

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y - DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



TRẦN THỊ DIỆU TRANG

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP, ĐỘC
TÍNH BÁN TRƯỜNG DIỄN VÀ TÁC
DỤNG HẠ SỐT CỦA VIÊN NANG
“LIÊN NGÂN SK” TRÊN ĐỘNG VẬT
THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

HÀ NỘI, NĂM 2023

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

BỘ Y TẾ



TRẦN THỊ DIỆU TRANG

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP, ĐỘC
TÍNH BÁN TRƯỜNG DIỄN VÀ TÁC
DỤNG HẠ SÓT CỦA VIÊN NANG
“LIÊN NGÂN SK” TRÊN ĐỘNG VẬT
THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

Chuyên ngành: Y học cổ truyền

Mã số: 8720115

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Đậ Xuân Cảnh

HÀ NỘI, NĂM 2023

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. Đậu Xuân Cảnh là 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 cũng xin bày tỏ lòng biết ơn tới PGS.TS. Nguyễn Hoàng Ngân cùng toàn thể thầy cô, các anh chị kỹ thuật viên, các em sinh viên đang nghiên cứu khoa học tại bộ môn Dược lý, Học viện Quân Y đã luôn bên tôi, giúp đỡ tôi trong quá trình tôi thực hiện và nghiên cứu.

Tôi xin 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: Trung tâm Y tế huyện Lạc Dương 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 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

Trần Thị Diệu Trang

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Trần Thị Diệu Trang, 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. Đậu Xuân Cảnh.

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 2023

Tác giả

Trần Thị Diệu Trang

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Tổng quan về sốt theo Y học hiện đại	3
1.1.1. Định nghĩa	3
1.1.2. Chất gây sốt (Pyrogene)	3
1.1.3. Các giai đoạn của quá trình sốt	4
1.1.4. Cơ chế bệnh sinh	4
1.1.5. Các yếu tố ảnh hưởng tới sốt	6
1.1.6. Cách xử trí khi người bệnh bị sốt	6
1.2. Tổng quan về sốt theo Y học cổ truyền	7
1.2.1. Cơ sở lý luận	7
1.2.2. Nguyên nhân	8
1.2.3. Cơ chế bệnh sinh	8
1.2.4. Triệu chứng sốt theo Y học cổ truyền	9
1.2.5. Thể bệnh và điều trị	9
1.3. Tình hình các nghiên cứu về hạ sốt trên thế giới và trong nước	10
1.3.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới	10
1.3.2. Tình hình nghiên cứu trong nước	12
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	13
1.4.3. Các phương pháp thử nghiệm độc tính bán trường diễn ...	15
1.5. Tổng quan về mô hình sốt và hạ thân nhiệt của chuột do Lipopolysaccharide gây ra	18

1.5.1. Mô hình gây sốt bằng men	18
1.5.2. Mô hình gây sốt bằng vaccin thương hàn – cận thương hàn ...	18
1.5.3. Mô hình gây sốt bằng Lipopolysaccharide (LPS) trên thỏ	19
1.6. Tổng quan về viên nang “Liên ngân SK”	19
1.6.1. Xuyên tâm liên (<i>Herba Andrographitis</i>)	20
1.6.2. Kim ngân hoa (<i>Flos Lonicerae</i>)	22
1.6.3. Đinh lăng (<i>Radix Polysciacis</i>)	23
1.6.4. Sâm đại hành (<i>Curculigo orchioides Gaertn</i>)	24
1.6.5. Nhân sâm (<i>Radix Ginseng</i>)	25
Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	27
2.1. Đối tượng và phương tiện nghiên cứu	27
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu	27
2.1.2. Hóa chất nghiên cứu	28
2.1.3. Thiết bị nghiên cứu	28
2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu	28
2.2.1. Địa điểm nghiên cứu	28
2.2.2. Thời gian nghiên cứu	29
2.3. Động vật nghiên cứu	29
2.4. Phương pháp nghiên cứu	29
2.4.1. Đánh giá độc tính cấp	29
2.4.2. Đánh giá độc tính bán trường diễn	30
2.4.3. Đánh giá tác dụng hạ sốt	31
2.5. Sơ đồ nghiên cứu	32
2.6. Xử lý số liệu và phân tích số liệu	32
2.7. Sai số và không chế sai số	32
2.7. Đạo đức trong nghiên cứu	32
Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	34

3.1. Kết quả đánh giá độc tính cấp	34
3.2. Kết quả đánh giá độc tính bán trường diễn	35
3.2.1. Tình trạng chung	35
3.2.2. Sự thay đổi thể trọng của chuột	35
3.2.3. Ảnh hưởng của Liên ngân SK đối với một số chỉ tiêu huyết học của chuột	36
3.2.4. Đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan khi dùng Liên ngân SK dài ngày	39
3.2.5. Đánh giá ảnh hưởng lên chức năng gan khi dùng Liên ngân SK dài ngày	40
3.2.6. Đánh giá ảnh hưởng lên cholesterol toàn phần máu khi dùng Liên ngân SK dài ngày	41
3.2.7. Đánh giá ảnh hưởng lên chức năng thận khi dùng Liên ngân SK dài ngày	42
3.2.8. Kết quả mô bệnh học tạng của chuột thí nghiệm	43
3.3. Kết quả đánh giá tác dụng hạ sốt	47
3.3.1. Nhiệt độ trung bình của chuột trước nghiên cứu	47
3.3.2. Thay đổi nhiệt độ cơ thể chuột sau gây sốt	48
3.3.3. Kết quả đánh giá nồng độ các cytokine TNF- α , IL-1 β và IL-6 trong huyết thanh chuột	49
Chương 4. BÀN LUẬN	51
4.1. Sự cần thiết nghiên cứu của Liên ngân SK trong điều trị hạ sốt	51
4.2. Bàn luận về động vật nghiên cứu và mô hình nghiên cứu	53
4.3. Về độc tính cấp, độc tính bán trường diễn của viên nang Liên Ngân SK trên động vật thực nghiệm	55
4.4. Đánh giá tác dụng hạ sốt của viên nang Liên Ngân SK trên động vật thực nghiệm	60

KẾT LUẬN	63
KIẾN NGHỊ	65
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
Phụ lục	

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Viết tắt	Tiếng việt	Tiếng Anh
ATP		Adenozin triphotphat
AST		Aspartat aminotransferase
COVID-19	Bệnh virus corona 2019	
ĐVTN	Động vật thí nghiệm	
LPS		lipopolysacarid
OECD	Tổ chức Hợp tác và Phát triển kinh tế	Organization for Economic Cooperation and Development
YHCT	Y học cổ truyền	
YHHĐ	Y học hiện đại	
WHO	Tổ chức y tế thế giới	World Health Organization

DANH MỤC BẢNG BIỂU

Bảng 2.1. Thành phần viên nang cứng Liên ngân SK	27
Bảng 3.1. Độc tính cấp đường uống của viên nang cứng Liên ngân SK trên chuột nhắt trắng	34
Bảng 3.2. Ảnh hưởng của Liên ngân SK đối với thể trọng chuột ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)	35
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Liên ngân SK lên số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)	36
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Liên ngân SK lên hematocrit và thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)	37
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của Liên ngân SK lên số lượng bạch cầu và tiểu cầu trong máu chuột ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)	38
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của Liên ngân SK đối với hoạt độ AST và ALT ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)	39
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Liên ngân SK lên các chỉ số albumin và bilirubin toàn phần trong máu ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)	40
Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Liên ngân SK lên cholesterol toàn phần trong máu ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)	41
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của Liên ngân SK lên hàm lượng creatinin máu chuột ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)	42
Bảng 3.10. Nhiệt độ trung bình của chuột trước nghiên cứu ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)	47
Bảng 3.11. Nhiệt độ trung bình của chuột tại các thời điểm sau tiêm LPS ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)	48
Bảng 3.12. Nồng độ TNF- α , IL-1 β và IL-6 trong huyết thanh chuột nghiên cứu (Mean \pm SD, $n = 10$)	49

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Ảnh 1.1: Xuyên tâm liên (<i>Herba Andrographitis</i>)	20
Ảnh 1.2: Kim ngân hoa (<i>Flos Lonicerae</i>)	22
Ảnh 1.3: Đinh lăng (<i>Radix Polysciacis</i>)	23
Ảnh 1.4: Sâm đại hành (<i>Curculigo orchioides Gaertn</i>)	24
Ảnh 1.5: Nhân sâm (<i>Radix Ginseng</i>)	25
Ảnh 3.1: Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột lô chứng	43
Ảnh 3.2: Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột lô trị 1	43
Ảnh 3.3: Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột lô trị 2	43
Ảnh 3.4: Hình ảnh vi thể gan chuột lô chứng. HE, x 400	44
Ảnh 3.5: Hình ảnh vi thể gan chuột lô trị 1. HE, x 400	44
Ảnh 3.6: Hình ảnh vi thể gan chuột lô trị 2. HE, x 400	44
Ảnh 3.7: Hình ảnh vi thể lách chuột lô chứng. HE, x 400	45
Ảnh 3.8: Hình ảnh vi thể lách chuột lô trị 1. HE, x 400	45
Ảnh 3.9: Hình ảnh vi thể lách chuột lô trị 2. HE, x 400	45
Ảnh 3.10: Hình ảnh vi thể thận chuột lô chứng. HE, x 400	46
Ảnh 3.11: Hình ảnh vi thể thận chuột lô trị 1. HE, x 400	46
Ảnh 3.12: Hình ảnh vi thể thận chuột lô trị 2. HE, x 400	46

ĐẶT VẤN ĐỀ

Sốt là hiện tượng tăng thân nhiệt chủ động do tác nhân gây sốt tạo nên, đây là triệu chứng thường gặp của nhiều bệnh lý toàn thân và xuất hiện ở nhiều loại bệnh khác nhau gây nên rối loạn điều hòa thân nhiệt, làm phá vỡ sự cân bằng giữa sinh nhiệt và thải nhiệt của cơ thể [1].

Sốt là một phản ứng thông qua trung gian não nhằm bảo vệ cơ thể trước những tác nhân gây bệnh. Trong sốt, nhiệt độ cơ thể tăng lên vượt qua khoảng thân nhiệt thông thường [2],[3]. Sốt có tác dụng kích thích các quá trình chuyển hóa trong tế bào, tạo điều kiện cho việc tích lũy năng lượng dự trữ và tăng đáp ứng miễn dịch. Tuy nhiên, sốt cao và kéo dài lại gây ra bất lợi cho cơ thể. Sốt khiến cơ thể bị mất nước, rối loạn chất điện giải, rất nguy hiểm đối với trẻ em và trẻ sơ sinh. Đối tượng bị sốt cao có thể gặp phải các tổn thương thần kinh chẳng hạn như co giật ở trẻ em, tăng nhịp tim, khó thở, giảm chức năng tiêu hóa....[1]. Để khắc phục các tình trạng này, một số các hoạt chất đã được dùng trong lâm sàng như paracetamol, ibuprofen, aspirin...[1]. Tuy nhiên, chúng có nhiều tác dụng không mong muốn đôi khi thách thức các tác dụng chính của chúng. Các nguồn hoạt chất khác nhau đang được điều tra trên toàn thế giới để khắc phục các vấn đề về tác dụng không mong muốn và đáp ứng điều trị tốt hơn.... Do vậy, cần tiếp tục nghiên cứu tìm ra các loại thuốc mới có tác dụng hạ sốt, đặc biệt nguồn gốc từ thảo dược.

Theo lý luận của Y học Cổ truyền, sốt thuộc phạm vi chứng phát nhiệt và được mô tả trong nhiều tài liệu. Y học Cổ truyền cũng mô tả nhiều phương pháp hạ sốt. Để điều trị sốt, kinh nghiệm lâu đời của Y học cổ truyền (YHCT) sử dụng thuốc có nguồn gốc thiên nhiên, dung nạp tốt, hầu như không các tác dụng không mong muốn và đạt kết quả tốt. Một số bài thuốc kinh điển để điều trị chứng sốt như: “Bạch hổ thang”, “Tang cúc ẩm”, “Thanh ôn bại độc tán”, “Thanh dinh thang”, “Ngân kiều tán”...[4].

Việt Nam với nền Y học cổ truyền (YHCT) lâu đời, truyền thống sử dụng thảo dược là thuốc vô cùng phong phú. Với phương châm “Nam dược trị Nam nhân” nghĩa là: dùng thuốc nam trị bệnh cho người Nam của ông tổ thuốc nam – Tuệ Tĩnh đã ảnh hưởng sâu sắc đến nhiều thế hệ thầy thuốc Y học cổ truyền Việt Nam. Vì vậy, việc nghiên cứu tìm kiếm sản phẩm nguồn gốc thảo dược nhằm tăng thêm sự lựa chọn cho người thầy thuốc đồng thời cung cấp thêm phương pháp điều trị hạn chế được tác dụng không mong muốn cho người bệnh là rất cần thiết.

“Liên ngân SK” là chế phẩm nghiệm phương của PGS.TS. Đậu Xuân Cảnh trong đó có sự kết hợp của các vị thuốc Nhân sâm, Xuyên tâm liên, Kim ngân hoa, Đinh lăng, Sâm đại hành theo lý luận y học cổ truyền có tác dụng bổ khí, ích huyết, thanh nhiệt giải độc, tiêu viêm. “Liên ngân SK” đã và đang được sử dụng nhiều năm qua trên lâm sàng trong điều trị sốt phát ban, sốt virus giai đoạn chưa có biến chứng.

Để có thêm cơ sở khoa học nhằm ứng dụng vào thực tiễn chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: ***“Nghiên cứu độc tính cấp, độc tính bán trường diễn và tác dụng hạ sốt của viên nang “Liên Ngân SK” trên động vật thực nghiệm”***, với hai mục tiêu:

1. *Đánh giá độc tính cấp, bán trường diễn của viên nang “Liên Ngân SK” trên thực nghiệm;*

2. *Đánh giá tác dụng hạ sốt của viên nang “Liên Ngân SK” trên thực nghiệm.*

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan về sốt theo Y học hiện đại

1.1.1. Định nghĩa

Sau ba lần sửa đổi, Ủy ban Sinh lý Nhiệt của Liên minh Khoa học Sinh lý Quốc tế đã định nghĩa sốt là sự gia tăng nhiệt độ cơ thể do sự thay đổi các đặc tính của bộ điều khiển nhiệt. Nó thường là một phần của phản ứng bảo vệ của sinh vật (vật chủ) trước sự xâm nhập của mầm bệnh hoặc sinh vật lạ (vi sinh vật) hoặc các chất vô tri. Ở mức này, nhiệt độ lõi sẽ được duy trì trong một khoảng thời gian [5]. Ở một người khỏe mạnh bình thường, mạng lưới điều hòa nhiệt độ của cơ thể duy trì nhiệt độ ở mức 36,2–37,5°C [6]. Nhiều nghiên cứu y tế và lâm sàng coi nhiệt độ trực tràng $\geq 38^\circ\text{C}$ hoặc nhiệt độ nách $\geq 37,5^\circ\text{C}$ là biểu hiện của sốt [7]. Điều đáng chú ý là không phải tất cả các đợt tăng nhiệt độ đều có thể được coi là sốt. Trên lâm sàng có 2 trường hợp tăng thân nhiệt điển hình là sốt và tăng thân nhiệt. Trái ngược với cơn sốt, trong tình trạng tăng thân nhiệt, nhiệt độ cài đặt không thay đổi; nó xảy ra để đáp ứng với các kích thích cụ thể về môi trường, dược lý hoặc nội tiết. Nhiệt độ cơ thể tăng cao xảy ra trong hội chứng tăng thân nhiệt có thể vượt quá 41°C [8]. Tăng thân nhiệt không phản ứng với thuốc hạ sốt điển hình vì không có phân tử gây sốt [9]; điều này phân biệt sốt với tăng thân nhiệt.

1.1.2. Chất gây sốt (Pyrogene)

Gồm 2 loại: ngoại sinh và nội sinh

1.1.2.1. Chất gây sốt ngoại sinh

Được biết rõ nhất là các sản phẩm của vi khuẩn (nội độc tố: lipopolysaccharid LPS, ngoại độc tố). Ngoài ra, còn sản phẩm của virus, nấm, ký sinh vật sốt rét, tế bào u, phức hợp miễn dịch.... Cơ thể có hiện tượng “quen

thuốc” với chất gây sốt ngoại sinh: nghĩa là càng dùng lâu càng phải tăng liều lượng [1],[10].

1.1.2.2. Chất gây sốt nội sinh

Các chất ngoại sinh phải thông qua chất gây nội sinh mới có tác dụng. Nay đã tìm ra và đã biết công thức hóa học cũng như cách tác dụng của một số chất. Đó là các cytokin do bạch cầu (chủ yếu đại thực bào) sinh ra (hàng đầu là IL-1, IL-6, TNF-a) thông qua prostaglandin E2 tác động lên thụ thể ở trung tâm điều nhiệt gây ra sốt. Nay đã biết rõ một trong cơ chế giảm sốt của aspirin là nó ức chế sự sản xuất prostaglandin E2 [1],[10].

1.1.3. Các giai đoạn của quá trình sốt

- Giai đoạn tăng thân nhiệt (sốt tăng);
- Giai đoạn thân nhiệt ổn định ở mức cao (sốt đứng);
- Giai đoạn thân nhiệt trở về bình thường (sốt lui) [1],[10].

1.1.4. Cơ chế bệnh sinh

1.1.4.1. Nhiệt độ bình thường

- Nhiệt độ bình thường đo ở miệng 37°C (từ 37,2°C đến 37,8°C lúc nghỉ)
- Nhiệt độ bình thường đo ở trực tràng cao hơn nhiệt độ đo ở miệng khoảng 0,6°C.
- Biến đổi sinh lý:
 - + Biến đổi trong ngày: tăng 1°C từ 18 đến 22 giờ.
 - + Sau gắng sức cơ bắp trung bình: tăng đến 0,5°C.
 - + Khi thời tiết quá nóng: tăng 1°C lúc nghỉ.
 - + Ở phụ nữ có kinh nguyệt: nhiệt độ cơ thể tăng 1°C vào phần sau của chu kỳ kinh nguyệt [1],[10].

1.1.4.2. Cơ chế điều hòa thân nhiệt

- Sinh sản nhiệt lượng (chuyển hoá): bằng cách đốt cháy các protein, chất mỡ, các carbon hydrat. Các sinh sản này tăng lên dưới tác động của hormon tuyến giáp và gắng sức do cơ bắp hữu ý hay không hữu ý (run).

– Làm giảm nhiệt lượng: bằng cách đối lưu, phát xạ và bốc hơi (có thể đến một lít trong một giờ). Các biện pháp giảm nhiệt phụ như qua tiếp xúc, ví dụ khi đối tượng được ngâm trong nước. Việc giảm nhiệt phần lớn được điều hoà bằng thay đổi tưới máu ở da.

– Các quá trình hoá sinh hoặc lý sinh trong sinh sản và làm giảm năng lượng đều được đặt dưới sự kiểm soát của các trung tâm điều hoà thân nhiệt ở não, vùng dưới đồi. Bình thường các trung tâm này làm giảm nhiệt lượng, nếu thân nhiệt tăng. Chúng làm tăng nhiệt (rét run) và giảm sự mất nhiệt ngoài da khi thân nhiệt giảm [1],[10].

1.1.4.3. Tăng nhiệt độ do rối loạn điều hoà thân nhiệt

– Các bệnh của hệ thần kinh trung ương: tổn thương của các trung tâm điều hoà thân nhiệt thường kèm theo tăng nhiệt (khối u, tai biến mạch máu não, viêm não), trong điều kiện này có một sự dao động nhiệt trong ngày như vẫn xảy ra trong trạng thái sinh lý, không thoát mồ hôi cho các thuốc hạ nhiệt không kết quả. Đáp ứng quá mức khi nhiệt độ ở ngoài hạ.

– Tăng sinh sản nhiệt lượng: trong bệnh cường giáp, việc tăng chuyển hoá cơ bản thường kèm theo tăng thân nhiệt từ 1°C đến 2°C.

– Giảm khả năng tiêu nhiệt lượng: có hiện tượng tăng thêm thân nhiệt khi nhiệt độ ở ngoài cao, gặp trong suy tim, một số bệnh ngoài da, bỏng rộng, khi dùng một số thuốc ức chế ra mồ hôi (thuốc chống tiết cholin, các chất phenothiazin).

– Say nóng: khi nhiệt độ ở ngoài cao quá và không khí lại ẩm, các trung tâm điều hoà thân nhiệt trở nên bất lực và thân nhiệt có thể quá 41°C, nhất là khi có gắng sức cơ bắp cao.

– Tăng thân nhiệt ác tính: gặp trong các trường hợp sau gây mê toàn thân ở một số người có cơ địa di truyền [1],[10].

1.1.4.4. Hiện tượng sốt

Nhiệt độ tăng lên do nhiều yếu tố tham gia có liên quan với sức đề kháng miễn dịch, tác động một phần lên các trung tâm điều hoà thân nhiệt vùng dưới đồi và một phần lên các tổ chức ngoại biên. Các chất sinh nhiệt lại có thể là các vi sinh vật, nội độc tố, phức hợp kháng nguyên – kháng thể và tác động thông qua các chất sinh nhiệt nội tại (các protein hình thành từ các monocid đáp ứng với các chất sinh nhiệt ngoại lai hoặc do tiêu huỷ tổ chức). Các chất gây nhiệt nội tại tác động lên các thụ thể đặc hiệu của các noron vùng dưới đồi phía trước; các thụ thể giải phóng ra prostaglandin và là nguồn gốc của các tín hiệu dẫn đến co mạch, tăng sinh sản nhiệt lượng và cuối cùng gây sốt [1],[10].

1.1.4.5. Tác động của các chất hạ sốt

Thuốc tác động trên các trung tâm điều hoà nhiệt độ ở vùng dưới đồi bằng cách ức chế tổng hợp prostaglandin và tạo điều kiện cho cơ thể tăng tiêu nhiệt qua giãn mạch và tăng tiết mồ hôi [1],[10].

1.1.5. Các yếu tố ảnh hưởng tới sốt

- Vai trò của vỏ não. Thí nghiệm: trước khi gây sốt, nếu tiêm cafein, thì cơn sốt cao hơn bình thường nhưng nếu cho động vật uống bromua thì sốt nhẹ hơn. Như vậy mức độ sốt phụ thuộc vào mức hưng phấn của vỏ não, qua đó cũng phụ thuộc vào mức hưng phấn của hệ giao cảm.

- Vai trò tuổi: ở trẻ nhỏ, phản ứng sốt thường mạnh, dễ bị co giật vì thân nhiệt cao. Ngược lại, ở người già phản ứng sốt yếu không thể hiện được mức độ bệnh. Ở đây có vai trò của cường độ chuyển hóa.

- Vai trò nội tiết. Sốt ở người ưu năng giáp thường cao, giống như tiêm adrenalin trước khi gây sốt thực nghiệm. Ngược lại, hormon vỏ thượng thận làm giảm cường độ sốt. Có sự liên quan với tình trạng chuyển hóa [1],[10].

1.1.6. Cách xử trí khi người bệnh bị sốt

Khi bệnh nhân đang lên cơn sốt:

- Để người bệnh nằm ở nơi thông thoáng khí, không có gió lùa và hạn chế nhiều người vây quanh.

- Cặp nhiệt độ: Có thể đặt nhiệt kế ở dưới nách hoặc ở hậu môn của bệnh nhân. Nhiệt kế phải được giữ trong nách ít nhất 3 phút, cánh tay của bệnh nhân áp sát vào ngực.

- Nếu thân nhiệt của người bệnh không quá 39°C: Bệnh nhân cần được cởi quần áo ấm, mặc thoáng mát, không đắp chăn. Đặc biệt, theo dõi nhiệt độ của người bệnh thường xuyên, cứ khoảng 1-2 giờ đo 1 lần.

Chườm mát để hạ sốt bằng cách: lau người, hoặc tắm cho người bệnh bằng nước ấm. Dùng khăn bông mềm, sạch, nhúng vào chậu nước ấm, vắt hơi ráo rồi lau lên khắp thân mình, nhất là các vị trí như nách, bẹn, chõ bồng hơi thì lau tiếp cho tới khi thân nhiệt hạ xuống dưới 38°C, mặc lại quần áo cho người bệnh. Cần phải theo dõi nếu thân nhiệt lại tăng thì lại chườm tiếp.

- Nếu thân nhiệt bệnh nhân từ 39°C trở lên: Cần uống thuốc hạ sốt paracetamol theo đúng liều lượng, cân nặng và khoảng cách giữ hai lần uống thuốc ghi trong hướng dẫn sử dụng. Nếu bệnh nhân buồn nôn không uống được thuốc thì có thể dùng viên đạn nhét hậu môn.

- Cho người bệnh uống nhiều nước, nếu ở trẻ còn bú thì cho bú nhiều hơn. Bù nước và điện giải cho bệnh nhân bằng Oresol theo đúng hướng dẫn sử dụng.

- Cho bệnh nhân ăn uống bình thường bằng các loại thức ăn lỏng, dễ tiêu như cháo, súp,... uống thêm các loại nước hoa quả như cam, chanh,...[1],[10],[11].

1.2. Tổng quan về sốt theo y học cổ truyền

1.2.1. Cơ sở lý luận

Theo YHCT, sốt là tình trạng cơ thể nóng lên (phát nhiệt) do rất nhiều nguyên nhân bên ngoài (ngoại nhân) và bên trong (nội nhân). Ngoại nhân gây bệnh được YHCT gọi là “ngoại tà”, còn nội nhân gọi là “nội thương”. Ngoại tà

là nguyên nhân chủ yếu của sốt ngoại cảm, tức là sốt do cảm cúm thông thường (cúm mùa), YHCT gọi là cảm phong hàn. Tuy vậy, YHCT quan niệm rằng ngoại tà muốn xâm nhập vào cơ thể và gây bệnh còn phải do nguyên nhân cơ thể suy yếu (chính khí suy). Do vậy, khi điều trị sốt do ngoại cảm, YHCT thường chú trọng nâng cao “chính khí” của cơ thể song song với việc đẩy lui “ngoại tà” (“ích khí dưỡng âm, thanh nhiệt giải độc”) [12].

1.2.2. Nguyên nhân

Do nhiều nguyên nhân và được chia thành

1.2.2.1. Nguyên nhân bên ngoài (ngoại nhân)

Nguyên nhân bên ngoài là nguyên nhân hay gặp nhất, hay còn gọi là nguyên nhân “Lục dâm” bao gồm: phong, hàn, thử, thấp, táo, hỏa. Các nguyên nhân này có thể gây bệnh độc lập, cũng có thể kết hợp với nhau để cùng gây bệnh. Và mỗi nguyên nhân gây bệnh lại có tính chất đặc thù riêng, vì vậy dựa vào tính chất đặc thù đó mà ta có thể chẩn đoán chính xác được nguyên nhân gây bệnh [12],[13].

1.2.2.2. Nguyên nhân bên trong (nội nhân)

Sốt do nguyên nhân bên trong phần lớn là do phần âm bị hư tổn, phần dương vượng lên (âm hư sinh nội nhiệt) [13].

1.2.3. Cơ chế bệnh sinh

1.2.3.1. Sốt do nguyên nhân bên ngoài

Do ngoại tà (lục dâm) chủ yếu là nhiệt tà, ôn tà xâm phạm vào cơ thể. Chính khí ở phần vệ giao tranh với tà khí gây hiện tượng rối loạn chức năng ôn âm phần bì phu cơ nhục, vì vậy nhiệt của cơ thể tăng lên.

Theo sách Linh khu nói: “Phế hành khí làm ấm da lông, vì tầng da ở ngoài là chỗ dương khí phân bố ra để bảo vệ ở ngoài cơ thể, nó có thể theo vào sự biến hóa của khí hậu ngoại giới và ôn khí của thân thể mà làm thành tác dụng điều tiết. Cơ năng của bì phu có quan hệ với phế, phế hư thì dương khí hư, cơ năng thích ứng của bì phu sẽ giảm, tà khí thực bên ngoài dễ xâm nhập vào”

[14]. Vì vậy, sốt do ngoại cảm thường qua phế: liên hệ theo y học hiện đại đó là viêm đường hô hấp trên, cảm cúm,... do đó sốt do ngoại cảm thường rất hay gặp [13],[14].

1.2.3.2. Sốt do nguyên nhân bên trong

Nguyên nhân bên trong chủ yếu do các tạng phủ âm dương mất điều hòa vì vậy sinh bệnh: “dương thắng sinh nhiệt”.

1.2.4. Triệu chứng sốt theo Y học cổ truyền

Triệu chứng sốt của YHCT trong các y văn mô tả đó là triệu chứng của nhiệt với các biểu hiện qua tứ chẩn:

- Vọng chẩn: mặt đỏ, lưỡng quyền đỏ, lưỡi đỏ, rêu lưỡi trắng, hoặc vàng khô, nước tiểu đỏ hoặc vàng ít.

- Vãn chẩn: tiếng nói to, hơi thở nóng.

- Vấn chẩn: đau đầu, đau mình mẩy, cảm giác nóng, háo khát hoặc khát nước, thích uống nước mát, có thể có ho, khó thở nếu kèm theo ớn lạnh, bệnh thường thuộc lý, tùy theo tạng phủ bị bệnh mà kèm theo triệu chứng bệnh của tạng phủ đó.

- Thiết chẩn: da nóng

+ Mạch chẩn: nếu bệnh ở biểu: mạch phù sắc; nếu bệnh vào lý: mạch trầm sắc [13],[14].

1.2.5. Thể bệnh và điều trị

1.2.5.1. Điều trị sốt do ngoại cảm

Tùy theo nguyên nhân gây bệnh mà ta có các pháp điều trị khác nhau:

- Sốt do ngoại cảm phong nhiệt:

+ Triệu chứng: sốt nóng, mặt đỏ, mắt đỏ, nhức đầu, đau mình mẩy, ra mồ hôi, khát nước, tiểu tiện đỏ, lưỡi đỏ, mạch phù sắc.

+ Pháp điều trị: phát tán phong nhiệt.

+ Phương thuốc: “Thông xị thang”; Nếu có ớn lạnh dùng “Ngân kiều tán”

- Sốt do ngoại cảm phong hàn:

+ Triệu chứng: sốt, không có mồ hôi, nhức đầu, chảy nước mũi, ho, không khát nước, lưỡi hồng, mạch phù sắc.

+ Pháp điều trị: phát tán phong hàn.

+ Phương thuốc: nếu biểu thực dùng “Ma hoàng thang”; Nếu biểu hư dùng “Quế chi thang”.

- Sốt do cảm thử (ôn tà):

+ Triệu chứng: sốt nóng, đau đầu, nhiều mồ hôi, khát nước, mặt đỏ, mắt đỏ, lưỡi đỏ, mạch sắc.

+ Pháp điều trị: giải biểu tiết nhiệt.

+ Phương thuốc: “Lục nhất tán” [13],[14].

1.2.5.2. Điều trị sốt do nội thương

Tùy theo từng thể bệnh mà ta có pháp điều trị khác nhau:

- Thường là do âm hư: pháp điều trị là bổ âm thanh hư nhiệt.

+ Thận âm hư: pháp điều trị là bổ thận âm.

+ Phế âm hư: pháp điều trị là bổ phế âm.

+ Tâm âm hư: pháp điều trị là bổ tâm âm [13],[14].

1.3. Tình hình các nghiên cứu về hạ sốt trên thế giới và trong nước

1.3.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới

Năm 2017, Tiany Futihat Maulida, Dessie Wanda nghiên cứu “Việc sử dụng y học cổ truyền để điều trị sốt ở trẻ em trong văn hóa phương Tây Java”, Sốt thường xuyên ảnh hưởng đến trẻ mới biết đi và có thể khiến cha mẹ của chúng không yên tâm. Nghiên cứu này nhằm xác định các loại thuốc cổ truyền phổ biến được các bậc cha mẹ sử dụng để điều trị sốt cho con họ tại nhà. Nghiên cứu được thực hiện tại Karyasari, Leuwiliang, Quận Bogor. Nó được mô tả trong thiết kế và công cụ được sử dụng là một bảng câu hỏi do các tác giả phát triển. Một nhóm gồm 106 người được hỏi đã được chọn thông qua phương pháp chọn mẫu theo cụm. Tất cả những người được hỏi đều là nữ; người trẻ nhất 20 tuổi và người lớn nhất 53 tuổi. Phần lớn những người được hỏi đã tốt nghiệp

tiểu học và trung học cơ sở (93%), hiện đang thất nghiệp (95%) và có thu nhập hộ gia đình thấp hơn mức lương tối thiểu vùng của Bogor (RMW) (91%). Đa số các bà mẹ (90,6%) nhận biết con sốt thông qua cảm nhận xúc giác. Thuốc đông dược mà người được hỏi sử dụng nhiều nhất là hành (86,8%) trộn với dầu (64,2%) và bôi lên cơ thể (86,8%). Kết quả của nghiên cứu này cho thấy nhu cầu giáo dục sức khỏe liên quan đến việc sử dụng y học cổ truyền để điều trị sốt [15].

Năm 2021, Feng Li, Yongqing Jiang, Bei Yue, Lili Luan nghiên cứu “Sử dụng y học cổ truyền Trung Quốc như một phương pháp điều trị hỗ trợ cho COVID-19”, Tám nghiên cứu với tổng số 750 bệnh nhân được đưa vào phân tích tổng hợp này. Tất cả đều bao gồm các nhóm thử nghiệm tham gia điều trị bằng TCM và Tây y, trong khi các nhóm đối chứng chỉ được điều trị bằng Tây y. Liệu pháp can thiệp cải thiện đáng kể tỷ lệ hiệu quả tổng thể ($n = 346$, OR = 2,5, KTC 95% = 1,46-4,29), tỷ lệ biến mất triệu chứng sốt ($n = 436$; OR = 3,6; KTC 95% = 2,13-6,08), mệt mỏi tỷ lệ biến mất triệu chứng ($n = 436$; OR = 3,04; KTC 95% = 1,76-5,26), tỷ lệ biến mất triệu chứng ho ($n = 436$; OR = 2,91; KTC 95% = 1,36-6,19) và giảm sản xuất đờm ($n = 436$; OR = 5,51; KTC 95% = 1,94-15,64). Dựa trên đánh giá Thang điểm Newcastle-Ottawa, 6 nghiên cứu nhận được điểm 4 và 1 nghiên cứu đạt điểm 5. Một nghiên cứu được đánh giá bằng cách sử dụng điểm Jadad đã sửa đổi, đạt được điểm 6 [16].

Nuntika Prommee cùng cộng sự (2022) “Điều tra về tác dụng hạ sốt và độ an toàn của Prasachandaeng, một phương thuốc truyền thống từ danh mục thuốc thiết yếu quốc gia Thái Lan”. Phương thuốc Prasachandaeng từ Danh sách Thuốc thiết yếu Quốc gia Thái Lan đã được sử dụng làm thuốc hạ sốt cho bệnh sốt mãn tính ở cả người lớn và trẻ em trong nhiều thế kỷ. Kết quả mô bệnh học trên mô gan tương quan với sinh hóa của các chức năng gan cho thấy không có tác dụng gây độc cho gan trong mô gan trong suốt bảy ngày điều trị. Những phát hiện này cho thấy rằng cả hai hình thức điều trị Prasachandaeng đều có hoạt tính hạ sốt rõ rệt và không gây độc cho gan trong bảy ngày dùng ở chuột [17].

1.3.2. Tình hình nghiên cứu trong nước

Năm 2004, Trần Bá Bút và cs Đánh giá tác dụng hạ sốt của bài thuốc “Lục nhất tán” ở bệnh nhân viêm nhiễm đường hô hấp trên, kết quả nghiên cứu cho thấy “Lục nhất tán” có tác dụng hạ sốt thể hiện: Thời gian hạ sốt trung bình $2,5 \pm 0,5$ giờ; Mức hạ sốt từ từ, thời gian hạ sốt duy trì lâu $8 \pm 0,5$ (giờ) [18].

Năm 2014, Nguyễn Thị Tuyết Nga và cs Nghiên cứu “Đánh giá tác dụng của bài thuốc Ngân kiều trên mô hình gây sốt thực nghiệm” kết quả nghiên cứu đã tạo được mô hình gây sốt trên thỏ bằng LPS với liều 50mg/kg thể trọng. Sau gây sốt và được điều trị bằng bài thuốc Ngân kiều với liều duy nhất, thỏ có mức tăng nhiệt thấp và ổn định trong vòng 24 giờ, mức tăng bạch cầu thấp hơn so với nhóm chứng và nhóm được điều trị bằng paracetamol [19].

Năm 2021, Lê Thị Xoan cùng cs Nghiên cứu Tác dụng hạ sốt của cao chiết Bàng biển, Bạch đầu ông và Tiết dê trên mô hình thỏ gây sốt bằng lipopolysaccharid. Kết quả cho thấy, cao chiết còn Bàng biển và Bạch đầu ông ở liều 125 và 250 mg/kg và paracetamol liều 150 mg/kg) có tác dụng hạ sốt đáng kể trên thỏ gây sốt bằng LPS. Hơn thế nữa, cao phân đoạn ethyl acetate (50 mg/kg) của Bàng biển có tác dụng hạ sốt trên mô hình này, trong khi các phân đoạn dichloromethan, n-butanol hay cồn nước của Bàng biển lại không thể hiện tác dụng này. Nghiên cứu đã gợi ý rằng, cao chiết còn Bàng biển và Bạch đầu ông có tác dụng hạ sốt và các thành phần hoạt chất có trong phân đoạn ethyl acetate của Bàng biển đóng vai trò quan trọng đối với tác dụng hạ sốt của dược liệu này [20].

Năm 2021, Trần Thị Hiền Lợi nghiên cứu “Đánh giá độc tính và tác dụng hạ sốt của cao chiết lá Bàng biển (*Calotropis gigantea*)”, kết quả cho thấy Cao chiết toàn phần Bàng biển liều 125, 250 mg/kg có tác dụng hạ sốt trên mô hình gây sốt bằng LPS trên thỏ. Cao chiết phân đoạn EtOAc của bàng biển liều 50 mg/kg thể hiện tác dụng hạ sốt trên thỏ gây sốt bằng LPS, trong khi các phân đoạn khác

không thể hiện tác dụng này. Cao chiết tiêu chuẩn Bằng biển liều 100 mg/kg và 150 mg/kg có tác dụng hạ sốt trên mô hình gây sốt cho thỏ bằng LPS [21].

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 [22]. Vì vậy, việc nghiên cứu độc tính của các thuốc y học là một 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 [22].

- 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) [22].

1.4.2.2. Mô hình thử

a) 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. Loại 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 [22].

- 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 [22].

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) [22].

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 [22].

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 độ 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 [22].

1.5. Tổng quan về mô hình sốt và hạ thân nhiệt của chuột do Lipopolysaccharide gây ra

1.5.1. Mô hình gây sốt bằng men

Mô hình của H. Gerhard Vogel đưa ra nhằm đánh giá tác dụng hạ sốt trên chuột được bố trí như sau: Chuẩn bị hỗn dịch 15% men Brewer's trong nước muối 0,9%. Mô hình sử dụng các nhóm gồm 6 con chuột Wistar đực hoặc cái (150g). Ghi lại nhiệt độ của chuột bằng cách đưa một cặp nhiệt độ vào trực tràng với độ sâu 2 cm. Gây sốt cho động vật thí nghiệm bằng cách tiêm 10 ml/kg hỗn dịch men vào dưới da ở phía sau gáy. Vị trí tiêm được xoa bóp để truyền dịch huyền phù bên dưới da. Nhiệt độ phòng được giữ ở mức 22-24°C. Ngay sau khi dùng men, thức ăn được rút ra. 18 giờ sau khi dùng men, nhiệt độ tại trực tràng bắt đầu tăng lên. Sau 30 phút sẽ thực hiện đo nhiệt độ tiếp. Chỉ những động vật có thân nhiệt cao hơn 38°C mới được đưa vào thử nghiệm. Chuột dùng thuốc thử nghiệm hoặc thuốc chứng dương bằng đường uống. Thuốc đối chứng có thể 8 dùng acid acetylsalicylic, aminophenazone, phenacetin. Nhiệt độ trực tràng được ghi lại ở thời điểm 30, 60, 120 và 180 phút sau khi dùng thuốc [23].

Một mô hình gây sốt bằng men tương tự được đưa ra năm 1963 của Teotino và cộng sự [24] thử nghiệm trên chuột cống trắng với hỗn dịch 12% được tiêm dưới da (0,01 ml/g). 10 giờ sau, cho chuột dùng thuốc thử nghiệm bằng ống thông dạ dày. Xác định thân nhiệt trung bình của chuột ở các thời điểm 90, 180, 270 phút sau khi dùng thuốc. So sánh sự khác nhau giữa thân nhiệt trung bình giữa nhóm đối chứng và nhóm thử nghiệm. Đối với acid acetylsalicylic, sự khác nhau này là 1,3°C với liều 300 mg/kg.

1.5.2. Mô hình gây sốt bằng vaccin thương hàn – cận thương hàn

Mô hình gây sốt này được mô tả bởi Godwani S. và cộng sự (1987) [24] thực hiện trên chuột cống trắng. Một lô chuột được tiêm dưới da vaccine thương hàn- cận thương hàn A/B với liều 1 mg/kg tiêm dưới da. Một hoặc 2,3 lô chuột

khác được gây sốt bằng vaccine A/B và được dùng thêm một hoặc 2,3 loại thuốc thử nghiệm bằng đường uống. Thuốc đối chứng là natri salicylate. Nhiệt độ được đo 1 phút trước khi tiêm vaccine và tại thời điểm 60, 120, 180, 240 phút sau khi tiêm.

1.5.3. Mô hình gây sốt bằng Lipopolysaccharide (LPS) trên thỏ

H. Gerhard Vogel mô tả mô hình thỏ gây sốt bằng LPS dựa trên nguyên tắc: Lipopolysaccharide từ vi khuẩn Gram âm, ví dụ E. coli, gây sốt cho thỏ sau khi tiêm tĩnh mạch. Chỉ các phân đoạn lipopolysaccharide phù hợp thì sẽ khiến nhiệt độ cơ thể sau 60 phút tăng từ 1°C trở lên với liều lượng từ 0,1 đến 0,2 µg/kg. Ở thỏ, người ta quan sát thấy hai lần tăng nhiệt độ cực đại. Cực đại đầu tiên xảy ra sau 70 phút, cực đại thứ hai sau 3 giờ [23].

Sử dụng thỏ cả hai giới và thuộc nhiều chủng khác nhau có khối lượng cơ thể từ 3 đến 5kg. Thỏ được đưa vào chuồng thích hợp và đo nhiệt độ với máy đo tự động được đưa vào trực tràng. Thỏ được nhốt lại vào chuồng trong 60 phút. Sau đó, liều 0,2 ml/kg chứa 0,2 µg lipopolysaccharide được tiêm tĩnh mạch vào tai thỏ. Sau 60 phút, mẫu thử được tiêm dưới da hoặc uống. Nhiệt độ cơ thể được theo dõi trong ít nhất 3 giờ. Trong hơn 30 phút, thân nhiệt của động vật thí nghiệm giảm ít nhất 0,5°C so với giá trị nhiệt độ trước khi sử dụng mẫu thử thì mẫu thử được coi là có tác dụng [23].

1.6. Tổng quan về viên nang “Liên ngân SK”

Viên nang “Liên ngân SK”

THÀNH PHẦN:

1 viên nang cứng chứa bột mịn cao hỗn hợp 300mg cao tương đương:

Xuyên tâm liên (*Herba Andrographitis*) 180mg

Kim ngân hoa (*Flos Lonicerae*)180mg

Đinh lăng (*Radix Polysciacis*) 50mg

Sâm đại hành (*Curculigo orchioides Gaertn*)50mg

Nhân sâm (*Panax ginseng*)40mg

Phụ gia: Vỏ nang – Gelatin, chất độn (tinh bột ngô), chất ổn định (Calci carbonat), chất chống đông vón (Talc, Magnesi stearat) vừa đủ 1 viên.

Khối lượng tịnh (không tính vỏ nang): 500mg/viên.

1.6.1. Xuyên tâm liên (*Herba Andrographitis*)



Ảnh 1.1: Xuyên tâm liên (*Herba Andrographitis*)

- Tên khoa học: *Herba Andrographitis*

- Dược liệu dùng là thành phần trên mặt đất phơi hay sấy khô của cây Xuyên tâm liên – *Andrographis paniculata* (Burm.) Nees., họ Ô rô – Acanthaceae [25].

- Thành phần hóa học:

Các dẫn chất diterpenlacton

Thành phần chính trong Xuyên tâm liên là các dẫn chất diterpenlacton có cấu trúc labdan. Chất chính là Andrographolid có trong toàn cây nhưng cao nhất là ở lá. Andrographolid có vị rất đắng kết tinh từ MeOH điểm chảy 230°C. Hàm lượng andrographolid trong lá chiếm khoảng 2,39%. Dẫn chất diterpenlacton thứ hai là neoandrographolid, một glucosid đã được xác định cấu trúc năm 1986. Dẫn chất này có vòng lacton 5 cạnh chưa no ở vị trí α , β nên dương tính với thuốc thử Baliet (thuốc thử phát hiện vòng butenolic trong glycosid tim). Mới đây, người ta đã phân lập được glucosid của andrographolid với phân đường glucose gắn vào carbon carbinol bậc II và gọi là andrographolid [Seth S.K. et al. J. of Mol. Structure (2010) 965,45-49].

- Tác dụng dược lý:

Các nghiên cứu trên chuột nhắt cho thấy Xuyên tâm liên có tác dụng kích thích hệ miễn dịch bằng cả 2 con đường: đáp ứng đặc hiệu với kháng nguyên tạo nên kháng thể tiêu diệt vi khuẩn và đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu tăng cường khả năng thực bào.

+ Xuyên tâm liên có tác dụng ức chế sự nhân bản của nhiều loại tế bào ung thư, kích thích sự biệt hóa tế bào giúp chống lại bệnh ung thư.

+ Xuyên tâm liên có tác dụng hạ sốt. Ở liều 300mg/kg Xuyên tâm liên có tác dụng hạ sốt tương đương với aspirin cùng liều. Xuyên tâm liên có tác dụng ngừa cảm lạnh trên thử nghiệm lâm sàng mù đôi ở người tình nguyện. Sau 3 tháng sử dụng liều 200mg/ngày, tỷ lệ người cảm lạnh chỉ còn 30% so với 62% ở nhóm chứng.

+ Dịch chiết Xuyên tâm liên có ảnh hưởng lên khả năng tồn tại của HIV do ức chế các enzym ảnh hưởng lên quá trình vận chuyển phosphat.

+ Xuyên tâm liên có tác dụng bảo vệ gan chống lại các tác nhân gây hại cho gan như CCl₄, galactosamin, paracetamol. Tác dụng chủ yếu do các andrographolid trong đó anhydrographisid có tác dụng mạnh nhất.

+ Xuyên tâm liên có tác dụng chống tiêu chảy. Tác dụng chủ yếu là do các dẫn chất diterpen.

+ Các thử nghiệm dược lý cho thấy andrographolid, hoạt chất chính trong cây có nhiều tác dụng trên các mô hình thử nghiệm như: diệt đơn bào, chống độc gan, kháng HIV, kích thích miễn dịch, chống ung thư, hạ đường huyết và chống cao huyết áp.

- Tính vị, quy kinh: Vị rất đắng, tính hàn. Vào kinh phế, can, tỳ.

- Công năng, chủ trị: Thanh nhiệt giải độc, thân nhiệt táo thấp, thanh tràng chỉ lý, thanh phế chỉ khái. Chủ trị các bệnh viêm ruột, lý cấp tính, viêm phổi, viêm họng, amidan. ho, ho gà, viêm gan virus, viêm đường tiết niệu, mụn nhọt, ung thũng đình độc, rắn độc cắn.

- Cách dùng, liều lượng: Dùng dưới dạng thuốc bột 4 – 6g hoặc thuốc sắc 10 – 20g. Dùng ngoài: Ngày dùng 20 g đến 40 g lá tươi, giã nát để đắp, hoặc sắc lấy nước rửa chỗ mụn nhọt, ngứa lở [26],[27],[29].

1.6.2. Kim ngân hoa (*Flos Lonicerae*)



Ảnh 1.2: Kim ngân hoa (*Flos Lonicerae*)

- Tên khoa học: *Flos Lonicerae*

- Dược liệu là nụ hoa có lẫn một số hoa đã nở của cây Kim ngân (*Lonicera japonica* Thunb.) và một số loài khác cùng chi như *Lonicera dasystyla* Rehd.; *Lonicera confusa* DC. và *Lonicera cambodiana* Pierre, họ Kim ngân (Caprifoliaceae).

- Thành phần hóa học:

+ Trong nụ hoa *L. japonica* có các nhóm hợp chất sau: các dẫn chất cafeoyl quinic, flavonoid, iridoid và saponin.

+ Nụ hoa kim ngân có acid chlorogenic và các đồng phân của nó như: acid cryptochlorogenic, acid neochlorogenic và các acid isochlorogenic a,b và c (3,4-,3,5- và 4,5-di-O-cafeoyl quinic). Hàm lượng của acid chlorogenic trong nụ hoa có thể tới 6%.

+ Các flavonoid trong nụ bao gồm: rutin, luteolin-7-O- β -D-galactosid, lonicerin, hyperosid, luteolin-7-O-neohesperidosid, tricetin-7-O- β -D-glucospyranosid, ochra-flavon L, chrysoeriol-7-O- β -D-hesperidosid, tricetin-7-O- β -D-neohesperidosid, chrysoeriol-7-O- β -D-neohesperidosid, avicularin và quercetin. 3 chất đầu có hàm lượng cao nhất (với tỷ lệ khoảng 4,5:2:1) [29].

- Tác dụng dược lý:

+ Kim ngân có tác dụng kháng khuẩn trên một số vi khuẩn thuộc các chi *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Shigella*, *Salmonella* và một số loại virus.

+ Swerosid được chứng minh có tác dụng bảo vệ gan.

+ Các nghiên cứu cũng cho thấy Kim ngân có tác dụng ngăn cản sự tích tụ mỡ ở bụng

+ Kim ngân được dùng chủ yếu để trị các viêm nhiễm đường hô hấp trên như viêm amydan, viêm họng, viêm thanh quản. Ngoài ra còn được dùng để điều trị viêm da, mụn nhọt, sưng vú, viêm ruột thừa; trị lỵ trực trùng, viêm màng kết do siêu vi, cúm.

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

- Công năng, chủ trị: Thanh nhiệt, giải độc, tán phong nhiệt. Chủ trị: Ung nhọt, ban sởi, mào đay, lở ngứa, cảm mạo phong nhiệt, ôn bệnh phát nhiệt, nhiệt độc huyết lỵ.

- Cách dùng, liều lượng: 12 – 16g dạng thuốc sắc hoặc hãm. Có thể ngâm rượu, làm hoàn tán [27],[28].

1.6.3. Đinh lăng (*Radix Polysciacis*)



Ảnh 1.3: Đinh lăng (*Radix Polysciacis*)

- Tên khoa học: *Radix Polysciacis*

- Bộ phận dùng là Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Đinh lăng [*Polyscias fruticosa* (L.) Harms], họ Nhân sâm (*Araliaceae*).

- Thu hái và chế biến: Thu hái, rửa sạch đất cát, thái lát, phơi hoặc sấy khô. Thu hoạch rễ vào mùa thu đông sau khi cây trồng trên 5 năm. Đào lấy rễ,

rửa sạch, bóc lấy vỏ rễ, thái lát, phơi khô. Đinh lăng sống: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô. Đinh lăng chế rượu gừng và mật: Tắm rượu gừng 5% vào Đinh lăng sống, trộn đều cho thấm rượu gừng, sao qua nhỏ lửa. Tắm thêm Mật ong, trộn đều cho thấm mật rồi sao vàng cho thơm. Dùng 5 L rượu gừng 5% và 5 kg Mật ong cho 100 kg dược liệu.

- Tính vị, quy kinh: Ngọt, bình. Quy vào kinh phế, tỳ, thận.

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

- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 2 g đến 6 g, dạng thuốc sắc hoặc thuốc tán bột. Thường phối hợp với một số vị thuốc khác [27],[28].

1.6.4. Sâm đại hành (*Curculigo orchioides* Gaertn)



Ảnh 1.4: Sâm đại hành (*Curculigo orchioides* Gaertn)

- Tên khoa học: *Curculigo orchioides* Gaertn

- Bộ phận dùng: Thân hành đã phơi hay sấy khô của cây Sâm đại hành (*Eleutherine subaphylla* Gagnep.), họ Lay ơn (*Iridaceae*).

- Thu hái và chế biến: Thu hoạch từ cây 1 năm tuổi trở lên. Khi cây tàn lụi, đào lấy thân hành, cắt bỏ phần rễ, lá, rửa sạch thái dọc củ thành lát, phơi hoặc sấy khô (dưới 60°C). Để nguyên miếng hoặc tán bột. Nếu chưa dùng thì sau khi đào củ, rửa sạch đất, để nguyên cả lớp rễ và vỏ ngoài, tách ra từng củ, vùi vào cát ẩm để cho củ lâu khô.

- Tính vị, quy kinh: Cam ôn. Vào các kinh can, tỳ, phế.

- Công năng, chủ trị: Tư âm dương huyết, chi huyết, sinh cơ, chi khái, tiêu độc. Chủ trị: Thiếu máu, vàng da, hoa mắt, nhức đầu, mệt mỏi, băng huyết, ho

ra máu. Thương tích tụ huyết (giã đắp), ho gà viêm họng, tê bại do suy dinh dưỡng, mụn nhọt, lở ngứa.

- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 4 g đến 12 g thuốc sắc, hãm, bột hoặc thuốc viên [27],[28].

1.6.5. Nhân sâm (*Radix Ginseng*)



Ảnh 1.5: Nhân sâm (*Radix Ginseng*)

- Tên khoa học: *Radix Ginseng*

Thân rễ và Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Nhân sâm (*Panax ginseng* C.A.Mey), họ Nhân sâm (Araliaceae). Sâm trồng gọi là viên sâm, sâm mọc hoang gọi là sơn sâm.

- 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 cống 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 cống 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.

- Tính vị, quy kinh: Cam, khổ, 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 muốn 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.

- 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.

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

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và phương tiện nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

Viên nang cứng Liên ngân SK, do công ty cổ phần dược phẩm Santex sản xuất, đạt tiêu chuẩn cơ sở.

Bảng 2.1. Thành viên viên nang cứng Liên ngân SK

STT	Tên vị thuốc	Tên khoa học	Liều (mg)
1	Xuyên tâm liên	<i>Herba Andrographii</i>	180
2	Kim ngân hoa	<i>Flos Lonicerae</i>	180
3	Đình lăng	<i>Radix Polysciacis</i>	50
4	Sâm đại hành	<i>Curculigo orchioides Gaertn</i>	50
5	Nhân sâm	<i>Panax ginseng</i>	40
<i>Tổng</i>			500

Phụ liệu: Chất độn (tinh bột ngô), chất ổn định (calci carbonat, aerosil), chất chống đông vón (Talc, Magnesi stearat), chất bảo quản (Natri benzoat) vừa đủ 01 viên 500 mg.

Liều dùng tính theo mg cao dược liệu trong viên nang cứng. Mỗi viên nang cứng chứa 500mg cao dược liệu. Dự kiến liều dùng trên người là 6 viên/người/ngày, tương đương 60mg/kg/ngày. Quy đổi ra liều trên chuột nhắt trắng (hệ số 12) là 720 mg/kg/ngày, liều trên chuột cống trắng (hệ số 7) là 420 mg/kg/ngày [29].

Bột thuốc trong viên nang được cho phân tán đều trong nước cất và cho chuột uống qua kim cong đầu tù để đánh giá tính an toàn và tác dụng của mẫu thử.

* Thuốc đối chứng: Paracetamol 500mg (Công ty cổ phần Dược phẩm Trung ương Vidipha), thuộc nhóm NSAIDs. Trên mô hình gây sốt, sử dụng mức liều 60mg/kg. Thuốc đối chứng Paracetamol được nghiền nhỏ, hòa tan với nước cất và cho chuột uống qua kim cong đầu tù.

2.1.2. Hóa chất nghiên cứu

- Hóa chất xét nghiệm sinh hóa của hãng MEDIA, sản xuất tại Italia.
- Hóa chất xét nghiệm huyết học của hãng Human, Đức.
- Kít định lượng IL-2 và TNF- α cho chuột của hãng Invitrogen (Mỹ).
- Lipopolysaccharide (LPS) từ chủng vi khuẩn *Escherichia Coli* 055:B5, được tinh chế bằng chiết xuất Phenol (Sigma - Singapore)
- Hematoxylin, Eosin (Sigma) và một số hóa chất làm tiêu bản mô bệnh học khác.

2.1.3. Thiết bị nghiên cứu

- Máy xét nghiệm sinh hoá Biochemical Systems International Srl, Italia, model 3000 Evolution, hóa chất của hãng.
- Máy phân tích huyết học Humancout 30TS, hãng Human, Đức, sử dụng phần mềm phân tích huyết học dành cho chuột thí nghiệm, hóa chất của hãng;
- Cân phân tích 10^{-4} , model CP224S (Sartorius - Đức).
- Máy ly tâm lạnh Microtube (MikRo 22R, Hettich - Đức).
- Máy đo pH (pH metter F-51, Horiba-Kyoto-Nhật Bản).
- Ống nghiệm, bơm tiêm và một số thiết bị, dụng cụ phụ trợ khác.
- Máy ELISA của hãng Bio-Rad (Mỹ).
- Bộ dụng cụ mô động vật cỡ nhỏ.
- Kim cong đầu tù chuyên dụng dùng cho chuột uống thuốc (Nhật Bản).
- Một số thiết bị và dụng cụ nghiên cứu 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 06/2022 đến tháng 12/2022.

2.3. Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng dòng Swiss trưởng thành, khoẻ mạnh, cân nặng 18 - 20g, số lượng 60 con, cả 2 giống, được sử dụng cho nghiên cứu độc tính cấp.

Chuột cống trắng dòng Wistar, khoẻ mạnh, cân nặng 180 - 200g, số lượng 80 con, cả 2 giống, dùng cho: nghiên cứu độc tính bán trường diễn (30 con), tác dụng hạ sốt (50 con).

Động vật do Ban cung cấp động vật thí nghiệm - Học viện Quân y cung cấp, nuôi dưỡng trong điều kiện phòng nuôi động vật thí nghiệm ít nhất 1 tuần trước khi làm thí nghiệm. Chuột được ăn thức ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu, nước (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

Đánh giá độc tính cấp và xác định LD₅₀ của thuốc thử trên chuột nhắt trắng chủng Swiss dùng bằng phương pháp của Litchfield – Wilcoxon [30], theo qui định của Bộ Y tế Việt Nam [31] và hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới [32] và hướng dẫn của OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) [33] về đánh giá tính an toàn và hiệu lực của thuốc.

Chuột nhắt trắng chủng Swiss gồm 60 con chia ngẫu nhiên thành 6 lô, mỗi lô 10 con. Trước khi thí nghiệm chuột nhịn ăn 12 giờ, cho uống nước bình thường.

Sau 12 giờ nhịn ăn, cho chuột uống thuốc với thể tích 0,3ml/10g thể trọng nhưng với các liều tăng dần. Tìm liều cao nhất không gây chết chuột, liều thấp nhất gây chết 100% số chuột và các liều trung gian. Chuột được uống thuốc cưỡng bức, thuốc thử được đưa thẳng vào dạ dày chuột bằng kim cong đầu tù.

Theo dõi tình trạng chung (vận động, bài tiết...) và số lượng chuột chết ở mỗi lô trong 72 giờ. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng chung của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống thuốc thử lần đầu.

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

2.4.2. Đánh giá độc tính bán trường diễn

Theo qui định của Bộ Y tế Việt Nam [31], hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới [32] và hướng dẫn của OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) [34] về đánh giá tính an toàn và hiệu lực của thuốc.

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

- Lô chứng sinh lý: uống nước cất.
- Lô trị 1: uống Liên ngân SK liều 420 mg/kg/ngày.
- Lô trị 2: uống Liên ngân SK liều 1260 mg/kg/ngày.

Các chỉ tiêu đánh giá:

- Sinh lý - dược lý: theo dõi tình trạng chung, hoạt động, ăn uống, cân nặng của chuột.
- Huyết học: số lượng hồng cầu, nồng độ hemoglobin, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu, số lượng bạch cầu, số lượng tiểu cầu.
- Sinh hóa: nồng độ men gan AST, ALT trong máu, bilirubin, creatinin máu, albumin huyết tương, cholesterol máu.
- Mô bệnh học: vào ngày thứ 90, giết ở mỗi lô 05 chuột (lấy ngẫu nhiên), Quan sát hình ảnh đại thể gan, lách, thận. Làm tiêu bản nhuộm HE đánh giá hình ảnh mô bệnh học của các chuột thực nghiệm.

Thời điểm xét nghiệm: lấy máu xét nghiệm các chỉ số sinh hóa, huyết học, xác định cân nặng của chuột tại 4 thời điểm: xuất phát điểm, sau 30 ngày, sau 60 ngày, sau 90 ngày uống thuốc. Thời gian theo dõi: 90 ngày.

2.4.3. *Đánh giá tác dụng hạ sốt*

Tiến hành nghiên cứu trên chuột cống trắng gây sốt bằng lipopolysaccharid (LPS), theo phương pháp được mô tả bởi Wu J và cs (2020), có sửa đổi [35].

Chuột cống trắng số lượng 50 con, chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (lô chứng): Tiêm phúc mạc nước muối sinh lý liều 5ml/kg, uống nước cất liều 10ml/kg.

- Lô 2 (lô mô hình): Tiêm phúc mạc LPS liều 100 μ g/kg, uống nước cất liều 10ml/kg.

- Lô 3 (lô LNSK 1): Tiêm phúc mạc LPS liều 100 μ g/kg, uống Liên ngân SK liều 420 mg/kg/ngày. Uống liều duy nhất sau khi gây sốt bằng LPS.

- Lô 4 (lô LNSK 2): Tiêm phúc mạc LPS liều 100 μ g/kg, uống Liên ngân SK liều 840 mg/kg/ngày. Uống liều duy nhất sau khi gây sốt bằng LPS.

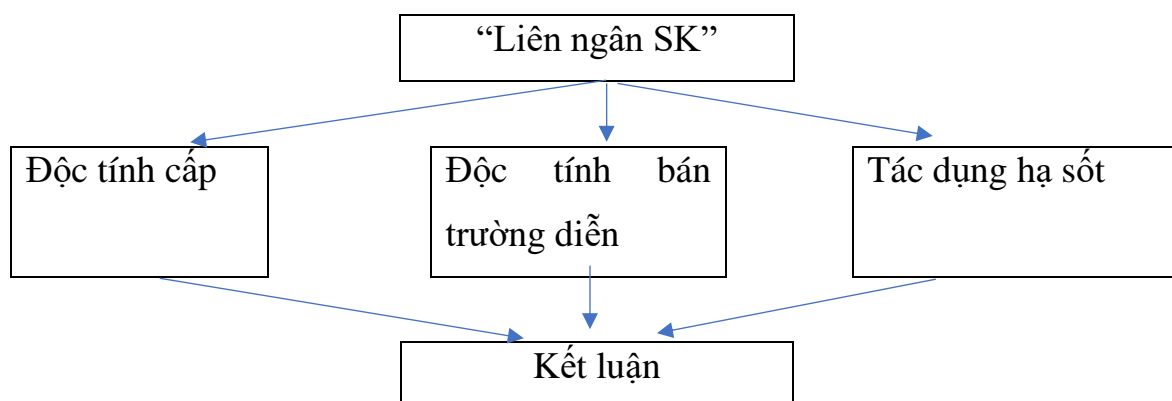
- Lô 5 (lô tham chiếu): Tiêm phúc mạc LPS liều 100 μ g/kg, uống Paracetamol liều 60mg/kg. Uống liều duy nhất sau khi gây sốt bằng LPS.

Sử dụng nhiệt kế điện tử đo nhiệt độ ở hậu môn chuột trong 3 ngày liên tiếp trước khi thử nghiệm, nhiệt độ trung bình được lấy làm cơ sở.

Đo nhiệt độ hậu môn ở chuột bằng nhiệt kế điện tử ở 0,5 giờ, 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ và 4 giờ sau khi uống thuốc.

Tại thời điểm 4h sau tiêm LPS gây sốt, sau khi đo nhiệt độ hậu môn chuột, tiến hành lấy máu hóc mắt chuột để xét nghiệm TNF- α , IL-1 β và IL-6. Mẫu máu lấy ra được để đông tự nhiên ở nhiệt độ phòng trong 60 phút, sau đó ly tâm ở 3000 vòng /phút trong 15 phút ở 4°C để tách lấy huyết thanh. Nồng độ TNF- α , IL-1 β và IL-6 trong huyết thanh chuột được xác định bằng ELISA kit, theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

2.5. Sơ đồ nghiên cứu



2.6. Xử lý và phân tích số liệu

Tất cả các số liệu thu được đều được xử lý theo phần mềm excel 2007 và SPSS 20.0, sử dụng thuật toán t-test student và ONE - WAY ANOVA để so sánh giá trị trung bình. Số liệu được trình bày dưới dạng $MEAN \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.7. 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.

2.8. 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.

Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả đánh giá độc tính cấp

Kết quả đánh giá độc tính cấp được trình bày ở bảng 3.1:

Bảng 3.1. Độc tính cấp đường uống của viên nang cứng Liên ngân SK trên chuột nhắt trắng

Lô chuột	Số chuột thí nghiệm	Liều dùng (mg/kg thể trọng)	Số chuột sống/chết sau 72 giờ	Số chuột sống/chết sau 7 ngày
Lô 1	10	3000	10/0	10/0
Lô 2	10	6000	10/0	10/0
Lô 3	10	9000	10/0	10/0
Lô 4	10	12000	10/0	10/0
Lô 5	10	15000	10/0	10/0

Nhận xét: Chuột nhắt trắng được uống thuốc thử với các mức liều khác nhau từ liều thấp nhất là 3000 mg/kg thể trọng đến liều cao nhất là 15000 mg/kg thể trọng, 0,3ml/10g. Chuột đã uống đến liều 15000 mg/kg thể trọng là liều tối đa có thể dùng được bằng đường uống để đánh giá độc tính cấp của thuốc thử nhưng không có chuột nào chết, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống thuốc lần cuối và trong suốt 7 ngày sau uống thuốc. Như vậy, không xác định được LD₅₀ của Liên ngân SK theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24h là 15000 mg/kg thể trọng không xuất hiện độc tính cấp.

Liều dự kiến có tác dụng trên chuột nhắt là 720 mg/kg/ngày. Chuột đã uống đến liều 15000 mg/kg, gấp trên 20,8 lần liều dự kiến có tác dụng mà chuột không có con nào chết, cũng như không thấy có biểu hiện bất thường nào. Kết quả này chứng tỏ Liên ngân SK có tính an toàn với khoảng an toàn rộng trong nghiên cứu đánh giá độc tính cấp trên đường uống ở chuột nhắt trắng.

3.2. Kết quả đánh giá độc tính bán trường diễn

3.2.1. Tình trạng chung

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

3.2.2. Sự thay đổi thể trọng của chuột

Kết quả được trình bày ở bảng 3.2:

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của Liên ngân SK đối với thể trọng chuột ($n = 10, \bar{X} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	pgiữa các lô
Trọng lượng cơ thể				
Trước thí nghiệm (a)	186,90 ± 6,29	188,30 ± 4,50	186,30 ± 3,60	
Sau 30 ngày (b)	206,80 ± 5,86	208,50 ± 6,91	208,30 ± 8,04	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$
Sau 60 ngày (c)	216,90 ± 5,41	218,30 ± 5,35	217,70 ± 6,92	$p_{3-1} > 0,05$
Sau 90 ngày (d)	227,20 ± 5,09	228,10 ± 5,34	228,90 ± 6,06	
Ptrong cùng lô	$p_{b,c,d-a} < 0,01; p_{c,d-b} < 0,01; ; p_{d-c} < 0,01$			-

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, 60 ngày và 90 ngày uống thuốc, thể trọng chuột các lô cho uống Liên ngân SK không có sự khác biệt so với ở lô chứng sinh lý ($p > 0,05$).

Như vậy Liên ngân SK với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không ảnh hưởng đến sự phát triển thể trọng của chuột.

3.2.3. Ảnh hưởng của Liên ngân SK đối với một số chỉ tiêu huyết học của chuột

Kết quả được trình bày ở bảng 3.3, 3.4, 3.5:

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Liên ngân SK lên số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột ($n = 10, \bar{X} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	Phgiữa các lô
Số lượng hồng cầu chuột ($\times 10^{12}/l$)				
Trước thí nghiệm (a)	6,96 \pm 0,98	6,94 \pm 0,61	6,77 \pm 0,96	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	6,89 \pm 0,94	7,07 \pm 0,68	7,02 \pm 1,01	
Sau 60 ngày (c)	6,92 \pm 1,06	7,11 \pm 0,75	7,10 \pm 0,72	
Sau 90 ngày (d)	6,97 \pm 0,89	7,02 \pm 0,97	7,06 \pm 0,68	
Phtrong cùng lô	$p_{b,c,d-a} > 0,05; p_{c,d-b} > 0,05; p_{d-c} > 0,05$			-
Hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột (g/dL)				
Trước thí nghiệm (a)	12,96 \pm 1,19	12,92 \pm 0,96	12,81 \pm 1,62	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	12,85 \pm 1,47	13,04 \pm 1,04	12,95 \pm 1,07	
Sau 60 ngày (c)	12,89 \pm 1,85	12,90 \pm 1,38	13,06 \pm 1,26	
Sau 90 ngày (d)	12,66 \pm 1,02	12,71 \pm 1,29	13,01 \pm 1,05	
Phtrong cùng lô	$p_{b,c,d-a} > 0,05; p_{c,d-b} > 0,05; p_{d-c} > 0,05$			-

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 Liên ngân SK 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 3.4. Ảnh hưởng của Liên ngân SK lên hematocrit và thể tích trung bình hồng cầu trong 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
Hematocrit (%)				
Trước thí nghiệm (a)	32,65 ± 3,59	32,58 ± 3,06	32,53 ± 2,43	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	32,32 ± 1,74	33,04 ± 2,68	32,96 ± 3,04	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 60 ngày (c)	32,67 ± 3,16	32,71 ± 2,19	33,09 ± 2,32	$p_{3-1} > 0,05$
Sau 90 ngày (d)	32,25 ± 2,84	32,65 ± 2,82	32,91 ± 2,17	
P trong cùng lô	$p_{b,c,d-a} > 0,05; p_{c,d-b} > 0,05; p_{d-c} > 0,05$			-
Thể tích trung bình hồng cầu (fl)				
Trước thí nghiệm (a)	47,03 ± 2,23	46,82 ± 1,94	47,02 ± 3,45	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	46,16 ± 3,18	46,57 ± 2,61	46,96 ± 1,68	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 60 ngày (c)	46,52 ± 2,21	46,34 ± 2,98	46,43 ± 2,03	$p_{3-1} > 0,05$
Sau 90 ngày (d)	46,43 ± 1,79	46,39 ± 3,02	46,61 ± 2,81	
P trong cùng lô	$p_{b,c,d-a} > 0,05; p_{c,d-b} > 0,05; p_{d-c} > 0,05$			-

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 Liên ngân SK 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 3.5. Ảnh hưởng của Liên ngân SK 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)	6,86 ± 1,74	6,90 ± 2,01	6,83 ± 1,24	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	6,91 ± 1,89	7,01 ± 1,82	7,05 ± 1,28	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 60 ngày (c)	6,94 ± 2,18	6,86 ± 1,96	6,98 ± 1,31	$p_{3-1} > 0,05$
Sau 90 ngày (d)	6,75 ± 1,90	6,79 ± 2,13	6,91 ± 1,65	$p_{3-1} > 0,05$
P trong cùng lô	$p_{b,c,d-a} > 0,05; p_{c,d-b} > 0,05; p_{d-c} > 0,05$			-
Số lượng tiểu cầu (G/l)				
Trước thí nghiệm (a)	548,61 ± 141,35	539,26 ± 107,71	506,52 ± 85,49	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	514,15 ± 144,84	547,32 ± 100,19	528,49 ± 114,38	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 60 ngày (c)	519,32 ± 165,33	516,28 ± 132,18	535,51 ± 125,34	$p_{3-1} > 0,05$
Sau 90 ngày (d)	526,50 ± 104,09	533,35 ± 115,06	523,35 ± 120,71	$p_{3-1} > 0,05$
P trong cùng lô	$p_{b,c,d-a} > 0,05; p_{c,d-b} > 0,05; p_{d-c} > 0,05$			-

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 Liên ngân SK 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.

3.2.4. Đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan khi dùng Liên ngân SK dài ngày

Kết quả được trình bày ở bảng 3.6:

Bảng 3.6. Ảnh hưởng của Liên ngân SK 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)	96,31 ± 26,30	92,08 ± 16,41	98,57 ± 20,52	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	95,19 ± 20,91	94,26 ± 19,93	98,59 ± 14,19	
Sau 60 ngày (c)	106,16 ± 21,37	100,21 ± 19,15	95,75 ± 17,15	
Sau 90 ngày (d)	104,23 ± 22,10	98,73 ± 18,55	93,18 ± 15,62	
P trong cùng lô	$p_{b,c,d-a} > 0,05; p_{c,d-b} > 0,05; p_{d-c} > 0,05$			-
Hoạt độ ALT (UI/l)				
Trước thí nghiệm (a)	73,24 ± 15,31	72,69 ± 14,28	72,65 ± 11,12	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	73,66 ± 16,01	72,63 ± 13,79	73,92 ± 11,26	
Sau 60 ngày (c)	69,31 ± 13,28	68,41 ± 15,54	69,47 ± 17,03	
Sau 90 ngày (d)	72,52 ± 11,53	70,06 ± 16,43	70,64 ± 15,01	
P trong cùng lô	$p_{b,c,d-a} > 0,05; p_{c,d-b} > 0,05; p_{d-c} > 0,05$			-

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 Liên ngân SK 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 Liên ngân SK không gây ra hủy hoại tế bào gan trên chuột nghiên cứu.

3.2.5. Đánh giá ảnh hưởng lên chức năng gan khi dùng Liên ngân SK dài ngày

Kết quả được trình bày ở bảng 3.7:

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Liên ngân SK lên các chỉ số albumin và bilirubin toàn phần trong máu ($n = 10$, $\bar{X} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chúng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	Phgiữa các lô
Albumin huyết tương (g/l)				
Trước thí nghiệm (a)	22,14 ± 2,45	22,05 ± 1,89	21,84 ± 1,23	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	22,09 ± 2,48	22,11 ± 2,31	22,26 ± 1,98	
Sau 60 ngày (c)	22,33 ± 1,95	22,99 ± 2,55	22,52 ± 1,85	
Sau 90 ngày (d)	22,60 ± 2,62	22,67 ± 2,72	22,96 ± 2,36	
Phtrong cùng lô	$p_{b,c,d-a} > 0,05; p_{c,d-b} > 0,05; p_{d-c} > 0,05$			-
Bilirubin toàn phần (μmol/L)				
Trước thí nghiệm (a)	50,11 ± 19,27	48,32 ± 10,54	50,16 ± 10,52	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	48,30 ± 14,13	49,21 ± 10,28	48,92 ± 8,99	
Sau 60 ngày (c)	46,25 ± 12,06	49,29 ± 10,39	49,81 ± 11,52	
Sau 90 ngày (d)	47,39 ± 13,98	48,86 ± 11,14	48,39 ± 9,83	
Phtrong cùng lô	$p_{b,c,d-a} > 0,05; p_{c,d-b} > 0,05; p_{d-c} > 0,05$			-

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 Liên ngân SK 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.

3.2.6. Đánh giá ảnh hưởng lên cholesterol toàn phần máu khi dùng Liên ngân SK dài ngày

Kết quả được trình bày ở bảng 3.8:

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Liên ngân SK lên cholesterol toàn phần trong máu ($n = 10, \bar{X} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chúng(1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	P giữa các lô
Cholesterol toàn phần (mmol/l)				
Trước thí nghiệm (a)	2,03 ± 0,36	2,08 ± 0,31	2,01 ± 0,32	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	1,99 ± 0,32	1,92 ± 0,25	1,89 ± 0,25	
Sau 60 ngày (c)	2,00 ± 0,41	1,86 ± 0,28	1,84 ± 0,38	
Sau 90 ngày (d)	1,96 ± 0,35	1,83 ± 0,35	1,81 ± 0,36	
P trong cùng lô	$p_{b,c,d-a} > 0,05; p_{c,d-b} > 0,05; p_{d-c} > 0,05$			-

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 Liên ngân SK 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.

3.2.7. Đánh giá ảnh hưởng lên chức năng thận khi dùng Liên ngân SK dài ngày

Kết quả được trình bày ở bảng 3.9:

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của Liên ngân SK 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)	Giữa các lô
Creatinin ($\mu\text{mol/l}$)				
Trước thí nghiệm (a)	81,16 $\pm 11,04$	82,61 $\pm 12,13$	89,26 $\pm 14,54$	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$
Sau 30 ngày (b)	82,41 $\pm 12,23$	81,45 $\pm 10,42$	82,82 $\pm 13,06$	
Sau 60 ngày (c)	86,54 $\pm 16,02$	85,03 $\pm 10,75$	81,69 $\pm 12,88$	
Sau 90 ngày (d)	84,08 $\pm 13,06$	84,96 $\pm 14,81$	80,95 $\pm 13,46$	
Trong cùng lô	$p_{b,c,d-a} > 0,05; p_{c,d-b} > 0,05; p_{d-c} > 0,05$			-

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 ($p > 0,05$).

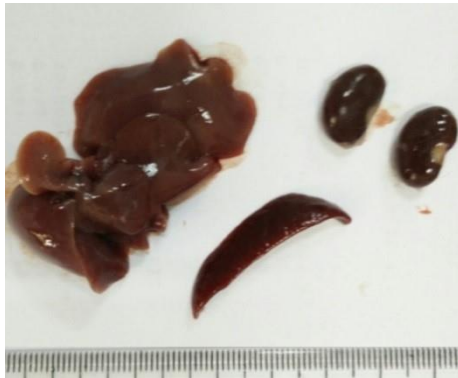
- So sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, hàm lượng creatinin máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Như vậy Liên ngân SK với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi hàm lượng creatinin trong máu chuột nghiên cứu.

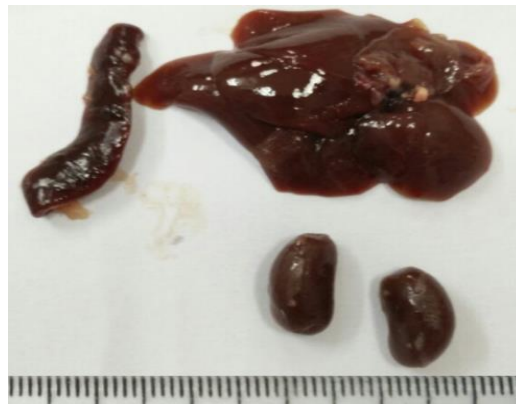
3.2.8. Kết quả mô bệnh học tạng của chuột thí nghiệm

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 Liên ngân SK không khác so với chúng.

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



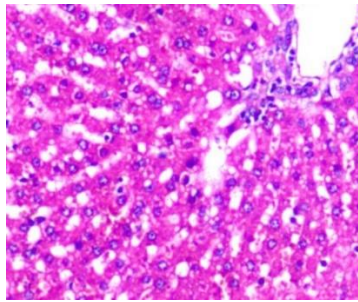
Nhận xét ảnh: Hình ảnh đại thể các tạng gan, lách, thận của chuột ở các lô trị 1 (ảnh 3.2), lô trị 2 (ảnh 3.3), là các lô cho uống Liên ngân SK, có màu nâu đỏ thẫm đồng đều, bề mặt nhẵn, không có u cục hoặc xuất huyết, có đàn hồi khi ấn xuống, không khác biệt so với hình ảnh gan, lách, thận của chuột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

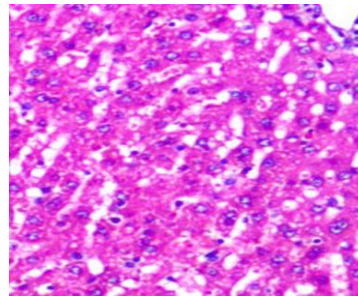
thấy Liên ngân SK dùng đường uống với liều 420 mg/kg/24h và 1260 mg/kg/24h liên tục trong 90 ngày, không gây tổn thương trên gan, thận, lách của chuột.

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

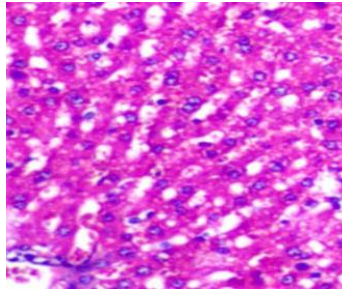
Ảnh 3.4: Hình ảnh vi thể gan chuột
lô chứng. HE, x 400



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



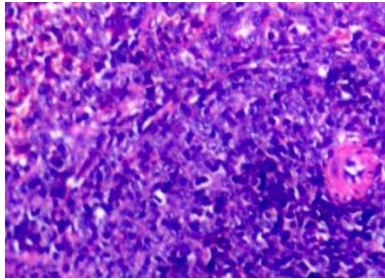
Ảnh 3.6: Hình ảnh vi thể gan chuột lô trị 2. HE, x 400



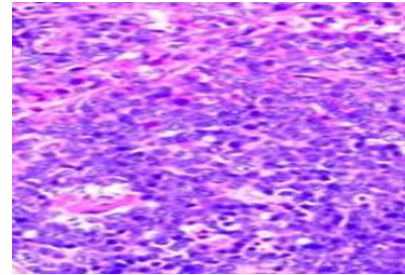
Nhận xét ảnh: Hình ảnh vi thể gan dưới kính hiển vi với độ khuếch đại 400 lần của chuột ở lô trị 1 (ảnh 3.5) và lô trị 2 (ảnh 3.6), là các lô cho uống Liên ngân SK, không khác biệt so với hình ảnh vi thể gan chuột ở lô chứng (ảnh 3.4). Trên hình ảnh không thấy ở xuất huyết hoặc ổ hoại tử, thoái hóa tế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

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

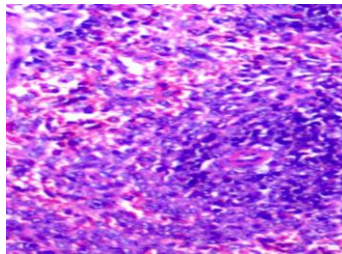
Ảnh 3.7: Hình ảnh vi thể lách chuột lô chứng. HE, x 400



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



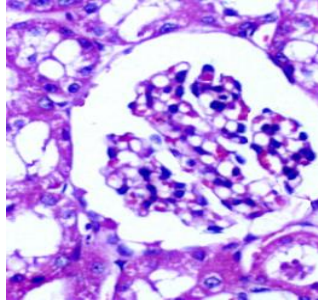
Ảnh 3.9: Hình ảnh vi thể lách chuột lô trị 2. HE, x 400



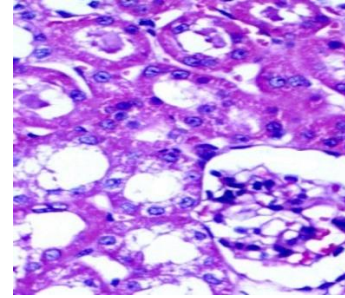
Nhận xét ảnh: Hình ảnh vi thể lách dưới kính hiển vi với độ khuếch đại 400 lần của chuột ở lô trị 1 (ảnh 3.8) và lô trị 2 (ảnh 3.9), là các lô cho uống Liên ngân SK, không khác biệt so với hình ảnh vi thể lách chuột ở lô chứng (ảnh 3.7). Trên hình ảnh thấy vùng tủy trắng bắt màu xanh thẫm, tập trung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

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

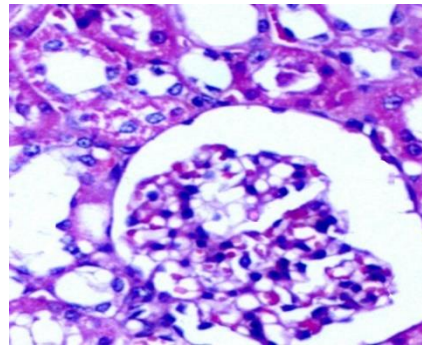
Ảnh 3.10: Hình ảnh vi thể thận chuột
lô chứng. HE, x 400



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 Liên ngân SK, không khác biệt so với hình ảnh vi thể thận chuột ở lô chứng (ảnh 3.10). Cấu trúc các vùng chức năng thận bình thường.

3.3. Kết quả đánh giá tác dụng hạ sốt

3.3.1. Nhiệt độ trung bình của chuột trước nghiên cứu

Kết quả được trình bày ở bảng 3.10:

Bảng 3.10. Nhiệt độ trung bình của chuột trước nghiên cứu ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)

Lô nghiên cứu	Ngày 1		Ngày 2		Ngày 3		Nhiệt độ cơ sở	
	T ⁰ (°C)	p	T ⁰ (°C)	p	T ⁰ (°C)	p	T ⁰ (°C)	p
Lô chúng	36,02 ± 0,15	> 0,05	35,97 ± 0,16	> 0,05	35,93 ± 0,18	> 0,05	35,97 ± 0,17	> 0,05
Lô mô hình	36,01 ± 0,14		35,94 ± 0,13		35,90 ± 0,17		35,95 ± 0,15	
Lô LNSK 1	35,96 ± 0,11		36,00 ± 0,17		35,92 ± 0,19		35,96 ± 0,16	
Lô LNSK 2	35,94 ± 0,16		35,97 ± 0,13		35,95 ± 0,15		35,95 ± 0,15	
Lô Paracetamol	35,98 ± 0,12		35,95 ± 0,14		35,90 ± 0,13		35,94 ± 0,14	
$p_{N2-N1} > 0,05 ; p_{N3-N1} > 0,05 ; p_{N3-N2} > 0,05$							-	

Nhận xét:

- Nhiệt độ trung bình của chuột giữa các lô nghiên cứu trong một ngày khác biệt nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).
- Nhiệt độ trung bình của chuột giữa các ngày 1, ngày 2, ngày 3 thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).
- Nhiệt độ cơ sở của các lô chuột khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.3.2. Thay đổi nhiệt độ cơ thể chuột sau gây sốt

Bảng 3.11. Nhiệt độ trung bình của chuột tại các thời điểm sau tiêm LPS ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)

Lô chuột nghiên cứu	Chung (1)	Mô hình (2)	LNSK 1 (3)	LNSK 2 (4)	Paracetamol (5)	$P_{\text{giữa các lô}}$
Nhiệt độ cơ sở (t_0)	35,97 $\pm 0,17$	35,95 $\pm 0,16$	35,96 $\pm 0,20$	35,95 $\pm 0,18$	35,94 $\pm 0,19$	$> 0,05$
Nhiệt độ sau 0,5 giờ ($t_{1/2}$)	35,98 $\pm 0,19$	36,09 $\pm 0,24$	36,02 $\pm 0,23$	36,00 $\pm 0,21$	35,98 \pm 0,20	$> 0,05$
$p_{t_{1/2}-t_0}$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	
Nhiệt độ sau 1 giờ ($^{\circ}\text{C}$) (t_1)	35,95 $\pm 0,16$	36,37 $\pm 0,23$	36,06 $\pm 0,22$	36,04 $\pm 0,24$	36,05 $\pm 0,25$	$p_{2-1} < 0,05; p_{3,4,5-2} < 0,05$ $p_{3,4,5-1} > 0,05; p_{3,4,5} > 0,05$
$p_{t_1-t_0}$	$> 0,05$	$< 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	
Nhiệt độ sau 2 giờ ($^{\circ}\text{C}$) (t_2)	35,89 $\pm 0,20$	36,58 \pm 0,29	36,08 $\pm 0,27$	36,07 \pm 0,26	36,08 \pm 0,28	$p_{2-1} < 0,05; p_{3,4,5-2} < 0,05$ $p_{3,4,5-1} > 0,05; p_{3,4,5} > 0,05$
$p_{t_2-t_0}$	$> 0,05$	$< 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	
Nhiệt độ sau 3 giờ ($^{\circ}\text{C}$) (t_3)	35,92 $\pm 0,16$	37,16 \pm 0,31	36,11 $\pm 0,34$	36,09 \pm 0,35	36,10 \pm 0,33	$p_{2-1} < 0,05; p_{3,4,5-2} < 0,05$ $p_{3,4,5-1} > 0,05; p_{3,4,5} > 0,05$
$p_{t_3-t_0}$	$> 0,05$	$< 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	
Nhiệt độ sau 4 giờ ($^{\circ}\text{C}$) (t_4)	35,93 $\pm 0,21$	37,35 \pm 0,38	36,14 $\pm 0,36$	36,11 \pm 0,34	36,12 \pm 0,32	$p_{2-1} < 0,05; p_{3,4,5-2} < 0,05$ $p_{3,4,5-1} > 0,05; p_{3,4,5} > 0,05$
$p_{t_4-t_0}$	$> 0,05$	$< 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	

Nhận xét:

- Ở lô mô hình, sau tiêm LPS gây sốt, nhiệt độ trung bình của chuột tăng dần. Tại thời điểm 0,5 giờ sau tiêm LPS, nhiệt độ trung bình của chuột tăng nhưng chưa đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng cũng như so với nhiệt độ cơ sở ($p > 0,05$). Tại các thời điểm sau 1h, 2h, 3h, 4h sau tiêm LPS, nhiệt độ trung bình của chuột

tăng, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với ở lô chứng cũng như so với nhiệt độ cơ sở ($p < 0,05$). Nhiệt độ cơ thể đạt cao nhất tại thời điểm 4h sau tiêm LPS ($37,35^{\circ}\text{C}$).

- Ở các lô uống LNSK cũng như lô uống paracetamol, tại các thời điểm sau 1h, 2h, 3h, 4h sau tiêm LPS, nhiệt độ trung bình của chuột không khác biệt so với ở lô chứng cũng như so với nhiệt độ cơ sở ($p > 0,05$), và thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhiệt độ của chuột ở lô mô hình ($p < 0,05$).

- So sánh giữa các lô dùng LNSK và lô dùng paracetamol với nhau tại các thời điểm đo, nhiệt độ trung bình của chuột ở các lô này không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

3.3.3. Kết quả đánh giá nồng độ các cytokine TNF- α , IL-1 β và IL-6 trong huyết thanh chuột

Kết quả được trình bày ở bảng 3.12:

Bảng 3.12. Nồng độ TNF- α , IL-1 β và IL-6 trong huyết thanh chuột nghiên cứu (Mean \pm SD, n = 10)

Lô nghiên cứu	TNF-α (pg/ml)	IL-1β (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)
Chứng (1)	31,36 \pm 9,62	42,16 \pm 11,05	39,62 \pm 9,86
Mô hình (2)	369,58 \pm 94,75	96,81 \pm 24,93	699,52 \pm 118,39
p ₂₋₁	< 0,001	< 0,001	< 0,001
LNSK 1 (3)	281,91 \pm 91,54	61,07 \pm 16,65	562,81 \pm 116,27
LNSK 2 (4)	259,65 \pm 83,69	54,93 \pm 14,28	524,95 \pm 109,73
p _{3,4-2}	< 0,01	< 0,01	< 0,01
p ₃₋₄	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Paracetamol (5)	352,81 \pm 93,89	88,95 \pm 21,69	668,42 \pm 105,36
p ₅₋₂	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Nhận xét:

- Ở lô mô hình, nồng độ TNF- α , IL-1 β và IL-6 trong huyết thanh chuột đều tăng cao có ý nghĩa thống kê so với lô chứng với $p < 0,001$.

- So với lô mô hình, nồng độ TNF- α , IL-1 β và IL-6 trong huyết thanh chuột ở 2 lô dùng Liên ngân SK giảm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Nồng độ TNF- α , IL-1 β và IL-6 trong huyết thanh chuột ở lô dùng Paracetamol giảm không có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p > 0,05$).

- So sánh giữa 2 lô dùng Liên ngân SK, nồng độ TNF- α , IL-1 β và IL-6 trong huyết thanh chuột ở lô dùng liều cao đều giảm hơn so với lô dùng liều thấp tuy nhiên khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. Sự cần thiết nghiên cứu của Liên ngân SK trong điều trị hạ sốt

Sốt là một triệu chứng thường gặp trong nhiều loại hình bệnh tật khác nhau và do nhiều nguyên nhân gây ra: có thể do viêm nhiễm như nhiễm trùng, nhiễm virus; hoặc có thể không do viêm nhiễm như nhiễm độc, hủy hoại mô vô trùng, hủy hoại hồng cầu, ung thư, cường tuyến giáp...[1]. Nhưng dù cho bất kỳ một nguyên nhân nào dẫn đến sốt đều dẫn đến hậu quả không tốt đối với cơ thể. Đặc biệt, nếu sốt cao, kéo dài sẽ dẫn theo hàng loạt sự rối loạn khác.

Rối loạn về chuyển hóa năng lượng, nếu sốt tăng 1°C sẽ làm tăng chuyển hóa cơ bản tăng lên 10%. Nếu sốt kéo dài, lượng giữ trữ Glycogen giảm, có thể phải tạo Glucid từ Protit. Vì vậy dễ làm tăng acid Lactic trong máu, gây toan máu; mặt khác khi rối loạn chuyển hóa Lipid sẽ gây tăng nồng độ thể ceton máu cũng góp phần tăng acid máu. Đặc biệt, sốt cao kéo dài gây tăng thải nước qua đường mồ hôi và hô hấp gây hiện tượng mất cân bằng nước điện giải mà triệu chứng biểu hiện trên lâm sàng: khát nước, đòi uống nước, nước tiểu ít...[10].

Sự thay đổi các chức năng trong sốt biểu hiện rất rõ rệt: đối với tuần hoàn cứ sốt tăng 1°C làm nhịp tăng 8-10 nhịp, vì vậy nó làm lưu lượng trên tăng lên và công suất của tim tăng lên. Khi sốt cao kéo dài ở những bệnh nhân bệnh tim rất dễ bị loạn nhịp [10],[38].

Trong sốt, nhu cầu về oxy tăng lên do nhu cầu chuyển hóa của cơ thể, bộ máy hô hấp sẽ tăng cường làm việc; Đối với người bị bệnh phổi mãn tính thường xuất hiện tím tái, khó thở; Đặc biệt trong sốt cao, sẽ làm ảnh hưởng đến trung tâm thần kinh, làm xuất hiện các triệu chứng nhiễm nóng, rất dễ gây co

giật ở trẻ nhỏ; Ngoài ra, trong sốt còn ảnh hưởng đến chức năng của gan, thận, nội tiết...

Vì vậy, việc hạ sốt trong điều trị là một việc rất cần thiết, nếu hạ sốt kịp thời sẽ giúp cho người bệnh tránh được một số rối loạn và chuyển hóa cũng như tránh được một số rối loạn chức năng cho các cơ quan tạng phủ, giúp cho cơ thể điều trị chóng phục hồi.

Hiện tại, trên lâm sàng sử dụng một số tân dược của y học hiện đại, có tác dụng hạ sốt nhanh như Paracetamol, Aspirin, Panadol,... Các thuốc này đáp ứng sốt trong việc hạ sốt và tránh được một số rối loạn về chuyển hóa và rối loạn chức năng trong sốt.

Tuy nhiên, nó còn rất nhiều hạn chế do tác dụng không mong muốn của thuốc. Nhiều tài liệu đã cảnh báo về tác hại của Paracetamol dùng kéo dài sẽ độc cho gan, dễ mẫn ngứa; Aspirin sẽ gây xuất huyết tiêu hóa... Một số tài liệu của khoa chống độc – Bệnh viện Bạch Mai cũng cảnh báo về tác dụng phụ của thuốc hạ sốt tân dược gây hủy hoại tế bào gan.

Vấn đề đặt ra cho chúng ta phải tìm được vị thuốc, bài thuốc từ thảo dược vừa có tác dụng hạ sốt, vừa hạn chế được một cách tối đa những tác dụng không mong muốn, đáp ứng được và kịp thời trong các vụ dịch lớn, gây sốt.

Liên ngân SK là bài thuốc nghiệm phương của PGS.TS. Đậu Xuân Cảnh trong đó có sự kết hợp của các vị thuốc Nhân sâm, Xuyên tâm liên, Kim ngân hoa, Đinh lăng, Sâm đại hành theo lý luận y học cổ truyền có tác dụng bổ khí, ích huyết, thanh nhiệt giải độc, tiêu viêm. Liên ngân SK ngoài tác dụng hạ sốt còn tác dụng hỗ trợ cho một số chức năng của tạng phủ; Mặt khác bài thuốc có tác dụng hạ nhiệt một cách từ từ và an toàn. Liên ngân SK đã và đang được sử dụng nhiều năm qua trên lâm sàng trong điều trị sốt phát ban, sốt virus giai đoạn chưa có biến chứng.

4.2. Bàn luận về động vật nghiên cứu và mô hình nghiên cứu

4.2.1. Bàn luận về động vật nghiên cứu

Nghiên cứu thuốc trên động vật thực nghiệm là một việc bắt buộc phải tiến hành trước khi thuốc được đưa ra điều trị trên lâm sàng. Trong đề tài này đã chọn chuột nhắt trắng để tiến hành thí nghiệm. Chuột thí nghiệm đảm bảo đồng đều về các tiêu chuẩn: chuột nhắt trắng chủng Swiss thuần chủng, cả hai giới, trưởng thành, nặng $20 \pm 02g$ do Ban cung cấp động vật thí nghiệm - Học viện Quân y cung cấp, nuôi dưỡng trong điều kiện phòng nuôi động vật thí nghiệm ít nhất 1 tuần trước khi làm thí nghiệm. Chuột được ăn thức ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu, nước (đun sôi để nguội) uống tự do. Những tiêu chuẩn trên nhằm đảm bảo sự đồng đều về đáp ứng sinh học của chuột thực nghiệm. Đã có nhiều nghiên cứu sử dụng súc vật khác nhau như thỏ, lợn, khỉ..., nhưng chuột nhắt trắng là động vật chọn làm thí nghiệm phổ biến hơn cả do nó có một số ưu điểm: tuổi sinh trưởng của chuột nhắt trắng ngắn hơn do quá trình sinh học xảy ra trong cơ thể nhanh chóng hơn, tác dụng của thuốc trên cơ thể cũng xảy ra sớm hơn so với các súc vật khác có thời gian sinh trưởng kéo dài hơn. Do đó, thời gian tiến hành thí nghiệm ngắn hơn, các hóa chất, dược liệu dùng trong nghiên cứu đỡ tốn kém hơn, việc cho ăn, chăm sóc dễ dàng, tiện lợi, an toàn so với súc vật khác. Hơn nữa giá thành của chuột nhắt trắng rẻ hơn so với các động vật lớn khác nên chọn động vật này sẽ tiết kiệm được chi phí [30].

4.2.2. Bàn luận về mô hình nghiên cứu

Trong suốt nhiều thế kỷ, các nhà khoa học đã mô tả sốt là một căn bệnh, tuy nhiên, Carl Reinhold August Wunderlich sau này đã cho rằng “Sốt không phải là một căn bệnh, mà là phản ứng của cơ thể trước căn bệnh” [39]. Sốt là một phản ứng giúp tăng cường hoạt động của hệ miễn dịch, kích thích chuyển hóa tế bào và loại bỏ nguyên nhân gây bệnh. Tuy nhiên, cơn sốt cũng gây ra những phản ứng có hại như tăng nguy cơ xảy ra phản ứng quá mẫn, giảm kềm

và sắt trong máu, sốt quá cao gây mê sảng, lú lẫn, suy tim... [39]. Sốt cao còn gây lừ đừ, co giật, biếng ăn ở trẻ nhỏ [40]. Quan điểm hiện đại vẫn cho rằng vẫn cần can thiệp hạ sốt khi sốt quá cao và kéo dài, đặc biệt trong chấn thương não cấp tính.

Lipopolysaccharit (LPS), một thành phần của vi khuẩn gram âm, thường được sử dụng để thiết lập các mô hình chuột bị viêm và sốt toàn thân. LPS có thể kích hoạt các phản ứng tác động nhiệt tự động và hành vi, đồng thời gây sốt hoặc hạ thân nhiệt tùy thuộc vào liều lượng và nhiệt độ môi trường. LPS liều thấp có thể dẫn đến sốt, trong khi liều cao có thể dẫn đến hạ thân nhiệt, mặc dù nhiều nghiên cứu đã tập trung vào sốt do LPS gây ra. Các liều LPS khác nhau có thể có tác động khác nhau đến nhiệt độ cơ thể, cho thấy rằng cùng một yếu tố gây bệnh có thể ảnh hưởng đến quá trình điều nhiệt theo những cách khác nhau. Tình trạng này rất có thể là do viêm nhiễm gây ra [41].

Mô hình nghiên cứu trên chuột cống trắng gây sốt bằng lipopolysaccharid (LPS), theo phương pháp được mô tả bởi Wu J và cs (2020), có sửa đổi [35] sử dụng chứng dương là Paracetamol. Paracetamol là thuốc hạ sốt, giảm đau, chống viêm có bản chất là dẫn xuất aminophenol. Hoạt chất này làm hạ sốt dựa trên cơ chế ức chế enzym prostaglandin synthetase làm giảm tổng hợp prostaglandin E1 và E2 do đó ức chế các quá trình sinh nhiệt, tăng cường các quá trình thải nhiệt và lập lại cân bằng cho trung tâm điều nhiệt [42]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy lô chứng dùng Paracetamol liều 150 mg/kg có tác dụng hạ sốt tại tất cả thời điểm nghiên cứu. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu tác dụng hạ sốt của Saeed Ahmad và cộng sự [43]. Cho nên, phương pháp nghiên cứu của chúng tôi là phù hợp.

4.3. Về độc tính cấp, độc tính bán trường diễn của viên nang Liên Ngân SK trên động vật thực nghiệm

4.3.1. Độc tính cấp của viên nang Liên Ngân SK

Chuột nhắt trắng được uống Liên ngân SK với các mức liều khác nhau từ 3000mg/kg thể trọng đến 15000mg/kg thể trọng, 0,3ml/10g, 3 lần trong 24 giờ. Không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống Liên ngân SK lần cuối và trong suốt 7 ngày sau uống Liên ngân SK.

Với liều dự kiến có tác dụng trên người là 60 mg/kg/24h, liều quy đổi có tác dụng trên chuột nhắt trắng là $60 \times 12 = 720$ mg/kg/24h. Liều tối đa chuột đã uống là 15000mg/kg thể trọng, gấp khoảng 20,8 lần liều có tác dụng, mà không có chuột nào chết, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào, chứng tỏ Liên ngân SK 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 Liên ngân SK theo đường uống trên chuột nhắt trắng và không xuất hiện độc tính cấp.

Như vậy, trong nghiên cứu độc tính cấp của Liên ngân SK, chuột thực nghiệm đã uống đến mức liều cao nhất, gấp khoảng 20,8 lần liều tương đương liều điều trị trên người nhưng chưa thấy có biểu hiện độc của Liên ngân SK, không xuất hiện độc tính cấp trên chuột nhắt 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 được lý sâu hơn về các vị thuốc.

4.3.2. Độc tính bán trường diễn của viên nang Liên Ngân SK

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn được thực hiện bằng cách cho chuột thí nghiệm uống Liên ngân SK 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 [30],[32],[33].

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 Liên ngân SK với liều 420 mg/kg/24h (tương đương mức liều dự kiến trên người) và một lô dùng liều 1260 mg/kg/24h (tương đương gấp 3 lần liều dùng trên người), uống liên tục trong 90 ngày, thể tích cho uống là 10ml/kg/24h. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn của thuốc Liên ngân SK sau 90 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 Liên ngân SK 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 Liên ngân SK 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 Liên ngân SK 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, 60 và 90 ngày sau uống Liên ngân SK không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa 2 lô dùng Liên ngân SK (liều 420 mg/kg/24h và 1260 mg/kg/24h) so với lô chứng và so với trước khi dùng Liên ngân SK ở tất cả các chỉ số nghiên cứu ($p > 0,05$) (bảng 3.3, 3.4 và 3.5).

Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu về mô bệnh học cấu trúc của vi thể lách. Sau 90 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 Liên ngân SK ở cả hai mức liều đã không gây ảnh hưởng xấu lên chức năng tạo máu của chuột thí nghiệm sau 90 ngày uống thuốc.

- Ảnh hưởng của Liên ngân SK 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 Liên ngân SK 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, 60 và 90 ngày (bảng 3.6). Điều đó chứng tỏ cả 2 liều Liên ngân SK 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 3.7 cho thấy thuốc Liên ngân SK dùng ở 2 mức liều 420 mg/kg/24h và 1260 mg/kg/24h trong 90 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 3.8 cho thấy: sau 30, 60 và 90 ngày Liên ngân SK, 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 (420 mg/kg/24h và 1260 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 bề 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).

Liên ngân SK qua đánh giá sử dụng kéo dài (90 ngày) không gây tổn thương tế bào gan, không làm suy giảm chức năng gan.

- *Ảnh hưởng của Liên ngân SK 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, 60 và 90 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 Liên ngân SK không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$) (bảng 3.9).

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 Liên ngân SK, 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: Liên ngân SK với liều 420 mg/kg/24h và 1260 mg/kg/24h không làm ảnh hưởng đến cấu trúc, chức năng thận của chuột thí nghiệm sau 90 ngày uống Liên ngân SK.

Như vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi chưa thấy Liên ngân SK gây độc bán trường diễn trên động vật thực nghiệm. Tính an toàn của Liên ngân SK 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 Kim ngân hoa, Đinh lăng; bảo vệ tế bào gan như Nhân sâm, Xuyên tâm liên, Kim ngân hoa;... Do đó, Liên ngân SK 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 Liên ngân SK.

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 các vị thuốc trong bài thuốc như nghiên cứu của Xuan Hu cùng cs (2015) Nghiên cứu thực nghiệm tác dụng chống viêm và độc tính cấp của dịch chiết từ *Lonicerae Flos*. Kết quả cho thấy LD₅₀ của dịch chiết nước từ hai liều lần lượt là 72,12 và 69,92 g/kg. Tuy nhiên, không có sự khác biệt rõ ràng về độc tính cấp tính giữa hai liều. Và LD₅₀ của chuột tương ứng bằng 412 và 400 lần so với 60 kg dược liệu khô hàng ngày của người bình thường [44].

4.4. Đánh giá tác dụng hạ sốt của viên nang Liên Ngân SK trên động vật thực nghiệm

4.4.1. Nhiệt độ trung bình của chuột trước nghiên cứu và sau gây sốt

- Nhiệt độ trung bình của chuột trước nghiên cứu giữa các ngày 1, ngày 2, ngày 3 thay đổi không có ý nghĩa thống kê (bảng 3.10).

- Sau khi tiêm LPS gây sốt, các lô uống Liên ngân SK cũng như lô uống paracetamol, tại các thời điểm sau 1h, 2h, 3h, 4h, nhiệt độ trung bình của chuột không khác biệt so với ở lô chứng cũng như so với nhiệt độ cơ sở ($p > 0,05$),

và thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhiệt độ của chuột ở lô mô hình ($p < 0,05$). Từ kết quả trên cho thấy lô chuột uống Liên ngân SK liều 840mg/kg/24h có tác dụng hạ sốt tốt nhất (bảng 3.11). Hoạt chất chính của Xuyên tâm liên chủ yếu thuộc nhóm flavonoid (andrographin, panicolin, apigenin 7,4'-di-O-methylether, mono-O-methyl wightin, 5-hydroxy-7,8-dimethoxy flavon 5-glucosid, 5-hydroxy-7,8,2',3'-tetramethoxy flavon, 5-hydroxy-7,8,2'-trimethoxy flavon 5-glucosid, 5,4'-dihydroxy-7,8,2',3'-tetra methoxy flavon 5-glucosid) [29]; Các flavonoid trong Kim ngân hoa (rutin, luteolin-7-O- β -D-galactosid, lonicerin, hyperosid, luteolin-7-O-neohesperidosid, tricetin-7-O- β -D-glucospyranosid, ochra-flavon L, chrysoeriol-7-O- β -D-hesperidosid, tricetin-7-O- β -D-neohesperidosid, chrysoeriol-7-O- β -D-neohesperidosid, avicularin và quercetin) [29]; Ginsenosid trong Nhân sâm [29];... Những hoạt chất này gợi ý có thể quyết định đến cơ chế hạ sốt của Liên ngân SK.

4.4.2. Đánh giá nồng độ các cytokine TNF- α , IL-1 β và IL-6 trong huyết thanh chuột

Cytokin là một nhóm protein đa dạng không phải là kháng thể, chúng đóng vai trò là các chất trung gian giữa các tế bào. Trước hết chúng là sản phẩm của các tế bào miễn dịch, hoạt động như các chất trung gian và điều hòa các quá trình miễn dịch, nhưng đến hiện nay nhiều cytokin đã biết được sản xuất bởi các tế bào khác không phải là tế bào miễn dịch và cytokin cũng có tác dụng trên những tế bào không phải của hệ miễn dịch. Hiện nay cytokin đang được sử dụng trên lâm sàng như những chất sửa đổi đáp ứng sinh học để điều trị các rối loạn khác nhau. Các cytokin là một thuật ngữ chung được sử dụng để mô tả một nhóm lớn các protein, nhưng cũng có những thuật ngữ khác dùng để mô tả các loại cytokin đặc biệt. Cytokin có chức năng như là một phần của hệ thống lớn hơn liên quan đến nhau của protein và thác tín hiệu, đó là mạng lưới cytokin. Đây là những tương tác phức tạp trong đó các tế bào khác nhau có thể phản ứng

khác nhau đối với cùng một cytokin tùy thuộc vào các tín hiệu được tiếp nhận bởi tế bào. Tín hiệu cytokin rất linh hoạt và có thể gây ra cả hai phản ứng bảo vệ và làm hư hại. Một cytokin thường ảnh hưởng đến sự tổng hợp các cytokin khác. Chúng có thể tạo ra các thác, hoặc tăng cường hay ức chế sản xuất cytokin khác. Ngoài ra, chúng thường có thể ảnh hưởng đến hoạt động của các cytokin khác. Các hiệu ứng có thể là: đối kháng, phụ thêm, hoặc hiệp đồng [46]. Các cytokin chống viêm là một loạt các phân tử điều hòa miễn dịch kiểm soát phản ứng của cytokin tiền viêm. Cytokin hoạt động phối hợp với các chất ức chế cytokin cụ thể và các thụ thể cytokin hòa tan để điều chỉnh phản ứng miễn dịch của con người. Vai trò sinh lý của chúng trong quá trình viêm và vai trò bệnh lý trong tình trạng viêm toàn thân ngày càng được công nhận. Các cytokin chống viêm chính bao gồm chất đối kháng thụ thể interleukin (IL)-1, IL-4, IL-6, IL-10, IL-11 và IL-13 [45]. So với lô mô hình, nồng độ TNF- α , IL-1 β và IL-6 trong huyết thanh chuột ở 2 lô dùng Liên ngân SK giảm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. So sánh giữa 2 lô dùng Liên ngân SK, nồng độ TNF- α , IL-1 β và IL-6 trong huyết thanh chuột ở lô dùng liều cao đều giảm hơn so với lô dùng liều thấp tuy nhiên khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) (bảng 3.12).

KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu độc tính cấp, độc tính bán trường diễn và tác dụng hạ sốt của viên nang cứng Liên ngân SK trên động vật thực nghiệm, chúng tôi kết luận.

1. Độc tính cấp, bán trường diễn của Liên ngân SK

1.1. Độc tính cấp

Chưa tìm thấy LD₅₀ của viên nang cứng Liên ngân SK theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống là 15000 mg/kg (gấp trên 20,8 lần liều tương đương liều điều trị đã quy đổi từ liều trên người sang liều trên chuột nhắt trắng) mà không gây chết chuột nào, không có biểu hiện nào của độc tính cấp.

1.2. Độc tính bán trường diễn

Trên các lô chuột cống trắng cho uống viên nang cứng Liên ngân SK liều 420 mg/kg/ngày (tương đương liều điều trị đã quy đổi từ liều trên người sang liều trên chuột cống trắng), và liều 1260 mg/kg/ngày, liên tục trong 90 ngày, cho thấy:

- Tình trạng chung gồm hoạt động, ăn uống, tình trạng lông, da, niêm mạc, chất tiết của chuột bình thường.
- Không gây ảnh hưởng đến sự phát triển cân nặng của chuột.
- Không làm thay đổi các chỉ số huyết học (số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, nồng độ huyết sắc tố, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu).
- Không làm thay đổi các chỉ tiêu sinh hóa máu bao gồm hoạt độ các enzym AST, ALT, Bilirubin toàn phần, Albumin, Creatinin và Cholesterol toàn phần.
- Không gây tổn thương mô bệnh học gan, lách, thận.

Như vậy viên nang cứng Liên ngân SK an toàn ở các mức liều dùng và thời gian sử dụng trong nghiên cứu thực nghiệm trên chuột cống trắng.

2. Tác dụng hạ sốt

Viên nang cứng Liên ngân SK liều 420 mg/kg/ngày và 840 mg/kg/ngày thể hiện tác dụng hạ sốt trên chuột cống trắng gây sốt bằng lipopolysaccharid (LPS). Cụ thể:

- Ở lô mô hình (gây sốt bằng lipopolysaccharid - LPS):

+ Nhiệt độ trung bình đo ở hậu môn chuột tăng dần sau tiêm LPS. Tại các thời điểm sau 1h, 2h, 3h, 4h sau tiêm LPS, nhiệt độ trung bình của chuột tăng, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với ở lô chứng cũng như so với nhiệt độ cơ sở ($p < 0,05$). Nhiệt độ cơ thể đạt cao nhất tại thời điểm 4h sau tiêm LPS ($37,35^{\circ}\text{C}$).

+ Nồng độ TNF- α , IL-1 β và IL-6 trong huyết thanh chuột đều tăng cao có ý nghĩa thống kê so với ở lô chứng với $p < 0,001$.

- Ở các lô uống Liên ngân SK:

+ Tại các thời điểm sau 1h, 2h, 3h, 4h sau tiêm LPS, nhiệt độ trung bình của chuột không khác biệt so với ở lô chứng cũng như so với nhiệt độ cơ sở ($p > 0,05$), và thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhiệt độ của chuột ở lô mô hình ($p < 0,05$). Tác dụng này tương đương so với ở lô dùng Paracetamol liều 60mg/kg

+ Nồng độ TNF- α , IL-1 β và IL-6 trong huyết thanh chuột ở 2 lô dùng Liên ngân SK giảm có ý nghĩa thống kê so với ở lô mô hình $p < 0,01$. Paracetamol không làm giảm nồng độ TNF- α , IL-1 β và IL-6 trong huyết thanh chuột gây sốt bằng LPS ($p > 0,05$).

KIẾN NGHỊ

Với kết quả nghiên cứu bước đầu của Liên ngân SK trên thực nghiệm cho thấy Liên ngân SK có tính an toàn cao, có tác dụng hạ sốt trên thực nghiệm, chúng tôi đề nghị:

- 1. Tiếp tục nghiên cứu sâu hơn để đánh giá cơ chế tác dụng hạ sốt của Liên ngân SK trên thực nghiệm.*
- 2. Nghiên cứu đánh giá tác dụng hạ sốt trên người tình nguyện.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1 Bộ môn Miễn dịch – Sinh lý bệnh (2016). Sinh lý bệnh học, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 237-246.
- 2 Bartfai T, Conti B (2010), "Fever", *ScientificWorldJournal*, 10 pp. 490-503.
- 3 NXB Đại học Y Hà Nội (2006), "*Sinh lý học - Tập 1*", pp. 91-100.
- 4 Trần Thúy, Nguyễn Nhược Kim (1996), *Thương hàn luận*, Nhà xuất bản Y học, tr. 9-13
- 5 Sciences (2003). *Glossary of terms for thermal physiology*. *J. Therm. Biol.* 28 (1), 75–106. doi:10.1016/s0306-4565(02)00055-4.
- 6 Prajitha, N., Athira, S. S., & Mohanan, P. V. (2019). Comprehensive biology of antipyretic pathways. *Cytokine*, 116, 120-127.
- 7 Shu, M., Luo, S. h., Wan, C. m., and Zhang, C. f. (2016). *Evidence-based guidelines for the diagnosis and management of acute fever with unknown etiology in Chinese children aged 0-5 years: definitions of relevant terms and partial interpretation of body temperature measurement*. *Chin. J. Evid. Based Pediatr.* 11 (3), 232–234. doi:10.3969/j.issn.1673-5501.2016.03.015.
- 8 Niven, D. J., Laupland, K. B., Tabah, A., Vesin, A., Rello, J., Kourenti, D., et al. (2013). *Diagnosis and management of temperature abnormality in ICUs: a EUROACT investigators' survey*. *Crit. Care* 17 (6), R289. doi:10.1186/cc13153.
- 9 Dewitt, S., Chavez, S. A., Perkins, J., Long, B., and Koyfman, A. (2017). *Evaluation of fever in the emergency department*. *Am. J. Emerg. Med.* 35 (11), 1755–1758. doi:10.1016/j.ajem.2017.08.030.
- 10 Hoàng Văn Cường Y3C-HMU (2020), "*Sinh lý Guyton bản Tiếng Việt Chương 74. Điều nhiệt và sốt*", pp. 911-922.

- 11 Dalal, S., & Zhukovsky, DS (2006). *Sinh lý bệnh và xử trí sốt*. Tạp chí ung thư học hỗ trợ , 4 (1), 9-16.
- 12 Trường Đại học Y Hà Nội (2011). *Bài giảng Y học cổ truyền*, Tập 2, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 170-172.
- 13 Trường Đại học Y Hà Nội, Khoa YHCT (2003), *Nội khoa YHCT*, NXB Y học Hà Nội, tr.166-167,176-177.
- 14 Trường Đại học Y Hà Nội, Khoa YHCT (2002), *Lý luận YHCT*, NXB Y học Hà Nội, tr.38-45.
- 15 Maulida, T. F., & Wanda, D. (2017). The utilization of traditional medicine to treat fever in children in western Javanese culture. *Comprehensive Child and Adolescent Nursing*, 40(sup1), 161-168.
- 16 Li F, Jiang Y, Yue B, Luan L. *Use of traditional Chinese medicine as an adjunctive treatment for COVID-19: A systematic review and meta-analysis. Medicine (Baltimore)*. 2021 Jul 30;100(30):e26641. doi: 10.1097/MD.00000000000026641. PMID: 34397691; PMCID: PMC8322509.
- 17 Prommee, N., Itharat, A., Thisayakorn, K., Sukkasem, K., Inprasit, J., Tasanarong, A., ... & Ooraikul, B. (2022). Investigations of the antipyretic effect and safety of Prasachandaeng, a traditional remedy from Thailand national list of essential medicines. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 147, 112673.
- 18 Ninh Thị Lương (2004), *Đánh giá tác dụng hạ sốt của bài thuốc “Lục nhất tán” ở bệnh nhân viêm nhiễm đường hô hấp trên*, Luận văn tốt nghiệp bác sỹ chuyên khoa cấp II, Đại học Y Hà Nội.
- 19 Nguyễn Thị Tuyết Nga, Hồ Anh Sơn, Nguyễn Trọng Tài (2014), *Đánh giá tác dụng của bài thuốc Ngân kiều trên mô hình gây sốt thực nghiệm*, Tạp chí Y – Dược học quân sự số 5-2014.

- 20 Lê Thị Xoan, Nguyễn Thi Phương, Nguyễn Văn Hiệp, Phạm Thị Nguyệt Hằng, Nguyễn Văn Tài. (2021). Tác dụng hạ sốt của cao chiết Bàng biển, Bạch đầu ông và Tiết dê trên mô hình thỏ gây sốt bằng lipopolysaccharid. Bản B của Tạp Chí Khoa học Và Công nghệ Việt Nam, 63(12).
- 21 Trần, T. H. L. (2021). *Đánh giá độc tính và tác dụng hạ sốt của cao chiết lá Bàng biển (Calotropis Gigantea)*.
- 22 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).
- 23 H. Gerhard Vogel (2002), "*Drug Discovery and Evaluation Pharmacological Assays*", pp. 772-773.
- 24 Viện Dược Liệu (2006), "*Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo*", pp. 305.
- 25 Võ Văn Chi (2012). *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, Tập I, II.
- 26 Đỗ Tất Lợi (2009), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học.
- 27 Bộ Y tế (2017), *Dược điển Việt Nam V*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 1132-1133, 1168-1169, 1221-1222, 1279-1281, 1380-1381.
- 28 Bộ Y tế, Dược liệu học, *Nhà xuất bản Y học*, Hà Nội, tr. 243-250, 256, 297-300, 401-404.
- 29 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.
- 30 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.

- 31 Bộ Y Tế (2018), *Thông tư số 29/2018/TT-BYT quy định về thử thuốc trên lâm sàng.*
- 32 World Health Organization - WHO (2000), *General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine*, Geneva, Switzerland, 2000.
- 33 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.
- 34 Organization of Economic Co-operation and Development - OECD (1998), *The OECD Guideline for Testing of Chemicals: 408 Subchronic Oral Toxicity—Rodent: 90 Day Study*, OECD, Paris, France, 1998.
- 35 Wu J, Zhang M, Cheng J et al (2020) *Effect of Lonicerae japonicae Flos Carbonisata -Derived Carbon Dots on Rat Models of Fever and Hypothermia Induced by Lipopolysaccharide.* Int J Nanomedicine.15:4139-41449.
- 38 Nancy Rbrald (1996), *Cẩm nang điều trị nội khoa* (Dịch giả Phạm Gia Khải). Nhà xuất bản Y học Hà Nội, tr.188-191.
- 39 Bartfai T, Conti B (2010), "*Fever*", *ScientificWorldJournal*, 10 pp. 490-503.
- 40 Stanway D (2015), "*Fever in children*", *Nurs Stand*, 29 (26), pp. 51.
- 41 Garami, A., Steiner, A. A., & Romanovsky, A. A. (2018). Fever and hypothermia in systemic inflammation. *handbook of clinical neurology*, 157, 565-597.
- 42 PGS.TS Mai Tất Tố, TS. Vũ Thị Trâm (2007), "*Dược lý học (DSDH) -Tập 2*", Nhà xuất bản Y Học, pp. 264.

- 43 Ahmad S, Shah S M, Alam M K, Usmanghani K, et al (2014), "Antipyretic activity of hydro-alcoholic extracts of *Moringa oleifera* in rabbits", *Pak J Pharm Sci*, 27 (4), pp. 931-934.
- 44 HU, X. (2015). Experimental study on anti-inflammatory effects and acute toxicity of aqueous extract from tetraploid *Lonicerae* Flos. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 1649-1652.
- 45 Opal, S. M., & DePalo, V. A. (2000). *Anti-inflammatory cytokines*. *Chest*, 117(4), 1162-1172.
- 46 Mayer, G. (2009). Response to Antigen: Processing and Presentation. *Immunology. Microbiology and Immunology On-Line*.

Viên nang cứng Liên ngân SK

