ALT (UI/l)				
Trước thí nghiệm (a)	73,46 ± 14,29	75,23 ± 9,98	74,67 ± 10,26	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	71,67 ± 13,40	71,46 ± 10,12	73,96 ± 11,15	
Sau 60 ngày (c)	70,92 ± 9,33	71,62 ± 9,72	75,17 ± 10,63	
P trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-

Nhận xét:

- So sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, hoạt độ các enzym AST và ALT trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, hoạt độ các enzym AST và ALT trong máu của chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

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

3.1.2.4. Đánh giá ảnh hưởng lên chức năng gan khi dùng cao khô Thanh nhiệt dài ngày

Kết quả được trình bày ở bảng 3.6:

Bảng 3.6: Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt lên các chỉ số albumin và bilirubin toàn phần trong máu (n = 10, $\bar{x} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	P giữa các lô
Albumin huyết tương (g/l)				
Trước thí nghiệm (a)	22,06 ± 1,52	22,08 ± 1,65	22,19 ± 2,11	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	22,19 ± 1,89	22,63 ± 1,28	22,21 ± 1,14	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 60 ngày (c)	22,18 ± 1,35	22,42 ± 1,53	22,32 ± 0,99	$p_{3-1} > 0,05$
P trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-
Bilirubin toàn phần (μmol/L)				
Trước thí nghiệm (a)	49,21 ± 9,12	50,21 ± 6,86	51,21 ± 8,92	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	48,25 ± 9,68	47,46 ± 5,84	47,36 ± 7,63	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 60 ngày (c)	46,86 ± 9,15	46,31 ± 5,97	46,94 ± 8,21	$p_{3-1} > 0,05$
P trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-

Nhận xét:

- So sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, các chỉ số albumin và bilirubin toàn phần máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, các chỉ số albumin và bilirubin toàn phần máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Như vậy cao khô Thanh nhiệt với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi các chỉ số albumin và bilirubin toàn phần trong máu chuột nghiên cứu.

3.1.2.5. *Đánh giá ảnh hưởng lên cholesterol toàn phần máu khi dùng cao khô Thanh nhiệt dài ngày*

Kết quả được trình bày ở bảng 3.7:

Bảng 3.7: Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt lên cholesterol toàn phần trong máu ($n = 10$, $\bar{x} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	P giữa các lô
Cholesterol toàn phần (mmol/l)				
Trước thí nghiệm (a)	1,98 ± 0,32	2,01 ± 0,22	1,97 ± 0,35	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	2,04 ± 0,30	1,96 ± 0,24	1,94 ± 0,26	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$
Sau 60 ngày (c)	1,96 ± 0,31	1,99 ± 0,36	1,88 ± 0,29	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$
P trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-

Nhận xét:

- So sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, các chỉ số Cholesterol toàn phần máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, các chỉ số Cholesterol toàn phần máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Như vậy cao khô Thanh nhiệt với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi các chỉ số Cholesterol toàn phần máu chuột nghiên cứu.

3.1.2.6. *Đánh giá ảnh hưởng lên chức năng thận khi dùng cao khô Thanh nhiệt dài ngày*
 Kết quả được trình bày ở bảng 3.8:

Bảng 3.8: Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt lên hàm lượng creatinin máu chuột (n = 10, $\bar{x} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	P giữa các lô
Creatinin ($\mu\text{mol/l}$)				
Trước thí nghiệm (a)	81,66 $\pm 10,02$	84,94 $\pm 7,72$	85,81 $\pm 11,02$	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	83,48 $\pm 8,96$	84,43 $\pm 9,75$	88,15 $\pm 6,52$	
Sau 60 ngày (c)	84,96 $\pm 8,15$	83,19 $\pm 11,61$	85,62 $\pm 8,19$	
P trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-

Nhận xét:

- So sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, hàm lượng creatinin máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, hàm lượng creatinin máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Như vậy cao khô Thanh nhiệt với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi hàm lượng creatinin trong máu chuột nghiên cứu.

3.1.2.7. *Kết quả mô bệnh học tạng của chuột thí nghiệm*

Quan sát đại thể bằng mắt thường và dưới kính lúp có độ phóng đại 25 lần thấy: màu sắc, hình thái của gan, lách và thận ở hai lô dùng viên nang cứng cao khô Thanh nhiệt không khác so với chứng.



Ảnh 3.1: Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột lô chứng



Ảnh 3.2: Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột lô trị 1

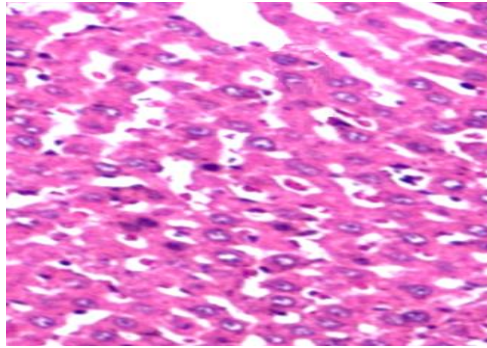


Ảnh 3.3: Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột lô trị 2

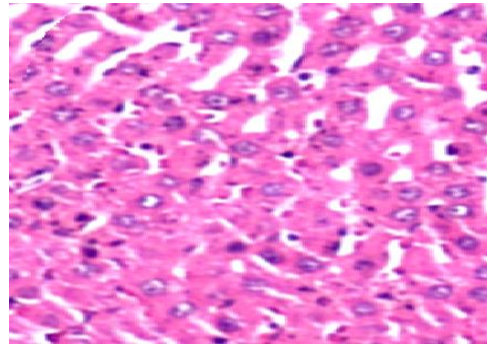
Nhận xét ảnh: Hình ảnh đại thể các tạng gan, lách, thận của chuột ở các lô trị 1 (ảnh 3.2), lô trị 2 (ảnh 3.3), là các lô cho uống viên nang cứng cao khô Thanh nhiệt, có màu nâu đỏ thẫm đồng đều, bề mặt nhẵn, không có u cục hoặc xuất huyết, có đàn hồi khi ấn xuống, không khác biệt so với hình ảnh gan, lách, thận của chuột ở lô chứng (ảnh 3.1).

Các tiêu bản mô bệnh học đọc tại Bộ môn khoa Giải phẫu bệnh - Pháp y, bệnh viện Quân y 103. Kết quả nghiên cứu về mô bệnh học gan, lách, thận chuột cho thấy cao khô Thanh nhiệt dùng đường uống với liều 525 mg/kg/24h và liều 1575 mg/kg/24h liên tục trong 60 ngày, không gây tổn thương trên gan, thận, lách của chuột.

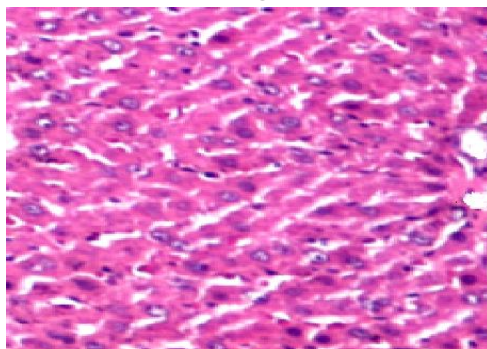
Hình ảnh mô bệnh học gan chuột sau 60 ngày uống thuốc



Ảnh 3.4: Hình ảnh vi thể gan chuột lô chứng. HE, x 400

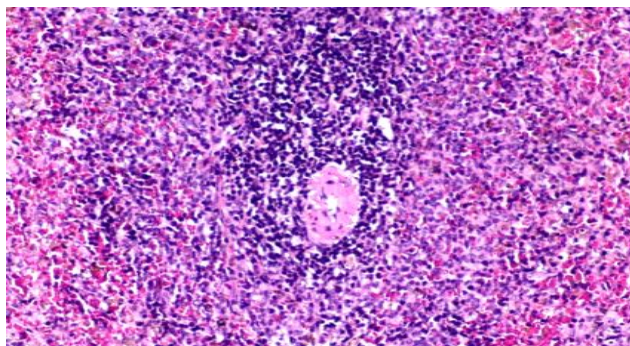


Ảnh 3.5: Hình ảnh vi thể gan chuột lô trị 1. HE, x 400

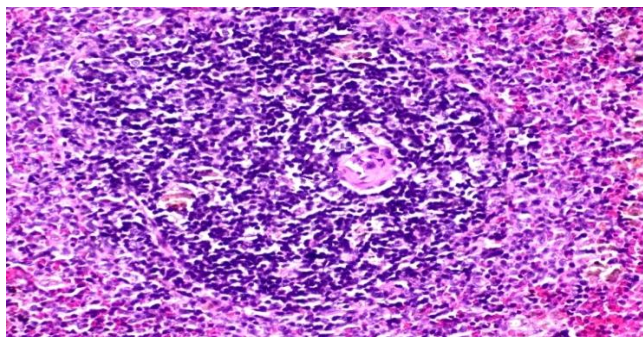


Ảnh 3.6: Hình ảnh vi thể gan chuột lô trị 2. HE, x 400

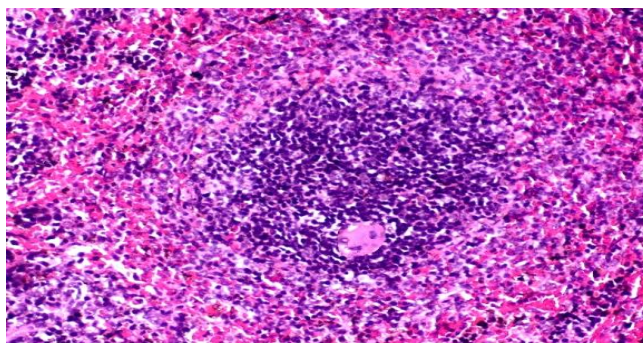
Nhận xét ảnh: Hình ảnh vi thể gan dưới kính hiển vi với độ khuếch đại 400 lần của chuột ở lô trị 1 (ảnh 3.5) và lô trị 2 (ảnh 3.6), là các lô cho cao khô Thanh nhiệt, không khác biệt so với hình ảnh vi thể gan chuột ở lô chứng (ảnh 3.4). Trên hình ảnh không thấy ở xuất huyết hoặc ổ hoại tử, thoái hóa tế bào gan.

Hình ảnh mô bệnh học lách chuột sau 60 ngày uống thuốc

Ảnh 3.7: Hình ảnh vi thể lách chuột lô chứng. HE, x 400

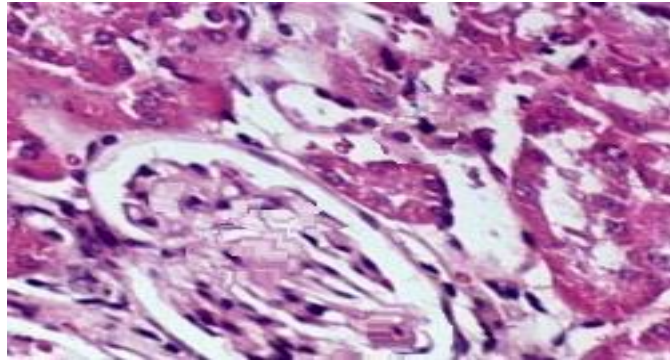


Ảnh 3.8: Hình ảnh vi thể lách chuột lô trị 1. HE, x 400

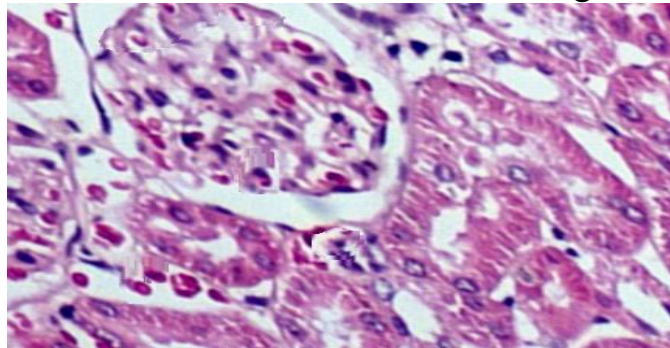


Ảnh 3.9: Hình ảnh vi thể lách chuột lô trị 2. HE, x 400

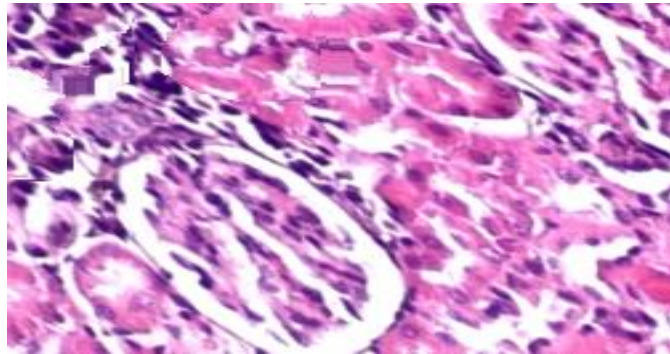
Nhận xét ảnh: Hình ảnh vi thể lách dưới kính hiển vi với độ khuếch đại 400 lần của chuột ở lô trị 1 (ảnh 3.8) và lô trị 2 (ảnh 3.9), là các lô cho uống cao khô Thanh nhiệt, không khác biệt so với hình ảnh vi thể lách chuột ở lô chứng (ảnh 3.7). Trên hình ảnh thấy vùng tủy trắng bắt màu xanh thẫm, tập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

Hình ảnh mô bệnh học thận chuột sau 60 ngày uống thuốc

Ảnh 3.10: Hình ảnh vi thể thận chuột lô chứng. HE, x 400



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



Ảnh 3.12: Hình ảnh vi thể thận chuột lô trị 2. HE, x 400

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

3.2. Đánh giá tác dụng tăng khả năng chịu đựng với gánh nặng nhiệt của cao khô Thanh nhiệt trên mô hình thực nghiệm

3.2.1. Kết quả theo dõi biến đổi thân nhiệt, huyết áp và tần số mạch của chuột khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt

Chuột được gây mê bằng ketamin, đặt các điện cực theo dõi huyết áp, nhiệt độ điện tim và nhịp tim. Chuột lô trị 1 và lô trị 2 cùng với lô chứng được tiến hành thí nghiệm như nhau, chịu tác động của gánh nặng nhiệt trong buồng VKH 21 ở nhiệt độ 40°C độ ẩm 60%, trong thời gian 30 phút, sau đó được đưa ra ngoài ở nhiệt độ phòng (26°C) và tiếp tục được theo dõi các chỉ tiêu.

Kết quả theo dõi cho thấy, nhiệt độ trung tâm của chuột tăng lên khi đưa chuột vào buồng VKH 21 ở nhiệt độ 40°C và độ ẩm 60%, nhiệt độ trung tâm đạt cao nhất ở thời điểm 30 phút ngay trước khi đưa ra khỏi buồng VKH 21. Sau khi chuột được đưa ra ngoài nhiệt độ phòng (26°C), nhiệt độ trung tâm của chuột giảm dần và hồi phục dần về nhiệt độ ban đầu sau 30 phút ra khỏi buồng.

Kết quả đo nhiệt độ trung tâm, tần số tim và huyết áp động mạch của chuột được thể hiện ở bảng 3.9, 3.10 và 3.11:

Bảng 3.9: Nhiệt độ trung tâm của chuột tại các thời điểm thí nghiệm khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt

Thời điểm đo	Nhiệt độ trung tâm (°C) ($\bar{x} \pm SD$)			p
	Lô chứng (1) (n = 10)	Lô 1 (2) (n = 10)	Lô 2 (3) (n = 10)	
Ban đầu	36,12 ± 0,43	36,05 ± 0,38	36,03 ± 0,41	> 0,05
Sau 30 phút chịu stress nhiệt	41,86 ± 0,48	40,85 ± 0,52	40,59 ± 0,48	$p_{2,3-1} < 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
Sau 60 phút	37,52 ± 0,56	36,93 ± 0,64	36,51 ± 0,53	> 0,05

Nhận xét: - Tại thời điểm sau 30 phút chịu stress nhiệt, nhiệt độ trung tâm của chuột ở lô chứng cao hơn so với lô trị 1 và lô trị 2 ($p < 0,05$). Nhiệt độ trung tâm của chuột ở 2 lô uống cao khô Thanh nhiệt không có sự khác biệt ($p > 0,05$).

- Tại thời điểm ban đầu cũng như sau 60 phút, nhiệt độ trung tâm của chuột ở các lô nghiên cứu không có sự khác biệt ($p > 0,05$).

Bảng 3.10: Tần số tim của chuột tại một số thời điểm thí nghiệm khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt

Thời điểm	Tần số tim (chu kỳ/phút) ($\bar{x} \pm SD$)			p
	Lô chứng (1) (n = 10)	Lô 1 (2) (n = 10)	Lô 2 (3) (n = 10)	
Ban đầu	369,52 ± 32,86	363,29 ± 46,74	361,98 ± 41,82	> 0,05
Sau 30 phút chịu stress nhiệt	441,64 ± 51,36	416,83 ± 61,85	409,65 ± 58,42	> 0,05
Sau 60 phút	381,26 ± 46,52	373,42 ± 55,07	369,93 ± 61,18	> 0,05

Nhận xét: Khi chịu đựng với gánh nặng nhiệt, tần số tim của chuột có xu hướng tăng tuy nhiên không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Ở 2 lô trị uống cao khô Thanh nhiệt mức tăng tần số tim của chuột có xu hướng ít hơn so với ở lô chứng.

Bảng 3.11: Huyết áp động mạch của chuột tại một số thời điểm thí nghiệm khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt.

Thời điểm	Huyết áp động mạch (mmHg) ($\bar{x} \pm SD$)			p
	Lô chứng (1) (n = 10)	Lô 1 (2) (n = 10)	Lô 2 (3) (n = 10)	
Ban đầu	131,26 ± 18,94	133,68 ± 16,58	130,67 ± 22,31	> 0,05
Sau 30 phút chịu stress nhiệt	122,68 ± 23,18	126,75 ± 26,52	129,83 ± 23,68	> 0,05
Sau 60 phút	128,75 ± 26,31	130,81 ± 21,17	132,14 ± 20,46	> 0,05

Nhận xét: Khi chịu đựng với gánh nặng nhiệt, huyết áp của chuột có xu hướng giảm tuy nhiên không có ý nghĩa thống kê. Sau khi kết thúc gánh nặng nhiệt, huyết

áp dần hồi phục về giá trị ban đầu. Huyết áp ở lô 2 được uống cao khô Thanh nhiệt liều 2 ít thay đổi nhất, huyết áp có xu hướng ổn định hơn.

3.2.2. Kết quả biến đổi một số chỉ số huyết học khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt

Kết quả được trình bày ở các bảng 3.12 và 3.13:

Bảng 3.12: Biến đổi một số chỉ số hồng cầu của chuột sau tác động của gánh nặng nhiệt

Thời điểm XN	Lô chứng (1) (n = 10)	Lô 1 (2) (n = 10)	Lô 2 (3) (n = 10)	p_{so} sánh giữa các lô
Số lượng hồng cầu chuột (T/L) ($\bar{x} \pm SD$)				
Trước thí nghiệm	7,62 ± 0,86	7,69 ± 0,74	7,54 ± 0,69	> 0,05
Sau tăng thân nhiệt	5,61 ± 0,73	6,32 ± 0,65	6,69 ± 0,70	
p_{so} sánh trước sau	< 0,05	< 0,05	< 0,05	
Hàm lượng hemoglobin trong máu chuột (g/dL) ($\bar{x} \pm SD$)				
Trước thí nghiệm	13,41 ± 1,16	13,28 ± 1,24	13,62 ± 1,29	> 0,05
Sau tăng thân nhiệt	10,25 ± 1,03	10,93 ± 1,12	11,76 ± 1,18	
p_{so} sánh trước sau	< 0,05	< 0,05	< 0,05	
Chỉ số hematocrit của chuột (thể tích %) ($\bar{x} \pm SD$)				
Trước thí nghiệm	39,42 ± 3,81	39,26 ± 3,75	39,18 ± 3,24	> 0,05
Sau tăng thân nhiệt	29,52 ± 2,83	31,96 ± 3,08	34,86 ± 3,35	
p_{so} sánh trước sau	< 0,05	< 0,05	< 0,05	

Nhận xét: Kết quả trên bảng 3.12 cho thấy, ở cả 3 lô chuột nghiên cứu số lượng hồng cầu, chỉ số hemoglobin và hematocrit sau gánh nặng nhiệt đều giảm ($p < 0,05$). Số lượng hồng cầu, chỉ số hemoglobin và hematocrit ở thời điểm sau tăng thân nhiệt của 2 lô chuột dùng cao khô Thanh nhiệt có xu hướng giảm ít hơn so với lô chứng tuy nhiên khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.13: Biến đổi một số chỉ số bạch cầu của chuột sau tác động của gánh nặng nhiệt

Thời điểm XN	Lô chứng (1) (n = 10)	Lô 1 (2) (n = 10)	Lô 2 (3) (n = 10)	P _{so} sánh giữa các lô
Số lượng bạch cầu chuột (G/L) ($\bar{x} \pm SD$)				
Trước thí nghiệm	12,65 ± 2,84	13,16 ± 1,92	12,89 ± 2,73	> 0,05
Sau tăng thân nhiệt	9,17 ± 1,36	9,42 ± 1,61	9,93 ± 1,42	
P _{so} sánh trước sau	< 0,05	< 0,05	< 0,05	
Tỷ lệ bạch cầu Neutrophils (%) ($\bar{x} \pm SD$)				
Trước thí nghiệm	35,62 ± 3,16	34,71 ± 2,95	36,01 ± 3,35	> 0,05
Sau tăng thân nhiệt	42,18 ± 3,94	39,62 ± 3,57	39,21 ± 3,26	
P _{so} sánh trước sau	< 0,05	< 0,05	< 0,05	
Tỷ lệ bạch cầu Lymphocytes (%) ($\bar{x} \pm SD$)				
Trước thí nghiệm	56,63 ± 4,69	58,73 ± 5,04	57,45 ± 5,38	> 0,05
Sau tăng thân nhiệt	44,97 ± 4,23	51,18 ± 4,86	52,14 ± 4,06	
P _{so} sánh trước sau	< 0,05	< 0,05	< 0,05	

Nhận xét: Kết quả trên bảng 3.13 cho thấy, ở cả 3 lô chuột nghiên cứu, số lượng bạch cầu giảm sau khi chịu gánh nặng nhiệt ($p < 0,05$), tỷ lệ bạch cầu neutrophil tăng và tỷ lệ bạch cầu lympho giảm ($p < 0,05$). Số lượng bạch cầu, tỷ lệ bạch cầu neutrophil và tỷ lệ bạch cầu lympho ở thời điểm sau tăng thân nhiệt của 2 lô chuột dùng cao khô Thanh nhiệt có xu hướng biến đổi ít hơn so với lô chứng tuy nhiên khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2.3. Kết quả biến đổi một số chỉ số hóa sinh đánh giá chức năng gan, thận sau gánh nặng nhiệt

Kết quả được trình bày ở các bảng 3.14 và 3.15:

Bảng 3.14: Biến đổi một số chỉ số hóa sinh đánh giá chức năng gan sau tác động của gánh nặng nhiệt

Thời điểm XN	Lô chứng (1) (n = 10)	Lô 1 (2) (n = 10)	Lô 2 (3) (n = 10)	p_{so} sánh giữa các lô
Hoạt độ AST máu chuột (U/l) ($\bar{x} \pm \text{SD}$)				
Trước thí nghiệm	121,63 \pm 11,42	125,59 \pm 12,08	126,05 \pm 12,26	$p_{2,3-1} < 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$
Sau tăng thân nhiệt	189,27 \pm 16,25	156,42 \pm 14,36	151,96 \pm 15,18	
p_{so} sánh trước sau	< 0,01	< 0,05	< 0,05	
Hoạt độ ALT máu chuột (U/l) ($\bar{x} \pm \text{SD}$)				
Trước thí nghiệm	64,25 \pm 5,81	66,93 \pm 5,74	65,91 \pm 6,02	$p_{2,3-1} < 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$
Sau tăng thân nhiệt	105,84 \pm 8,96	86,65 \pm 8,12	80,96 \pm 8,04	
p_{so} sánh trước sau	< 0,01	< 0,05	< 0,05	

Nhận xét: - So với trước thí nghiệm, sau gánh nặng nhiệt hoạt độ enzym AST và ALT trong máu chuột ở lô chứng tăng có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$, còn ở hai lô dùng cao khô Thanh nhiệt thì tăng có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- So với lô chứng tại thời điểm sau tăng thân nhiệt, hoạt độ enzym AST và ALT trong máu chuột ở hai lô dùng cao khô Thanh nhiệt thấp hơn có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Tại thời điểm sau tăng thân nhiệt, hoạt độ enzym AST và ALT trong máu chuột ở lô dùng liều cao có xu hướng thấp hơn so với ở lô dùng liều thấp, tuy nhiên khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.15: Biến đổi chỉ số creatinin ở chuột sau gánh nặng nhiệt

Thời điểm XN	Lô chứng (1) (n = 10)	Lô 1 (2) (n = 10)	Lô 2 (3) (n = 10)	$P_{\text{so sánh giữa các lô}}$
Nồng độ Creatinin máu chuột ($\mu\text{mol/l}$) ($\bar{X} \pm \text{SD}$)				
Trước thí nghiệm	83,21 \pm 9,86	86,12 \pm 8,93	82,95 \pm 8,61	$> 0,05$
Sau tăng thân nhiệt	90,21 \pm 9,95	88,64 \pm 9,04	85,88 \pm 9,36	
$P_{\text{so sánh trước sau}}$	$< 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	-

Nhận xét:

- Tại thời điểm ban đầu, nồng độ Creatinin máu chuột ở các lô nghiên cứu là tương đương ($p > 0,05$).

- So với trước thí nghiệm, nồng độ creatinin máu chuột tại thời điểm sau khi chịu gánh nặng nhiệt ở lô chứng tăng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), còn ở hai lô dùng cao khô Thanh nhiệt tăng không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So với lô chứng, nồng độ creatinin máu chuột ở các lô dùng cao khô Thanh nhiệt thấp hơn, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2.4. Kết quả thời gian sống trung bình của chuột khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt

Bảng 3.16: Thời gian sống trung bình của chuột dưới tác động của gánh nặng nhiệt (n = 10, $\bar{x} \pm SD$)

Lô chuột	Thời gian sống trung bình của chuột (phút) ($\bar{x} \pm SD$)	p
Lô chứng (1) (n = 10)	60,85 ± 5,69	p _{2,3-1} < 0,01 p ₂₋₃ < 0,01
Lô 1 (2) (n = 10)	73,58 ± 6,92	
Lô 2 (3) (n = 10)	77,46 ± 7,13	

Nhận xét:

- So với lô chứng, thời gian sống trung bình của chuột ở hai lô dùng cao khô Thanh nhiệt dài hơn có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- Thời gian sống trung bình của chuột ở lô uống cao khô Thanh nhiệt liều cao có xu hướng dài hơn so với ở lô uống cao khô Thanh nhiệt liều thấp, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. Về độc tính cấp và bán trường diễn của cao khô Thanh nhiệt

4.1.1. Độc tính cấp

Chuột nhắt trắng được uống cao khô Thanh nhiệt với các mức liều khác nhau từ 1,0g/kg thể trọng đến 10,0g/kg thể trọng, 0,2ml/10g, 3 lần trong 24 giờ. Không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống cao khô Thanh nhiệt lần cuối và trong suốt 7 ngày sau uống cao khô Thanh nhiệt.

Với liều dự kiến có tác dụng trên người là 75 mg/kg/24h, liều quy đổi có tác dụng trên chuột nhắt trắng là $75 \times 12 = 900$ mg/kg/24h. Liều tối đa chuột đã uống là 10,0g/kg thể trọng, gấp khoảng 11 lần liều có tác dụng, mà không có chuột nào chết, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào, chứng tỏ cao khô Thanh nhiệt có tính an toàn và khoảng an toàn điều trị rộng. Như vậy, với mức liều đã dùng chúng tôi chưa tìm thấy LD₅₀ của cao khô Thanh nhiệt theo đường uống trên chuột nhắt trắng và không xuất hiện độc tính cấp.

Lý giải điều này chúng tôi thấy: các vị thuốc có trong thành phần của cao khô Thanh nhiệt đều là những dược liệu đã được dùng từ lâu đời và sử dụng thường xuyên trên lâm sàng, có vị thuốc còn được nghiên cứu thực nghiệm có tác dụng giải độc, giảm độc gan, tăng cường chức năng lọc của thận. Nhân sâm có tác dụng chống oxi hóa, giảm gốc tự do [41]. Cam thảo làm giảm ảnh hưởng độc hại của cacbon tetrachloride và giảm độc tế bào do galactosamine gây ra ở tế bào gan chuột thông qua tác dụng chống oxi hóa. Nó còn có tác dụng chống dị ứng giống như hoạt động chống dị ứng của corticosteroid [42]. Nghiên cứu gần đây còn cho thấy Cam thảo có tác dụng nâng cao khả năng miễn dịch của cơ thể. Thông qua tác dụng hưng phấn hạ khâu não - tuyến tùng - vỏ thượng thận, tạo ra tác dụng giống như kích tố vỏ thượng thận, vai trò của nó tương tự như phenylbutazine hoặc hydrocortisone ức chế phản

ứng sốt tại trung khu thân nhiệt, giảm giải phóng các chất gây sốt nội sinh. Hiệu quả giảm nhiệt rất nhanh chóng và khả quan [27],[29],[35].

Như vậy, trong nghiên cứu độc tính cấp của cao khô Thanh nhiệt, chuột thực nghiệm đã uống đến mức liều cao nhất, gấp khoảng 11 lần liều tương đương liều điều trị trên người nhưng chưa thấy có biểu hiện độc của cao khô Thanh nhiệt, không xuất hiện độc tính cấp trên chuột nhất trắng ở liều đã dùng, có thể do số lượng mỗi vị trong bài thuốc thấp hoặc tương tác giữa các vị thuốc trong bài, hoặc có thể do quy trình bào chế của YHCT đã làm giảm độc tính của mỗi vị nếu có; để khẳng định được điều này cần có những nghiên cứu dược lý sâu hơn về các vị thuốc.

4.1.2. Độc tính bán trường diễn

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn được thực hiện bằng cách cho chuột thí nghiệm uống cao khô Thanh nhiệt hàng ngày, liên tục trong một khoảng thời gian nhất định. Độc tính bán trường diễn của chế phẩm trên động vật thực nghiệm được xác định theo hướng dẫn của WHO, OECD, quy chế đánh giá tính an toàn và hiệu lực thuốc cổ truyền của Bộ Y tế [37],[38],[39].

Nghiên cứu tiến hành đánh giá độc tính bán trường diễn trên 3 lô chuột cống trắng mỗi lô 10 con, lô chứng sinh lý: uống nước cất; một lô dùng cao khô Thanh nhiệt với liều 525 mg/kg/24h (tương đương mức liều dự kiến trên người) và một lô dùng liều 1575 mg/kg/24h (tương đương gấp 3 lần liều dùng trên người), uống liên tục trong 60 ngày. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn của thuốc cao khô Thanh nhiệt sau 60 ngày trên chuột cống trắng cho thấy:

- *Tình trạng chung và sự thay đổi trọng lượng:*

+ Trong thời gian uống thuốc, chuột ở các lô đều hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, ăn uống tốt, phân khô, lông mượt, mắt trong, không có chuột bị chết hoặc có các biểu hiện bất thường.

+ So sánh giữa các thời điểm sau so với trước thấy thể trọng chuột của cả ba lô nghiên cứu đều tăng, sự thay đổi có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$).

+ Thể trọng của chuột ở hai lô uống cao khô Thanh nhiệt so với thể trọng của chuột ở lô chứng tại tất cả các thời điểm đo không thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Như vậy, việc uống cao khô Thanh nhiệt với các mức liều và thời gian nghiên cứu chưa thấy gây ra thay đổi trên sự phát triển cân nặng của chuột.

- Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt đến cơ quan tạo máu:

Các thành phần trong máu ngoại vi phản ánh trạng thái của cơ quan tạo máu. Khi thuốc có ảnh hưởng đến cơ quan tạo máu thì trước hết các thành phần của máu sẽ bị thay đổi. Lách cũng là một cơ quan phản ánh chức năng tạo máu và đời sống của các tế bào máu. Theo WHO, đánh giá được càng nhiều thông số của máu càng có khả năng đánh giá chính xác độc tính của thuốc. Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành định lượng các thành phần của máu gồm: số lượng hồng cầu, bạch cầu, công thức bạch cầu, hàm lượng hemoglobin và xét nghiệm khảo sát hình ảnh đại thể và vi thể lách.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, xét nghiệm máu về các chỉ số huyết học tại các thời điểm 30 và 60 ngày sau uống cao khô Thanh nhiệt không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa 2 lô dùng cao khô Thanh nhiệt (liều 525 mg/kg/24h và 1575 mg/kg/24h) so với lô chứng và so với trước khi dùng cao khô Thanh nhiệt ở tất cả các chỉ số nghiên cứu ($p > 0,05$) (bảng 3.2, 3.3 và 3.4).

Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu về mô bệnh học cấu trúc của vi thể lách. Sau 60 ngày uống thuốc liên tục, về mô bệnh học cho thấy kích thước, màu sắc, mật độ nhu mô và cấu trúc vi thể lách hoàn toàn bình thường, các nang lympho với tâm mầm rộng và trung tâm có động mạch bút lông, không có sự khác biệt giữa 2 lô trị và lô chứng (ảnh 3.1, 3.2, 3.3 và 3.7, 3.8, 3.9). Các kết quả này phản ánh cao khô

Thanh nhiệt ở cả hai mức liều đã không gây ảnh hưởng xấu lên chức năng tạo máu của chuột thí nghiệm sau 60 ngày uống thuốc.

- Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt đến gan:

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

Trong nghiên cứu này, hoạt độ ALT và AST trong máu chuột ở hai lô uống cao khô Thanh nhiệt không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và khi so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử 30 và 60 ngày (bảng 3.5). Điều đó chứng tỏ cả 2 liều cao khô Thanh nhiệt đã dùng đều không gây độc cho gan và không làm tổn thương hủy hoại các tế bào gan.

Một trong những chức năng quan trọng nhất của gan là tổng hợp protein, trong đó albumin là loại protein quan trọng nhất của cơ thể với hai chức năng chính là duy trì từ 70 đến 80% áp lực thẩm thấu trong huyết tương, đồng thời liên kết vận chuyển các chất có dạng phân tử nhỏ như bilirubin, các acid béo hoặc thuốc có bên trong máu. Khi gan bị tổn thương thì sẽ kéo theo chức năng gan bị suy giảm, làm giảm khả năng hấp thụ protein và tổng hợp albumin, do đó việc xét nghiệm chỉ số nồng độ

albumin trong máu có giá trị trong đánh giá tổn thương chức năng gan. Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.6 cho thấy thuốc cao khô Thanh nhiệt dùng ở 2 mức liều 525 mg/kg/24h và 1575 mg/kg/24h trong 60 ngày không gây ảnh hưởng lên chỉ số albumin máu chuột, là một chỉ tiêu chứng tỏ thuốc không làm ảnh hưởng chức năng của gan.

Tế bào gan tổng hợp cholesterol để sản xuất muối mật, một phần cholesterol được thải ra theo dịch mật để giữ hằng định cholesterol máu. Chức năng gan suy giảm sẽ làm rối loạn quá trình tổng hợp cholesterol. Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.7 cho thấy: sau 30 ngày và 60 ngày cao khô Thanh nhiệt, hàm lượng cholesterol của chuột ở cả 3 lô không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Chứng tỏ thuốc không làm ảnh hưởng đến chức năng tổng hợp cholesterol của gan.

Kết quả mô bệnh học cũng phù hợp với kết quả xét nghiệm hóa sinh máu. Quan sát đại thể gan của chuột ở cả lô chứng và 2 lô trị (525 mg/kg/24h và 1575 mg/kg/24h) đều không thấy có biểu hiện bệnh lý nào. Hình thái vi thể gan chuột ở lô chứng và 2 lô trị không thấy có sự khác biệt, các bè gan và tiểu thùy gan không thay đổi về cấu trúc, tế bào gan không bị tổn thương thoái hóa, không có xâm nhập viêm (ảnh 3.1, 3.2, 3.3 và 3.4, 3.5, 3.6).

Cao khô Thanh nhiệt qua đánh giá sử dụng kéo dài (60 ngày) không gây tổn thương tế bào gan, không làm suy giảm chức năng gan.

- Ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt trên chức năng thận:

Thận là cơ quan tiết niệu, có vai trò quan trọng bậc nhất để đảm bảo sự hằng định nội môi. Thận cũng rất dễ bị tổn thương bởi các chất độc nội sinh và ngoại sinh. Khi đưa thuốc vào cơ thể có thể gây tổn thương thận, ảnh hưởng đến chức năng thận. Để đánh giá ảnh hưởng của thuốc đến chức năng thận, người ta định lượng nồng độ creatinin trong huyết thanh. Creatinin là thành phần đạm trong máu ổn định nhất, hầu như không phụ thuộc vào chế độ ăn hoặc những thay đổi sinh lý mà chỉ phụ thuộc vào khả năng đào thải của thận. Khi cầu thận bị tổn thương, creatinin huyết thanh

tăng sớm hơn ure. Vì vậy, hiện nay định lượng creatinin huyết thanh được sử dụng nhiều để đánh giá chức năng thận, là chỉ tiêu tin cậy và quan trọng hơn ure.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả xét nghiệm máu tại các thời điểm trước uống thuốc, sau uống thuốc 30 ngày và sau uống thuốc 60 ngày cho thấy: nồng độ creatinin trong máu chuột ở cả ba lô ở cùng thời điểm không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$). Nồng độ creatinin trong máu chuột ở mỗi lô giữa các thời điểm trước và sau uống cao khô Thanh nhiệt không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$) (bảng 3.8).

Các kết quả ở trên cũng hoàn toàn phù hợp với kết quả về mô bệnh học thận. Quan sát đại thể thận của tất cả các chuột nghiên cứu, cấu trúc vi thể thận của 30% số chuột thực nghiệm ở mỗi lô cho thấy rõ các tiểu cầu thận, khoang Bowman, các tế bào ống thận đều nhau, rõ cấu trúc, các tế bào biểu mô ống thận bình thường, hình ảnh cấu trúc vi thể vùng vỏ và vùng tủy thận, cầu thận và ống thận bình thường như chuột ở lô chứng, không thấy hình ảnh tổn thương ở hai lô uống cao khô Thanh nhiệt, hình ảnh cấu trúc vi thể các vùng chức năng của thận bình thường như chuột lô chứng (ảnh 3.1, 3.2, 3.3 và 3.10, 3.11, 3.12).

Kết quả trên chứng tỏ: cao khô Thanh nhiệt với liều 525 mg/kg/24h và 1575 mg/kg/24h không làm ảnh hưởng đến cấu trúc, chức năng thận của chuột thí nghiệm sau 60 ngày uống cao khô Thanh nhiệt.

Như vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi chưa thấy cao khô Thanh nhiệt gây độc bán trường diễn trên động vật thực nghiệm. Tính an toàn của cao khô Thanh nhiệt có thể do các vị thuốc trong bài thuốc là những vị thuốc quen thuộc dùng trên lâm sàng, đã được bào chế theo tiêu chuẩn dược điển, đảm bảo đúng quy định, do đó đã hạn chế được những độc tính. Trong thành phần bài thuốc có những vị thuốc được nghiên cứu dược lý hiện đại, có tác dụng giải độc, chống dị ứng như Cam thảo; bảo vệ tế bào gan như Nhân sâm, Cam thảo;... Do đó, cao khô Thanh nhiệt không gây độc ở các liều nghiên cứu. Tuy nhiên, cần có những nghiên cứu sâu hơn nữa để làm rõ hơn tính an toàn của cao khô Thanh nhiệt.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng hoàn toàn phù hợp với các kết quả nghiên cứu của một số tác giả về tính an toàn của bài thuốc Sinh mạch tán cũng như của các vị thuốc thành phần trong cao khô Thanh nhiệt. Min-ji Choi cùng cộng sự (2014) nghiên cứu “Tiêm tĩnh mạch Sinh mạch tán - Phương pháp điều trị an toàn cho chuột”, kết quả cho thấy không có trường hợp tử vong nào xảy ra ở bất kỳ nhóm nào trong số bốn nhóm, cho thấy liều Sinh mạch tán gây chết ở chuột lớn hơn 1,0 ml/con. Một số thay đổi về trọng lượng của chuột đực giữa nhóm đối chứng và nhóm thử nghiệm đã được quan sát, nhưng không có thay đổi đáng kể nào về trọng lượng của chuột cái được ghi nhận [43]. Sinh mạch tán là một công thức y học cổ truyền bao gồm Nhân sâm, Mạch môn và Ngũ vị tử đã được sử dụng gần 1.000 năm ở Trung Quốc. Nó lần đầu tiên được ghi lại trong “Sách Khởi nguồn Y học”, được viết bởi Zhang Yuansu, một thầy thuốc nổi tiếng, trong triều đại nhà Tần. Ở Trung Quốc, nó từ lâu đã được sử dụng để điều trị chứng thiếu Khí Âm và trong thời hiện đại để điều trị các tình trạng khác nhau, bao gồm rối loạn tim mạch và thần kinh [44],[45].

4.2. Về tác dụng tăng khả năng chịu đựng với gánh nặng nhiệt của cao khô Thanh nhiệt trên mô hình thực nghiệm

4.2.1. Biến đổi thân nhiệt, huyết áp và tần số mạch của chuột khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt

Chuột được gây mê bằng ketamin, bộc lộ động mạch cảnh trái và đặt catheter theo dõi huyết áp động mạch. Các điện cực được gắn vào 2 chi trước và một chi sau theo dõi điện tim và tần số tim. Một điện cực được đặt vào hậu môn chuột để theo dõi biến thiên nhiệt độ. Các cảm biến được kết nối với hệ thống PowerLab theo dõi các chỉ tiêu trong suốt quá trình thí nghiệm. Chuột uống cao khô Thanh nhiệt theo liều 1 (lô trị 1) và liều 2 (lô trị 2) cùng với lô chứng được tiến hành thí nghiệm như nhau, chịu tác động của gánh nặng nhiệt trong buồng VKH 21 ở nhiệt độ 40°C độ

ẩm 60%, trong thời gian 30 phút, sau đó được đưa ra ngoài ở nhiệt độ phòng (26°C) và tiếp tục được theo dõi các chỉ tiêu.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi trên mô hình gây tăng thân nhiệt chuột ở buồng VKH 21 (bảng 3.9) cho thấy, nhiệt độ trung tâm của chuột tăng lên khi đưa chuột vào buồng VKH 21 ở nhiệt độ 40°C và độ ẩm 60%, nhiệt độ trung tâm đạt cao nhất ở thời điểm 30 phút ngay trước khi đưa ra khỏi buồng VKH 21. Sau 30 phút chuột được đưa ra ngoài nhiệt độ phòng (26°C), nhiệt độ trung tâm của chuột giảm dần và hồi phục dần về nhiệt độ ban đầu sau 30 phút ra khỏi buồng.

Tuy nhiên, ở chuột uống cao khô Thanh nhiệt (lô 1 và lô 2), mức tăng nhiệt độ của chuột tại các thời điểm thấp hơn so với chuột uống nước cất (lô chứng). Nhiệt độ của chuột tại thời điểm 30 phút ngay trước khi kết thúc stress nhiệt ở lô chứng là $41,86 \pm 0,48^{\circ}\text{C}$ cao hơn so với lô trị 1 ($40,85 \pm 0,52^{\circ}\text{C}$) và lô trị 2 ($40,59 \pm 0,48^{\circ}\text{C}$) có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Nhiệt độ cao nhất của 2 lô trị uống cao khô Thanh nhiệt không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Kết quả theo dõi biến thiên tần số tim chuột trên mô hình gây tăng thân nhiệt ở buồng VKH 21 (bảng 3.10) cho thấy, tần số tim của chuột tăng cao khi chịu đựng với gánh nặng nhiệt, sau khi kết thúc gánh nặng nhiệt (phút thứ 30) và được đưa trở về nhiệt độ phòng, tần số tim dần hồi phục về giá trị ban đầu sau khoảng 15 phút. Tuy nhiên, ở nhóm chứng tần số tim của chuột biến đổi nhiều nhất, tăng cao nhất vào phút thứ 25 sau chịu đựng gánh nặng nhiệt, khi được đưa trở về nhiệt độ phòng, tần số tim dần hồi phục về giá trị ban đầu sau 15 phút. Đối với 2 lô uống cao khô Thanh nhiệt, tần số tim của chuột cũng tăng khi chịu đựng gánh nặng nhiệt, nhưng mức tăng tần số tim ít hơn so với nhóm chứng. Mặc dù vậy, khi so sánh tần số tim tại thời điểm tăng cao nhất giữa các lô nghiên cứu chúng tôi chưa thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Kết quả theo dõi sự biến đổi huyết áp động mạch của chuột trên mô hình gây tăng thân nhiệt ở buồng VKH 21 cho thấy (bảng 3.11), khi chịu đựng với gánh nặng

nhật, huyết áp của chuột có xu hướng giảm. Sau khi kết thúc gánh nặng nhiệt, huyết áp dần hồi phục về giá trị ban đầu. Tuy nhiên, chúng tôi thấy rằng huyết áp của chuột ở lô trị 2 được uống cao khô Thanh nhiệt ít thay đổi nhất, huyết áp có xu hướng ổn định hơn. Huyết áp lô chứng có sự biến động hơn hai lô trị.

Như vậy, qua các kết quả nghiên cứu theo dõi biến đổi nhiệt độ, tần số tim và huyết áp của chuột khi chịu đựng gánh nặng nhiệt trong thời gian 30 phút cho thấy, cao khô Thanh nhiệt đã có tác dụng làm giảm thân nhiệt của chuột trong điều kiện tiếp xúc với nhiệt độ cao. Nhiệt độ trung tâm của chuột ở 2 lô uống cao khô Thanh nhiệt luôn thấp hơn so với lô chứng ở tất cả các thời điểm theo dõi. Kết quả này có thể do trong thành phần cao khô Thanh nhiệt có các vị thuốc tác dụng: đại bổ nguyên khí, sinh tân như Nhân sâm; dưỡng âm sinh tân, nhuận phế thanh hỏa như Mạch môn; sinh tân dịch, háo khát như Ngũ vị tử; giải cơ, thoát nhiệt, sinh tân chỉ khát như Cát căn. Cả 4 vị trên đều có chung đặc điểm sinh tân dịch. Theo YHCT tân dịch là chỉ toàn bộ hệ thống thủy dịch bình thường trong cơ thể, chủ yếu là dịch thể, còn bao gồm cả dịch ở mắt, các xoang rỗng và các khiếu, dịch vị, dịch ruột và cả mồ hôi, nước tiểu... Tân dịch có tác dụng duy trì cân bằng thủy dịch trong cơ thể. Nó phân bố khắp toàn thân, từ tạng phủ cho đến da lông đều phải dựa vào tân dịch để nuôi dưỡng [9]. Thân nhiệt ở các lô uống cao khô Thanh nhiệt thấp hơn so với lô chứng nên biến đổi về huyết áp và tần số mạch ở các lô uống cao khô Thanh nhiệt cũng ít hơn khi tiếp xúc với nhiệt độ cao.

Điều này cho thấy cao khô Thanh nhiệt có tác dụng dự phòng tăng thân nhiệt khi tiếp xúc với nhiệt độ cao nên có tác dụng dự phòng say nóng. Tuy nhiên, cần có những nghiên cứu sâu và rộng hơn để đánh giá về tác dụng và cơ chế tác dụng của cao khô Thanh nhiệt.

4.2.2. Biến đổi một số chỉ số huyết học của chuột khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt

Để đánh giá biến đổi các chỉ số huyết học, chuột được lấy máu xét nghiệm vào ngày hôm trước (giá trị trước thí nghiệm), sau đó được giữ ổn định để tiến hành thí nghiệm vào ngày hôm sau.

Tại thời điểm thí nghiệm, chuột được đưa vào buồng VKH 21 ở nhiệt độ 40°C, độ ẩm 60% trong thời gian 30 phút. Sau đó, chuột được lấy máu xét nghiệm các chỉ số huyết học (thời điểm sau tăng thân nhiệt).

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi trên mô hình gây tăng thân nhiệt chuột ở buồng VKH 21 về sự biến đổi các chỉ số hồng cầu (bảng 3.12) cho thấy, số lượng hồng cầu, chỉ số hemoglobin và hematocrit sau gánh nặng nhiệt đều giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), trong nghiên cứu này chúng tôi thấy ở lô chúng số lượng hồng cầu, chỉ số hemoglobin và hematocrit giảm rõ rệt nhất, ở lô trị 1 giảm ít hơn, giảm ít nhất ở lô trị 2, tuy nhiên ở cùng thời điểm giữa 3 lô chuột nghiên cứu chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi (bảng 3.13) cũng cho thấy, sau khi chịu đựng gánh nặng nhiệt, số lượng bạch cầu ở cả 3 lô chuột nghiên cứu đều giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Số lượng bạch cầu ở cả 3 lô chuột tại cùng thời điểm nghiên cứu không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Đối với tỷ lệ bạch cầu neutrophils và lympho, kết quả cho thấy, ở cả 3 nhóm, dưới tác động của gánh nặng nhiệt, tỷ lệ bạch cầu neutrophils tăng lên đồng thời tỷ lệ bạch cầu lympho giảm xuống so với thời điểm trước khi gây tăng thân nhiệt ($p < 0,05$).

Các kết quả nghiên cứu của chúng tôi về biến đổi chỉ số huyết học của chuột khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt cũng tương tự một số nghiên cứu của các tác giả khác như Okab et al., 2008 [46]; Kishik et al., 2009 [47]; Ondruska et al., 2011 [48]; Askar and Ismail, 2012 [49]. Các nghiên cứu đều cho thấy khi chịu tác động

của gánh nặng nhiệt có giảm số lượng hồng cầu, hemoglobin, giảm số lượng bạch cầu và tăng tỷ lệ bạch cầu neutrophils đồng thời giảm tỷ lệ bạch cầu lympho.

Theo các tác giả, khi chịu đựng gánh nặng nhiệt thì số lượng hồng cầu giảm xuống có thể do các nguyên nhân sau:

- Giảm vận chuyển oxy nhằm làm giảm chuyển hóa trong điều kiện nhiệt độ cao.
- Trong điều kiện nhiệt độ cao các tế bào hồng cầu dễ bị vỡ và phân hủy.
- Màng tế bào hồng cầu cũng rất nhạy cảm với các gốc tự do, trong điều kiện nhiệt độ cao các gốc tự do được sinh ra nhiều nên gây tổn thương tế bào hồng cầu.

Như vậy, dưới tác động của gánh nặng nhiệt tế bào hồng cầu thường giảm. Trong nghiên cứu của chúng tôi, dưới tác động của gánh nặng nhiệt số lượng hồng cầu cũng giảm ở cả 3 lô chuột nghiên cứu ($p < 0,05$), tuy nhiên, số lượng hồng cầu giảm nhiều nhất ở lô chứng, lô trị 1 giảm ít hơn, ở lô trị 2 số lượng hồng cầu giảm ít nhất. Điều này cho thấy cao khô Thanh nhiệt đã làm nhiệt độ cơ thể ở 2 lô trị tăng ít hơn so với lô chứng và số lượng hồng cầu cũng giảm ít hơn so với lô chứng.

4.2.3. Biến đổi một số chỉ số hóa sinh đánh giá chức năng gan, thận sau gánh nặng nhiệt

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về đánh giá chức năng gan của chuột sau gánh nặng nhiệt (bảng 3.14) cho thấy, sau gánh nặng nhiệt, chỉ số hoạt độ enzym AST ở cả 3 lô chuột nghiên cứu đều tăng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), chỉ số hoạt độ enzym ALT ở cả 3 lô chuột nghiên cứu có xu hướng tăng nhưng chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Tuy nhiên chúng tôi không nhận thấy sự khác biệt về các chỉ số hoạt độ enzym chức năng gan giữa 3 lô nghiên cứu tại cùng thời điểm. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của các tác giả Liu CC, Shih MF, Wen YS, Lai YH, Yang TH – tất cả chuột bị đột quy nhiệt đều có tăng hoạt độ các enzym AST, ALT [50].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về đánh giá chức năng thận của chuột sau gánh nặng nhiệt (bảng 3.15) cho thấy, sau gánh nặng nhiệt, chỉ số creatinin của chuột ở cả 3 lô nghiên cứu đều có xu hướng tăng lên, chuột ở lô chứng chỉ số creatinin tăng

có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), trong khi chuột ở 2 lô trị chỉ số creatinin chưa thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa trước và sau khi chịu gánh nặng nhiệt. Chỉ số creatinin của các lô chuột tại cùng thời điểm không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy, chuột ở 2 lô trị được uống cao khô Thanh nhiệt đã làm hạn chế việc tăng chỉ số creatinin trong máu chuột khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt, do đó uống cao khô Thanh nhiệt có tác dụng bảo vệ chức năng của thận. Kết quả này có thể là do tác dụng hạn chế tăng thân nhiệt của cao khô Thanh nhiệt, vì khi thân nhiệt tăng ít sẽ ít gây tổn thương chức năng thận hơn; kết quả này cũng có thể do các vị thuốc trong cao khô Thanh nhiệt có tác dụng bảo vệ và tăng cường chức năng của thận như Ngũ vị tử.

Như vậy, trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, uống cao khô Thanh nhiệt giúp bảo vệ và tăng cường chức năng gan, thận chuột khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt. Tuy nhiên, cần có những nghiên cứu chuyên sâu hơn để làm rõ ảnh hưởng của cao khô Thanh nhiệt lên chức năng gan, thận.

4.2.4. Thời gian sống trung bình của chuột khi chịu tác động của gánh nặng nhiệt

Để đánh giá khả năng chịu đựng với gánh nặng nhiệt, chúng tôi đưa cả 3 lô chuột vào cùng điều kiện trong buồng VKH 21 ở nhiệt độ 40°C , độ ẩm 60% và theo dõi thời gian chuột có thể sống được trong điều kiện nhiệt độ cao. Thời gian sống của chuột được xác định từ thời điểm đưa vào buồng nhiệt độ VKH 21 cho tới khi chuột chết. Chuột được mắc điện cực chi theo dõi điện tim trong suốt quá trình trong buồng nhiệt. Thời điểm chuột chết được xác định khi điện tim là đường thẳng điện.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi (bảng 3.16) cho thấy, khi chịu đựng gánh nặng nhiệt điều kiện 40°C độ ẩm 60%, thời gian sống trung bình của lô chúng là $60,85 \pm 5,69$ phút thấp hơn đáng kể so với thời gian sống trung bình của lô trị 1 ($73,58 \pm 6,92$ phút) và lô trị 2 ($77,46 \pm 7,13$ phút). Khi so sánh thời gian sống trung bình giữa 2 lô uống cao khô Thanh nhiệt, chúng tôi không thấy có sự khác biệt giữa 2 lô.

Như vậy, khi chuột uống cao khô Thanh nhiệt đã làm tăng khả năng chịu đựng đối với gánh nặng nhiệt, kéo dài thời gian sống của chuột trong điều kiện nhiệt độ cao. Kết quả này có thể do uống cao khô Thanh nhiệt đã làm giảm sự tăng thân nhiệt, hạn chế tổn thương chức năng gan thận, do đó đã kéo dài thời gian sống hơn chuột ở lô chúng không uống cao khô Thanh nhiệt; kết quả này cũng có thể do các vị thuốc trong cao khô Thanh nhiệt có tác dụng nâng cao thể lực, chống oxi hóa như Nhân sâm, Cam thảo; Cũng có thể là kết quả của sự tác động cộng hưởng nhiều yếu tố trên. Để có những đánh giá chuyên sâu hơn thì cao khô Thanh nhiệt cần tiếp tục có những nghiên cứu khác ở mức độ sâu hơn.

4.2.5. Về cơ sở lý thuyết cho tác dụng điều trị say nóng của cao khô Thanh nhiệt

Từ các kết quả nghiên cứu đạt được cho thấy cao khô Thanh nhiệt có tác dụng tốt khi đánh giá trên chuột công trắng gây tăng gánh nặng nhiệt (say nóng). Các kết quả đạt được là hoàn toàn phù hợp với các cơ sở lý thuyết cho tác dụng điều trị say nóng của cao khô Thanh nhiệt.

Cao khô Thanh nhiệt được bào chế từ bài thuốc cổ phương “Sinh mạch tán” gia thêm Cát căn, Cam thảo, thành phần gồm: Nhân sâm, Mạch môn, Ngũ vị tử, Cát căn, Cam thảo. Cát căn có tác dụng giải cơ, thoát nhiệt, thấu chẩn, sinh tân chỉ khát; Cam thảo ích khí, phục mạch, điều hòa tác dụng các thuốc. Do đó, khi phối hợp Cát căn, Cam thảo với bài thuốc Sinh mạch tán sẽ tăng cường tác dụng sinh tân chỉ khát, thanh nhiệt trừ phiền.

Theo y học cổ truyền thì thời tiết nắng nóng mùa hè gây ra các triệu chứng sốt cao, vã mồ hôi, hồi hộp, chóng mặt, thậm chí hôn mê, co giật... được gọi là trúng thử, tương ứng bệnh say nóng theo y học hiện đại. Pháp điều trị của chứng trúng thử là thanh nhiệt giải thử, bổ khí, sinh tân, chỉ khát trừ phiền. Căn cứ vào thành phần, tác dụng thì bài thuốc Thanh nhiệt đáp ứng được pháp điều trị của chứng trúng thử. Chính vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu bài thuốc Thanh nhiệt để đánh giá tác dụng phòng chống say nóng trên thực nghiệm.

Nhiều nghiên cứu dược lý hiện đại về các vị thuốc và bài thuốc Sinh mạch tán cả trên thực nghiệm và lâm sàng chỉ ra tác dụng của chúng trong điều trị sốt, sốt xuất huyết, trúng thử (say nắng, say nóng), viêm phế quản phổi... thông qua các tác dụng chống viêm, giảm đau, hạ sốt, chống co giật, an thần, tăng cường miễn dịch, hỗ trợ chức năng tim mạch, nâng cao thể trạng, giải độc...

Một số nghiên cứu về dược lý hiện đại cho thấy, các vị thuốc trong thành phần của cao khô Thanh nhiệt có tác dụng chống viêm, chống dị ứng, giảm đau, điều hòa thân nhiệt, an thần, hỗ trợ chức năng tim mạch, nâng cao thể trạng... Như nghiên cứu Mạch môn có tác dụng kháng viêm, chống oxy hóa [31],[32],[33]. Nghiên cứu nước sắc Ngũ vị tử có tác dụng hưng phấn hô hấp, đồng thời có tác dụng hoá đàm, chỉ khái; Ngoài ra chất schizandrin có trong Ngũ vị tử có tác dụng giảm đau, an thần và giải nhiệt [27],[28]. Cát căn được nghiên cứu trên động vật thực nghiệm, nước sắc Cát căn có tác dụng giải nhiệt mạnh (Nghiên cứu dược lý tác dụng giải nhiệt một số thuốc Trung y, Tạp chí Trung Hoa Y học 1956, 42 (10): 964-967) [27],[28]. Nghiên cứu trên Nhân sâm chỉ ra, Nhân sâm có tác dụng nâng cao sức đề kháng, giúp phục hồi thể lực, chống oxy hóa do tăng cường ngăn chặn sự hình thành các gốc tự do [51],[52],[53]. Một số nghiên cứu trên Cam thảo cho thấy, Cam thảo có tác dụng chống viêm, hạ sốt, chống dị ứng giống như hoạt động chống viêm và chống dị ứng của corticosteroid [42].

Nghiên cứu dược lý hiện đại cũng chỉ ra, bài thuốc Sinh mạch tán có tác dụng hạ sốt và chống say nóng. Cơ chế được giải thích là do bài thuốc này giảm hàm lượng IL-1 β và TNF-a trong huyết tương và giảm nồng độ TNF-a ở vùng dưới đồi, chúng là các chất trung gian hóa học quan trọng trong quá trình sốt [54],[55].

Tác dụng phòng chống say nóng của bài thuốc Thanh nhiệt có thể do trong thành phần có các vị thuốc có tác dụng ức chế quá trình sốt, tác dụng chống viêm, chống dị ứng, nâng cao thể trạng... Do đó, để có những đánh giá sâu hơn về tác dụng, cơ

chế tác dụng thì bài thuốc Thanh nhiệt ta cần tiếp tục được nghiên ở mức độ sâu hơn nữa.

KẾT LUẬN

1. Độc tính cấp, bán trường diễn của cao khô Thanh nhiệt

* Độc tính cấp và LD₅₀ của cao khô Thanh nhiệt chưa xác định được LD₅₀ của cao khô Thanh nhiệt theo đường uống trên chuột nhắt trắng với liều 10,0g cao khô/kg thể trọng.

* Độc tính bán trường diễn của cao khô Thanh nhiệt

Trên chuột cống trắng uống cao khô Thanh nhiệt với liều 525mg cao khô/kg/24h và liều 1575mg cao khô/kg/24h, uống liên tục 60 ngày không gây độc tính bán trường diễn; thể hiện không làm thay đổi các chỉ số huyết học, các chỉ số sinh hóa đánh giá chức năng gan và thận, không gây tổn thương mô bệnh học gan, lách, thận chuột.

2. Tác dụng tăng khả năng chịu đựng với gánh nặng nhiệt của cao khô Thanh nhiệt

Cao khô Thanh nhiệt đã có tác dụng dự phòng say nóng trên động vật thực nghiệm thể hiện qua các chỉ số sau:

- Chuột 2 lô uống cao khô Thanh nhiệt có mức tăng thân nhiệt thấp hơn lô chứng ở các thời điểm ($p < 0,05$). Sự biến thiên huyết áp và tần số mạch của chuột 2 lô uống cao khô Thanh nhiệt có xu hướng giảm hơn so với lô chứng.

- Thời gian sống dưới tác động liên tục của gánh nặng nhiệt của hai lô uống cao khô Thanh nhiệt dài hơn so với lô chứng với $p < 0,01$.

- Sau quá trình chịu gánh nặng nhiệt: Hoạt độ AST và ALT máu chuột ở 2 lô uống cao khô Thanh nhiệt thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($p < 0,05$). Nồng độ creatinin máu chuột ở lô chứng tăng rõ so với trước ($p < 0,05$), tuy nhiên ở 2 lô uống cao khô Thanh nhiệt lại tăng không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

KIẾN NGHỊ

Với kết quả nghiên cứu bước đầu của cao khô Thanh nhiệt trên thực nghiệm cho thấy cao khô Thanh nhiệt có tính an toàn cao, có tác dụng tăng khả năng chịu đựng với gánh nặng nhiệt trên thực nghiệm, chúng tôi đề nghị:

1. Tiếp tục nghiên cứu sâu hơn để đánh giá cơ chế tác dụng tăng khả năng chịu đựng với gánh nặng nhiệt của cao khô Thanh nhiệt trên thực nghiệm.

2. Nghiên cứu đánh giá tác dụng tăng khả năng chịu đựng với gánh nặng nhiệt trên người tình nguyện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1 Hoàng Văn Lương và cộng sự (2013). *Đánh giá một số ảnh hưởng của biến đổi khí hậu đến sức khỏe, bệnh tật của bộ đội tại một số địa bàn đóng quân*, Tạp chí Y – Dược học Quân sự, 62-67.
- 2 Christina Simpson and Alan Abelson (2012). *Heat – induced illness*.
- 3 Cục Quân y – BQP (2014), *Phòng chống tác động do nắng – nóng đến sức khỏe*, Nhà xuất bản Quân đội nhân dân.
- 4 Cục Quân y (2014), *Đặc điểm sinh lý lao động quân sự trong môi trường nóng ẩm*.
- 5 Wang, N. L., Liou, Y. L., Lin, M. T., Lin, C. L., & Chang, C. K. (2005). Chinese herbal medicine, Shengmai San, is effective for improving circulatory shock and oxidative damage in the brain during heatstroke. *Journal of pharmacological sciences*, 0502040011-0502040011.
- 6 Đại học Y Hà Nội (2012), *Sinh lý bệnh*, Nhà xuất bản Y học, tr.230-246.
- 7 Douma, M. J., Aves, T., Allan, K. S., Bendall, J. C., Berry, D. C., Chang, W. T., ... & Woodin, J. A. (2020). First aid cooling techniques for heat stroke and exertional hyperthermia: a systematic review and meta-analysis. *Resuscitation*, 148, 173-190.
- 8 Liu, C. C., Shih, M. F., Wen, Y. S., Lai, Y. H., & Yang, T. H. (2014). Dexamethasone improves heat stroke-induced multiorgan dysfunction and damage in rats. *International journal of molecular sciences*, 15(11), 21299-21313.
- 9 Trần Quốc Bảo (2017), *Lý luận cơ bản y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, 144-145
- 10 Phạm Việt Dữ (2011), *Ôn bệnh*, Nhà xuất bản Y học, 19-20, 93-97.
- 11 Hoàng Bảo Châu và Nguyễn Đức Đoàn (2007), *Danh từ thuật ngữ y – dược cổ học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, 219.
- 12 Dịch giả Nguyễn Tử Siêu, 2009, *Hoàng Đế Nội Kinh*. NXB Lao Động.

- 13 Wang, N. L., Chang, C. K., Liou, Y. L., Lin, C. L., & Lin, M. T. (2005). Shengmai San, a Chinese herbal medicine protects against rat heat stroke by reducing inflammatory cytokines and nitric oxide formation. *Journal of pharmacological sciences*, 0505060001-0505060001.
- 14 Wong, K. H., Li, G. Q., Li, K. M., Razmovski-Naumovski, V., & Chan, K. (2011), *Kudzu root: Traditional uses and potential medicinal benefits in diabetes and cardiovascular diseases*, *Journal of Ethnopharmacology*.
- 15 Lo, L. C., Chen, C. Y., Chen, S. T., Chen, H. C., Lee, T. C., & Chang, C. S. (2012). Therapeutic efficacy of traditional Chinese medicine, Shen-Mai San, in cancer patients undergoing chemotherapy or radiotherapy: study protocol for a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Trials*, 13(1), 1-6.
- 16 Li, F., Fan, X., Zhang, Y., Kou, J., & Yu, B. (2019). A strategy for optimization and cardioprotective validation by combination of three compounds based on Chinese medicinal formula Sheng-Mai-San for myocardial ischemia. *The FASEB Journal*, 33(S1), 818-6.
- 17 Liu, C., Feng, Y., Zhou, D., Ju, A., Kou, J., Yu, B., & Qi, J. (2022). Sheng-Mai San extracts attenuate heart injury in chronic intermittent hypoxia via suppressing oxidative damage and regulating glucose metabolism. *Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine*, 5, 100194.
- 18 Zhang, X., Jia, Y., Yuan, Z., Wen, Y., Zhang, Y., Ren, J., ... & Wei, Y. (2022). Sheng Mai San ameliorated heat stress-induced liver injury via regulating energy metabolism and AMPK/Drp1-dependent autophagy process. *Phytomedicine*, 97, 153920.
- 19 Phan Văn Minh (2018), “Đánh giá độc tính cấp, bán trường diễn và tác dụng tăng khả năng chịu đựng với gánh nặng nhiệt trên thực nghiệm của cao khô giải thử khang”. Luận văn thạc sĩ Y học, Học viện Quân Y.

- 20 Nguyễn Ngô Quang (2015). *Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu* (ban hành kèm theo Quyết định số 141/QĐ-K2ĐT ngày 27/10/2015).
- 21 Shih, C. J., Lin, M. T., & Tsai, S. H. (1984). Experimental study on the pathogenesis of heat stroke. *Journal of neurosurgery*, 60(6), 1246-1252.
- 22 Lin, M. T., & Lin, S. Z. (1990). Decentralization of superior cervical ganglia attenuates heat stroke formation in rabbits. *The Chinese Journal of Physiology*, 33(3), 247-253.
- 23 Palmi, M., & Sgaragli, G. (1989). Hyperthermia induced in rabbits by organic calcium antagonists. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 34(2), 325-330.
- 24 Hubbard, R. W., Bowers, W. D., Matthew, W. T., Curtis, F. C., Criss, R. E., Sheldon, G. M., & Ratteree, J. W. (1977). Rat model of acute heatstroke mortality. *Journal of Applied Physiology*, 42(6), 809-816.
- 25 Hubbard, R. W., Criss, R. E., Elliott, L. P., Kelly, C., Matthew, W. T., Bowers, W. D., ... & Mager, M. (1979). Diagnostic significance of selected serum enzymes in a rat heatstroke model. *Journal of Applied Physiology*, 46(2), 334-339.
- 26 Shido, O. S. A. M. U., & Nagasaka, T. E. T. S. U. O. (1990). Thermoregulatory responses to acute body heating in rats acclimated to continuous heat exposure. *Journal of Applied Physiology*, 68(1), 59-65.
- 27 Bộ Y tế (2018). *Dược điển Việt Nam*, lần xuất bản thứ năm, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr.1095, 1110, 1241, 1273, 1279.
- 28 Viện dược liệu (2006), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật, Tập II, tr. 216, 416, 446, 680.
- 29 Bộ Y tế, *Dược liệu học*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 111-113, 215-223, 243-250, 273-274.

- 30 Chi, V.V, (1999), *Dictionary of common plants*. Science and Technology: Hanoi, Vol. 1, p 709.
- 31 Hung, T. M., Van Thu, C., Dat, N. T., Ryoo, S. W., Lee, J. H., Kim, J. C., ... & Min, B. S. (2010). Homoisoflavonoid derivatives from the roots of *Ophiopogon japonicus* and their in vitro anti-inflammation activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20(8), 2412-2416.
- 32 Yi-Feng, Z., Jin, Q. I., Dan-Ni, Z., & Bo-Yang, Y. (2008). Homoisoflavonoids from *Ophiopogon japonicus* and its oxygen free radicals (OFRs) scavenging effects. *Chinese journal of natural medicines*, 6(3), 201-204.
- 33 Li, N., Zhang, J. Y., Zeng, K. W., Zhang, L., Che, Y. Y., & Tu, P. F. (2012). Anti-inflammatory homoisoflavonoids from the tuberous roots of *Ophiopogon japonicus*. *Fitoterapia*, 83(6), 1042-1045.
- 34 You-Qing, T. I. A. N., Jun-Ping, K. O. U., Lin-Zhou, L. I., & Bo-Yang, Y. U. (2011). Anti-inflammatory effects of aqueous extract from *Radix Liriope muscari* and its major active fraction and component. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 9(3), 222-226.
- 35 Viện dược liệu (2006), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật, Tập I, tr. 316.
- 36 Đỗ Trung Đàm (2006), Phương pháp ngoại suy liều có hiệu quả tương đương giữa người và động vật thí nghiệm. *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo*. Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật. Tạp chí dược học, số 479, tr. 38-41.
- 37 Bộ Y tế (2015), *Hướng dẫn lập Thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu*. Thông tư số 141/QĐ-K2ĐT, ngày 27/10/2015.
- 38 WHO-EDM-TRM (2000), *General Guidelines for Methodologies on Reseaeche and Evalation of Traditional Medicine*.

- 39 Organization of Economic Co-operation and Development – OECD (2001), *The OECD Guideline for Testing of Chemicals: 423 Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method*, OECD, Paris, France, 2001.
- 40 Yang T.-H., Ho W.-Y., Shih M.-F. et al. (2010). *Effects of combination treatment with dexamethasone and mannitol on neuronal damage and survival in experimental heat stroke*. *Biol Pharm Bull*, 33(9), 1522–1528.
- 41 Kim J.-H. (2018). *Pharmacological and medical applications of Panax ginseng and ginsenosides: a review for use in cardiovascular diseases*. *Journal of Ginseng Research*, 42(3), 264–269.
- 42 WHO Monographs on Selected Medicinal Plants (1999), *Radix Glycyrrhizae*.
- 43 Choi, M. J., Kim, S. C., & Cho, S. H. (2014). Intravenous injection of saeng maek san-a safe method of treatment in rats. *Journal of Pharmacopuncture*, 17(2), 67.
- 44 Zhou, Q., Qin, W. Z., Liu, S. B., Kwong, J. S., Zhou, J., & Chen, J. (2014). Shengmai (a traditional Chinese herbal medicine) for heart failure. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (4).
- 45 Seo, T. B., Baek, K., Kwon, K. B., Lee, S. I., Lim, J. S., Seol, I. C., ... & Namgung, U. (2009). Shengmai-san–Mediated Enhancement of Regenerative Responses of Spinal Cord Axons After Injury in Rats. *Journal of pharmacological sciences*, 110(4), 483-492.
- 46 Okab, A.B., S.G. El-Banna and A.A. Koriem, (2008). *Influence of environmental temperatures on some physiological and biochemical parameters of New Zealand rabbits male*. *Slovak J. Anim. Sci.*, 41: 12-19.
- 47 Kishik, W.H., R.A. Tharwat, H.A. Khalil and M.A. Ayoub (2009), *Seasonal effects on White New Zealand and Californian rabbit bucks semen characteristics, hematological parameters and body reaction*

performance in Egypt. Proceedings of the 5th International Poultry Conference, March 10-13, Taba, Egypt, pp: 1582-1590.

- 48 Ondruska, L., J. Rafay, A.B. Okab, M.A. Ayoub and A.A. AlHaidary et al, (2011), *Influence of elevated ambient temperature upon some physiological measurements of New Zealand White rabbits. Vet. Med., 4: 180-186.*
- 49 Askar, A.A. and E.I. Ismail (2012), *Impact of heat stress exposure on some reproductive and physiological traits of rabbit does. Egypt. J. Anim. Prod., 49: 151-159.*
- 50 Liu C.-C., Shih M.-F., Wen Y.-S. et al (2014), *Dexamethasone improves heat stroke-induced multiorgan dysfunction and damage in rats. Int J Mol Sci, 15(11), 21299–21313.*
- 51 Nabavi, S. F., Sureda, A., Habtemariam, S., & Nabavi, S. M. (2015). Ginsenoside Rd and ischemic stroke; a short review of literatures. *Journal of Ginseng Research, 39(4), 299-303.*
- 52 Im, D. S., & Nah, S. Y. (2013). Yin and Yang of ginseng pharmacology: ginsenosides vs gintonin. *Acta Pharmacologica Sinica, 34(11), 1367-1373.*
- 53 Ghaemina, M., Rajkumar, R., Koh, H. L., Dawe, G. S., & Tan, C. H. (2018). Ginsenoside Rg1 modulates medial prefrontal cortical firing and suppresses the hippocampo-medial prefrontal cortical long-term potentiation. *Journal of Ginseng Research, 42(3), 298-303.*
- 54 Lin, C. J., Su, Y. C., Lee, C. H., Li, T. C., Chen, Y. A., & Lin, S. J. S. (2013). Bai-hu-tang, ancient chinese medicine formula, may provide a new complementary treatment option for sepsis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013.*
- 55 Liu, H. K., Hung, T. M., Huang, H. C., Lee, I., Chang, C. C., Cheng, J. J., ... & Huang, C. (2015). Bai-Hu-Jia-Ren-Shen-Tang decoction reduces fatty

liver by activating AMP-activated protein kinase in vitro and in vivo. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.

Phụ lục 1
SẢN PHẨM NGHIÊN CỨU

