BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM

NGUYỄN THỊ DIỆU LINH

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG CỦA CAO KHÔ "THĂNG THANH GIÁNG TRỌC" TRÊN MÔ HÌNH BỆNH THẬN MẠN CẮT 5/6 THẬN CHUỘT

LUẬN VĂN THẠC SỸ Y HỌC

HÀ NỘI – 2025

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM

NGUYỄN THỊ DIỆU LINH

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG CỦA CAO KHÔ "THĂNG THANH GIÁNG TRỌC" TRÊN MÔ HÌNH BỆNH THẬN MẠN CẮT 5/6 THẬN CHUỘT

Chuyên ngành: Y học cổ truyền

Mã số: 8720115

LUẬN VĂN THẠC SỸ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. LÊ THỊ THANH NHẠN

2. TS. BSCKII. PHẠM THUỶ PHƯƠNG

HÀ NỘI – 2025

LỜI CẢM ƠN

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

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

Tôi xin trân trọng cảm ơn thầy PGS.TS. Nguyễn Hoàng Ngân, giảng viên Bộ môn Dược lý – Học viện Quân Y đã quan tâm, tạo điều kiện tốt nhất cho tôi trong việc nghiên cứu, thu thập, hoàn thiện số liệu để hoàn thành đề tài.

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

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

Tôi xin trân trọng cảm ơn!

Hà Nội, ngày tháng năm 2025

Học viên

Nguyễn Thị Diệu Linh

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Nguyễn Thị Diệu Linh, học viên cao học khóa 15, Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam, chuyên ngành Y học cổ truyền. Tôi xin cam đoan:

1. Luận văn này do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn khoa học của PGS.TS. Lê Thị Thanh Nhạn và TS.BSCKII. Phạm Thủy Phương.
2. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.
3. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố trước đây.

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

Hà Nội, ngày tháng năm 2025

Người viết cam đoan

Nguyễn Thị Diệu Linh

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Viết tắt	Tiếng Việt	Tiếng Anh
BTM	Bệnh thận mạn tính	CKD - Chronic kidney disease
KDIGO	Hội thận học quốc tế	Kidney Disease Improving Global Outcomes
eGFR	Độ lọc cầu thận ước tính	Estimated glomerular filtration rate
LD_{50}	Liều gây chết 50% số động vật thực nghiệm	Lethal Dose 50%
MLCT	Mức lọc cầu thận	GFR - Glomerular filtration rate
NKF-KDOQI	Hội đồng Thận học Quốc gia Mỹ	National Kidney Foundation-Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives
TTGT	Thăng thanh giáng trọc	
UUO	Mô hình tắc nghẽn niệu quản một bên	Unilateral ureteral obstruction
YHCT	Y học cổ truyền	Traditional medicine
YHHĐ	Y học hiện đại	Modern medicine

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ 1
Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU 3
1.1. Tổng quan về một số phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc 3
1.1.1. Định nghĩa độc tính cấp 3
1.1.2. Mục tiêu 3
1.1.3. Đối tượng nghiên cứu và liều dùng 3
1.1.4. Một số mô hình gây độc tính cấp 3
1.1.5. Chỉ tiêu theo dõi 4
1.2. Tổng quan về bệnh thận mạn 4
1.2.1. Theo Y học hiện đại 4
1.2.2. Theo y học cổ truyền 12
1.3. Tổng quan về mô hình gây bệnh thận mạn trên động vật thực nghiệm 22
1.3.1. Mô hình gây bệnh thận mạn bằng phương pháp phẫu thuật 22
1.3.2. Mô hình gây bệnh thận mạn bằng hóa chất 25
1.4. Tổng quan về cao khô 'thăng thanh giáng trọc' 26
1.4.1. Xuất xứ cao khô 26
1.4.2. Phân tích bài thuốc theo quân thần tá sứ 26
1.4.3. Các nghiên cứu đã tiến hành đối với bài thuốc "thăng thanh giáng trọc thang" 27
1.5. Thuốc đối chứng trong mô hình nghiên cứu 28
Chương 2: CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU 30
2.1.Chất liệu nghiên cứu 30
2.1.1. Công thức cao khô "thăng thanh giáng trọc" 30
2.1.2. Quy ước tính liều cho động vật nghiên cứu 31
2.2. Động vật nghiên cứu 31
2.2.1. Độc tính cấp 31
2.2.2. Tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" 32

2.3. Phương tiện máy móc, hoá chất nghiên cứu và kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu 32
2.3.1. Thuốc và hoá chất dùng trong nghiên cứu 32
2.3.2. Máy móc và dụng cụ phục vụ nghiên cứu 32
2.3.3. Kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu 34
2.4. Thời gian và địa điểm nghiên cứu 36
2.5. Phương pháp nghiên cứu 36
2.5.1. Phương pháp nghiên cứu độc tính cấp của cao khô "thăng thanh giáng trọc" 36
2.5.2. Phương pháp nghiên cứu tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" ..37
2.6. Chỉ tiêu quan sát 39
2.6.1. Chỉ tiêu quan sát độc tính cấp của cao khô "thăng thanh giáng trọc" 39
2.6.2. Chỉ tiêu quan sát tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" 39
2.7. Chỉ tiêu đánh giá kết quả 39
2.7.1. Chỉ tiêu đánh giá kết quả độc tính cấp của cao khô "thăng thanh giáng trọc" 39
2.7.2. Chỉ tiêu đánh giá tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" 40
2.8. Xử lý số liệu 40
2.9. Sai số và biện pháp khắc phục sai số 40
2.10. Đạo đức trong nghiên cứu 41
Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU 42
3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cao khô "thăng thanh giáng trọc" 42
3.1.1. Kết quả thử nghiệm thăm dò liều ban đầu 42
3.1.2. Kết quả thử nghiệm độc tính cấp 43
3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" trên mô hình bệnh thận mạn cắt 5/6 thận chuột 50
3.2.1. Kết quả đánh giá tình trạng chung và cân nặng của chuột.....50
3.2.2. Kết quả đánh giá ure, creatinin máu chuột.....52
3.2.3. Kết quả đánh giá một số chỉ số huyết học của chuột 58
3.2.4. Kết quả đánh giá huyết áp của chuột 60

3.2.5. Kết quả đánh giá một số chỉ số nước tiểu của chuột.....68
3.2.6. Kết quả đánh giá cân nặng và vi thể thận chuột 73
Chương 4: BÀN LUẬN.....75
4.1. Bàn luận về độc tính cấp của cao khô "thăng thanh giáng trọc" 75
4.2. Bàn luận về tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" trên mô hình bệnh thận mạn cắt 5/6 thận chuột.....78
4.2.1. Về mô hình thực nghiệm.....78
4.2.2. Về tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" trên mô hình bệnh thận mạn cắt 5/6 thận chuột 80
4.2.3. Về tác dụng cao khô "thăng thanh giáng trọc" 92
KẾT LUẬN.....93
KIẾN NGHỊ.....94
TÀI LIỆU THAM KHẢO
PHỤ LỤC

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Phân loại nguyên nhân bệnh thận mạn.....7
Bảng 1.2. Các giai đoạn của bệnh thận mạn.....9
Bảng 1.3. Các giai đoạn của bệnh thận mạn.....9
Bảng 1.4. Kết quả xét nghiệm albumine và protein trong nước tiểu.....10
Bảng 1.5. Chiến lược điều trị theo giai đoạn của bệnh thận mạn.....11
Bảng 2.1. Thành phần bài thuốc "thăng thanh giáng trọc".....30
Bảng 3.1. Kết quả đánh giá thử nghiệm thăm dò liều ban đầu.....42
Bảng 3.2. Kết quả về tình trạng hoạt động, vận động của chuột.....43
Bảng 3.3. Kết quả về ảnh hưởng tới thần kinh thực vật.....44
Bảng 3.4. Kết quả về ảnh hưởng tới tình trạng hô hấp.....45
Bảng 3.5. Kết quả về ảnh hưởng tới tình trạng ăn uống của chuột.....46
Bảng 3.6. Kết quả về ảnh hưởng tới tình trạng chất thải của chuột.....47
Bảng 3.7. Kết quả về đánh giá những biểu hiện bất thường khác.....48
Bảng 3.8. Kết quả đánh giá số chuột chết ở mỗi lô sau khi uống mẫu thử.....49
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên cân nặng chuột...50
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên nồng độ ure huyết thanh của chuột.....53
Bảng 3.11. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên nồng độ creatinin huyết thanh của chuột.....55
Bảng 3.12. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên một số chỉ số huyết học của chuột.....58
Bảng 3.13. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên huyết áp tâm thu của chuột.....60
Bảng 3.14. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên huyết áp tâm trương của chuột.....62
Bảng 3.15. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên huyết áp trung bình của chuột.....65

Bảng 3.16. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên số lượng nước tiểu 24h của chuột 68
Bảng 3.17. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên protein niệu 24h của chuột.....71
Bảng 3.18. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên cân nặng thận chuột 73

DANH MỤC HÌNH

Hình 2.1. Máy xét nghiệm sinh hoá 33
Hình 2.2. Cân điện tử 33
Hình 2.3. Kim cong đầu tù 33
Hình 2.4. Máy xét nghiệm huyết học 33
Hình 2.5. Đo huyết áp đuôi chuột bằng hệ thống Powerlab cùng các thiết bị ngoại vi 34
Hình 3.1. Hình ảnh vi thể thận chuột ở các lô nghiên cứu 74

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh thận mạn tính là một bệnh lý nặng và phổ biến gặp trong các bệnh thận tiết niệu, đồng thời cũng là biến chứng của một số bệnh nội khoa như đái tháo đường, tăng huyết áp, gout [1]. Đây là vấn đề sức khoẻ có tính toàn cầu, tần suất tăng nhanh và đòi hỏi chi phí điều trị cao [2].

Theo "Nghiên cứu về gánh nặng bệnh tật toàn cầu" năm 2010, bệnh thận mạn từ vị trí thứ 27 (1990) đã lên vị trí thứ 18 trong nguyên nhân tử vong toàn cầu năm 2010 [3]. Hiện có khoảng 1,5 triệu người suy thận mạn giai đoạn cuối đang điều trị thay thế thận (thận nhân tạo, lọc màng bụng, ghép thận) trên thế giới, và con số này dự kiến sẽ tăng gấp đôi vào năm 2020. Ở Việt Nam, chưa có nghiên cứu quy mô toàn quốc, nhưng tác giả Võ Tam cho biết tỷ lệ bệnh thận mạn với mức lọc cầu thận < 60 ml/phút ở Thừa Thiên Huế là 0,92% [2]. Tác giả Nguyễn Thị Thu Hiền thống kê trong số 300 bệnh nhân mắc bệnh thận mạn đang điều trị tại bệnh viện đa khoa tỉnh Phú Thọ từ năm 2017 - 2019 gồm tỷ lệ bệnh nhân điều trị lọc máu chiếm 39,3%, điều trị nội khoa 59,4%, ghép thận 1,3% [4].

Bệnh thận mạn có diễn tiến âm ỉ và ảnh hưởng đến nhiều cơ quan khác, nếu không điều trị hiệu quả sẽ đe dọa sức khỏe người bệnh. Với tác động lớn đến sức khỏe cộng đồng, việc phòng ngừa, điều trị và làm chậm tiến triển của bệnh là thách thức quan trọng. Trong những năm gần đây, các phương pháp điều trị thay thế như chạy thận nhân tạo, ghép thận và lọc màng bụng đã kéo dài tuổi thọ cho nhiều bệnh nhân giai đoạn cuối. Tuy nhiên, những phương pháp này có chi phí cao, nguồn cung ghép thận hạn chế, và không phù hợp với bệnh nhân ở giai đoạn đầu và giai đoạn 3, 4. Do đó, nhiều bệnh nhân không thể tiếp cận điều trị, dẫn đến bệnh nặng hơn hoặc tử vong. Trong các phương pháp điều trị, y học cổ truyền ngày càng được ưa chuộng nhờ dễ sử dụng, ít tác dụng phụ, và có hiệu quả trong việc giảm triệu chứng, ngăn ngừa biến chứng và làm chậm tiến triển bệnh, nên cần được áp dụng rộng rãi.

Lê Thị Thanh Nhạn và cộng sự sử dụng bài thuốc "thăng thanh giáng trọc thang" để điều trị 30 bệnh nhân suy thận mạn tại Khoa Thận tiết niệu Bệnh viện Tuệ Tĩnh, từ tháng 4/2010 đến tháng 5/2011, có hiệu quả điều trị đạt 80% [5].

Nhưng sử dụng thuốc dưới dạng thuốc sắc còn bất tiện như việc sắc thuốc tốn nhiều thời gian, khó bảo quản, người bệnh cần đi xa. Vì vậy nhằm thuận tiện cho người sử dụng, chúng tôi bước đầu tiến hành: "*Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" trên mô hình bệnh thận mạn cắt 5/6 thận chuột"* với hai mục tiêu:

1. *Đánh giá độc tính cấp của cao khô "thăng thanh giáng trọc".*
2. *Đánh giá tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" trên mô hình bệnh thận mạn cắt 5/6 thận chuột.*

Chương 1
TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan về một số phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc

1.1.1. Định nghĩa độc tính cấp

Độc tính (toxicity) của một loại thuốc là đặc điểm được thể hiện thông qua tác dụng không mong muốn, gây hại cho cơ thể. Độc tính của thuốc có thể nhẹ như buồn nôn, mẩn ngứa, thay đổi vận động, hành vi; nhưng cũng có thể rất nặng, thậm chí nguy hiểm đến tính mạng.

Độc tính cấp (acute toxicity) của một loại thuốc là độc tính xảy ra sau khi sử dụng thuốc một lần hoặc vài lần trong ngày. Mục tiêu nghiên cứu độc tính cấp trên động vật thực nghiệm là xác định liều gây tử vong trung bình (mean lethal dose), tức là liều lượng làm chết 50% số động vật thí nghiệm dưới điều kiện nhất định; điều này được biểu thị bằng ký hiệu LD_{50} (lethal dose 50%) [6], [7].

1.1.2. Mục tiêu

Thử nghiệm độc tính cấp được thực hiện để cung cấp thông tin hỗ trợ việc phân loại mức độ độc của thuốc, điều trị ngộ độc cấp, và xác định mức liều cần thiết cho các thử nghiệm độc tính tiếp theo [8], [9].

1.1.3. Đối tượng nghiên cứu và liều dùng

Thử nghiệm độc tính trên ít nhất 2 loài động vật có vú, trong đó có một loài không gặm nhấm. Tùy thuộc vào từng điều kiện, có thể quyết định thử nghiệm trên một loài động vật. Các loài gặm nhấm thường sử dụng gồm chuột nhắt và chuột cống, trong khi loài không gặm nhấm thường là chó hoặc khỉ. Trong nghiên cứu của chúng tôi sử dụng chuột nhắt làm động vật thực nghiệm [6].

Đường dùng tương tự đường dùng cho người, bao gồm đường uống, tiêm, hô hấp.

1.1.4. Một số mô hình gây độc tính cấp

Mô hình Litchfield-Wilcoxon: Động vật thường dùng là chuột nhắt trắng, cả 2 giống, khoẻ mạnh. Chuột được nhịn ăn 12 giờ trước khi uống thuốc, vẫn uống nước

đầy đủ. Cho từng lô chuột uống mẫu thuốc nghiên cứu theo liều tăng dần. Theo dõi các triệu chứng bất thường xảy ra ngay sau khi uống thuốc. Tìm liều cao nhất không gây chết chuột, liều thấp nhất gây chết 100% số chuột và các liều trung gian, số chuột chết ở các liều trung gian (nếu có). Đây là mô hình được sử dụng phổ biến ở nghiên cứu trong và ngoài nước. Trong phạm vi nghiên cứu của đề tài, chúng tôi đã sử dụng mô hình này.

Mô hình thử Tăng-Giảm: Thực hiện thử nghiệm bằng cách áp dụng các liều theo thứ tự, mỗi liều được đưa vào một thời điểm, và giữa các liều phải có khoảng thời gian ít nhất là 48 giờ. Đối với động vật đầu tiên, liều thấp nhất được thử nghiệm gần với liều LD_{50} được ước tính [10]. Nếu động vật sống, liều cho động vật tiếp theo sẽ được tăng lên 3,2 lần so với liều đã thử trước đó; nếu động vật chết, liều sẽ giảm xuống 3,2 lần. Quan sát tình trạng của từng động vật để quyết định liều tiếp theo [11].

Mô hình phân loại độc: Thử nghiệm theo quy trình bậc thang, mỗi bước sử dụng 3 con cùng giới. Tuỳ thuộc động vật có chết hay không trong một bước thử mà xác định cho bước thử tiếp theo, như không cần thử thêm nữa, hoặc thử thêm 3 con nữa với cùng mức liều đó hoặc thử thêm trên 3 con nữa ở mức liều cao hơn hoặc thấp hơn [10].

1.1.5. Chỉ tiêu theo dõi

Theo dõi các biểu hiện nhiễm độc sớm bao gồm quan sát tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu và có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết…), khả năng và thời gian hồi phục và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc.

Theo dõi các biểu hiện nhiễm độc muộn và khả năng hồi phục các biểu hiện nhiễm độc bao gồm tiếp tục quan sát tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống thuốc. Các chỉ tiêu theo dõi tương tự như theo dõi trong 72 giờ đầu.

1.2. Tổng quan về bệnh thận mạn

1.2.1. Theo Y học hiện đại

1.2.1.1. Giải phẫu thận

Thận có hình dạng hạt đậu, dài khoảng 10 – 12,5cm, rộng khoảng 5 – 6cm và

dày khoảng 3 – 4cm. Gồm các mặt trước và sau, các bờ trong và ngoài, các cực trên và dưới.

Thận và tuyến thượng thận được vùi trong một bao mỡ, gọi là bao mỡ quanh thận. Mô liên kết sợi bao quanh bao mỡ này dày đặc lại thành mạc thận. Mạc thận có một chẽ ngang ngăn cách thận với tuyến thượng thận. Trên thiết đồ cắt đứng ngang qua thận, ta thấy thận có 2 phần, phần đặc ở xung quanh là nhu mô thận, phần giữa rộng là xoang thận. Xoang thận mở ra phía trong một khe hẹp gọi là rốn thận để các thành phần trong cuống thận đi qua. Thành phần cuống thận nằm trong xoang thận gồm hệ thống đài bể-thận, các mạch máu và thần kinh thận. Phần còn lại của xoang thận được lấp đầy bởi các tổ chức mỡ. Ngoài cùng bọc lấy thận là một bao xơ.

Với chức năng ngoại tiết là bài tiết nước tiểu, thận có nhiệm vụ đào thải các sản phẩm chuyển hóa cuối cùng và lượng nước dư thừa trong cơ thể, do đó duy trì cân bằng nước, điện giải trong các mô. Thận cũng có chức năng nội tiết, sản sinh và đưa vào máu chất erythroprotein có tác dụng trong việc tạo hồng cầu và chất renin ảnh hưởng đến huyết áp [12], [13].

1.2.1.2. Định nghĩa

Theo KDIGO 2012 (Kidney Disease Improving Global Outcomes), Bệnh thận mạn tính (Chronic kidney disease - CKD) được định nghĩa là những bất thường về cấu trúc hoặc chức năng thận, kéo dài trên 3 tháng và ảnh hưởng đến sức khỏe người bệnh.

Tiêu chuẩn chẩn đoán bệnh thận mạn dựa vào 1 trong 2 tiêu chuẩn tồn tại kéo dài trên 3 tháng là triệu chứng tổn thương thận và giảm mức lọc cầu thận.

Triệu chứng tổn thương thận có biểu hiện 1 hoặc nhiều các biểu hiện sau đây:

- Có Albumine nước tiểu (tỷ lệ albumine/creatinine nước tiểu >30mg/g hoặc albumine nước tiểu 24 giờ >30mg/24giờ).

- Bất thường cặn lắng nước tiểu: Trong nước tiểu có hồng cầu, bạch cầu, các trụ niệu.

- Bất thường điện giải hoặc các bất thường khác do rối loạn chức năng ống thận.

- Tổn thương tại nhu mô thận được phát hiện qua sinh thiết thận.

- Xét nghiệm hình ảnh học phát hiện thận bất thường: Siêu âm có hình ảnh kích thước thận giảm trong bệnh lý cầu thận mạn. Trường hợp ứ nước bể thận do sỏi có thể thấy nhu mô thận mỏng, đài bể thận giãn. Trường hợp bệnh thận đa nang hoặc bệnh thận do thoái biến dạng bột thấy kích thước thận tăng lên.

- Có tiền sử ghép thận.

Mức lọc cầu thận (Glomerular filtration rate - GFR) <60mL/ph/1,73 m^2 [14].

MLCT được đánh giá dựa vào MLCT ước tính qua công thức MDRD (Modification of Diet in Renal Disease Study) hoặc mức độ thanh thải creatinine ước tính theo công thức Cockcroft – Gault:

- Công thức MDRD ước đoán độ lọc cầu thận (estimated GFR, eGFR) từ creatinine huyết thanh:

MLCT ước đoán (mL/ph/1,73 m^2 da) = 1,86 × (cre huyết thanh) – 1,154 × (tuổi) – 0,203

Nhân với 0,742 nếu là nữ, nhân với 1,21 nếu là người Mỹ gốc Phi.

- Công thức Cockcroft Gault ước đoán độ thanh thải creatinine từ creatinine huyết thanh:

Độ thanh thải creatinine (mL/ph) = $\frac{(140 - tuổi) \times cân\ nặng\ (kg)}{72 \times creatinine\ huyết\ thanh\ (\frac{mg}{dL})}$

Nếu là nữ: nhân với 0,85

Diện tích da (m^2 da) = [cân nặng (kg) × chiều cao (cm)/3600]$^{1/2}$

- Trong đó protein niệu kéo dài và liên tục là một trong những dấu ấn thường gặp và quan trọng trong việc xác định tổn thương thận trong thực hành lâm sàng [15].

1.2.1.3. Dịch tễ học bệnh thận mạn

Bệnh thận mạn (BTM) là một trong những bệnh nổi bật gây tử vong trong thế kỷ 21. BTM phổ biến hơn ở người lớn tuổi, phụ nữ, những người mắc bệnh đái tháo đường và tăng huyết áp [16].

Một nghiên cứu đánh giá tỷ lệ lưu hành và gánh nặng của BTM năm 2010 đã tổng hợp kết quả của 33 nghiên cứu đại diện dựa trên dân số từ khắp nơi trên thế giới, theo đó BTM giai đoạn 1 – 5 ở những người ≥20 tuổi là 10,4% ở nam giới và 11,8% ở nữ giới. Nghiên cứu đã tìm thấy sự khác biệt về tỷ lệ mắc BTM tương ứng

với thu nhập của mỗi quốc gia. Với nam, tỷ lệ mắc bệnh BTM là 8,6% và 10,6% tương ứng các quốc gia có thu nhập cao và thấp/trung bình. Còn với nữ, tỷ lệ là 9,6% và 12,5% tương ứng các quốc gia có thu nhập cao và thấp/trung bình [17]. Một nghiên cứu gần đây hơn đã thực hiện phân tích tổng hợp 100 nghiên cứu bao gồm 6.908.440 bệnh nhân và báo cáo tỷ lệ lưu hành toàn cầu đối với BTM giai đoạn 1 là 3,5%, giai đoạn 2 (3,9%), giai đoạn 3 (7,6%), giai đoạn 4 (0,4%) và giai đoạn 5 (0,1%) [18].

Ở các nước có thu nhập trung bình, việc điều trị bằng lọc máu hoặc ghép thận tạo ra gánh nặng tài chính rất lớn cho những người cần nó. Nhiều người không đủ khả năng chi trả chi phí điều trị, dẫn đến hơn 1 triệu người tử vong mỗi năm do suy thận không được điều trị [19].

Đái tháo đường là yếu tố nguy cơ quan trọng nhất đối với bệnh nhân BTM. Tại Hoa Kỳ, tỷ lệ mắc BTM giai đoạn 3 – 4 ở bệnh nhân tiểu đường là 24,5% từ năm 2011 đến 2014, trong khi ở người tiền tiểu đường là 14,3% và ở người không mắc bệnh tiểu đường là 4,9%. Bên cạnh đái tháo đường, tăng huyết áp cũng là một yếu tố nguy cơ có liên quan chặt chẽ với BTM [20]. Tỷ lệ mắc BTM ở người trưởng thành bị tăng huyết áp ở Hoa Kỳ là 35,8% trong năm 2011 đến 2014, so với tỷ lệ 14,4% ở người tiền tăng huyết áp và 10,2% ở người không tăng huyết áp [21].

1.2.1.4. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh bệnh thận mạn tính

a. Nguyên nhân

Theo KDIGO 2012, nguyên nhân BTM được phân loại dựa vào vị trí tổn thương giải phẫu học và bệnh căn nguyên chủ yếu tại thận, hoặc thứ phát sau các bệnh lý toàn thân (bảng 1.1) [22].

Bảng 1.1. Phân loại nguyên nhân bệnh thận mạn (theo KDIGO 2012)

Nguyên nhân	Bệnh thận nguyên phát	Bệnh thận thứ phát sau bệnh toàn thân
Bệnh cầu thận	Bệnh cầu thận tổn thương tối thiểu, bệnh cầu thận màng…	Đái tháo đường, bệnh tự miễn, bệnh ác tính, thuốc
Bệnh ống thận mô kẽ	Nhiễm trùng tiểu, sỏi niệu, bệnh thận tắc nghẽn	Bệnh tự miễn, bệnh thận do thuốc, đa u tuỷ
Bệnh mạch máu thận	Viêm mạch máu do ANCA, loạn dưỡng xơ cơ	Xơ vữa động mạch, thuyên tắc do cholesterol, tăng huyết áp
Bệnh nang thận và bệnh thận bẩm sinh	Thiểu sản thận, nang tuỷ thận	Bệnh thận đa nang, hội chứng Alport

b. Cơ chế bệnh sinh

Biểu hiện khách quan nhất của suy thận mạn tính là sự giảm dần hệ số thanh lọc. Sau đó là sự tích đọng ngày càng tăng các sản phẩm chuyển hoá chứa nitơ. Hàng đầu là creatinine và ure. Ngoài ra các sản phẩm chuyển hoá khác như acid guanido-succinic, acid uric, chất có nhân phenol, các amin… cũng trong nhóm này để tạo thành một phức hệ có tên "độc tố urê-huyết" có khả năng gây ra một số triệu chứng thần kinh như nhức đầu, buồn nôn, mệt mỏi, run cơ, ngứa, dị cảm… được coi là tiền triệu của "hội chứng urê - huyết" và bước đầu đe dọa hôn mê (do) thận.

- Hội chứng urê-huyết (Uremia): Uremia là tập hợp các dấu hiệu và triệu chứng thường gặp trong giai đoạn cuối của suy thận mạn bất kỳ do nguyên nhân nào. Khi GFR >50% so với bình thường thì không có biểu hiện gì vì các nephron còn lại tăng hoạt động bù trừ. GFR <50% mới có tình trạng tăng nitơ huyết. GFR <25% mới có biểu hiện của suy thận mạn hay Uremia.

- Nhiễm acid trong suy thận mạn: Cơ thể sản xuất các acid chuyển hoá và kiềm chuyển hoá mỗi ngày, chúng trung hoà với nhau. Nhưng khi lượng acid sản xuất ra vượt lượng kiềm khoảng 50 - 80 millimol và được thận đào thải. Suy thận làm tích đọng một phần hay toàn phần số acid này trong các dịch cơ thể. Tổng vốn kiềm (các hệ thống đệm) của cơ thể có thể thanh toán 500 - 1000 millimon acid. Khi kiềm của cơ thể bị sử dụng cạn kiệt, pH máu giảm nhanh, nếu pH dưới 6,8 sẽ gây hôn mê và chết. Khi suy thận hoàn toàn thì sau 10 - 12 ngày lượng H^+ có thể tăng đến mức gây chết [23], [24].

1.2.1.5. Phân giai đoạn bệnh thận mạn

Năm 2002, NKF-KDOQI (National Kidney Foundation-Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives) phân BTM thành 5 giai đoạn dựa vào MLCT.

Bảng 1.2. Các giai đoạn của bệnh thận mạn (theo NKF-KDOQI năm 2002)

Giai đoạn	**Mô tả**	**Mức lọc cầu thận (mL/ph/1,73m^2 da)**
1	Tổn thương thận với MLCT bình thường hoặc tăng	≥90
2	Tổn thương thận với MLCT giảm nhẹ	60 - 89
3	Giảm MLCT trung bình	30 - 59
4	Giảm MLCT nặng	15 - 29
5	Bệnh thận mạn giai đoạn cuối	<15 hoặc phải điều trị thận nhân tạo

Năm 2012, KDIGO chia giai đoạn 3 được thành 3a và 3b, kèm theo bổ sung albumine niệu vào trong bảng phân giai đoạn (bảng 1.2) hỗ trợ cho việc đánh giá tiên lượng và tiến triển của BTM.

Bảng 1.3. Các giai đoạn của bệnh thận mạn (theo KDIGO năm 2012)

Các giai đoạn của bệnh thận mạn				**Albumine niệu kéo dài (tỷ lệ albumin/creatinin) (mg/g)**		
				A1	**A2**	**A3**
				Bình thường đến tăng nhẹ	**Tăng trung bình**	**Tăng nhiều**
				<30	**30 - 300**	**>300**
Phân loại theo MLCT (mL/ph/1,73 m^2)	G1	Bình thường hoặc tăng	≥90			
	G2	Giảm nhẹ	60 - 89			
	G3a	Giảm nhẹ đến trung bình	45 - 59			
	G3b	Giảm trung bình đến nặng	30 - 44			
	G4	Giảm nặng	15 - 29			
	G5	Suy thận	≤15			

Màu	Nguy cơ bệnh thận tiến triển	Tần suất khám bệnh mỗi năm
	Nguy cơ thấp	Ít nhất 1 lần/năm
	Nguy cơ trung bình	Ít nhất 2 lần/năm
	Nguy cơ cao	Ít nhất 3 lần/năm
	Nguy cơ rất cao	Ít nhất 4 lần/năm

Cần lưu ý MLCT chỉ phản ánh chính xác giai đoạn BTM khi chức năng thận ổn định (không thay đổi trong 3 tháng xét nghiệm lặp lại) và sau khi đã loại bỏ các yếu tố làm nặng thêm tạm thời tình trạng suy thận [25].

1.2.1.6. Chẩn đoán bệnh thận mạn

Chẩn đoán xác định

Chẩn đoán bệnh thận mạn dựa vào:

- Lâm sàng có thể có hoặc không có biểu hiện bệnh thận như phù toàn thân, tiểu máu…

- Cận lâm sàng:

Xét nghiệm định lượng creatinine huyết thanh.

Xét nghiệm nước tiểu tìm protein hoặc albumine trong nước tiểu, tốt nhất là mẫu nước tiểu đầu tiên buổi sáng sau ngủ dậy.

Bảng 1.4. Kết quả xét nghiệm albumine và protein trong nước tiểu

Albumine và protein niệu	**Bình thường**	**Bất thường**
Tỷ lệ albumine/creatinine niệu (ACR)	<30mg/g <3mg/24 giờ	≥30mg ≥3mg/mmol
Albumine niệu 24 giờ	<30mg/24 giờ	≥30mg/24 giờ
Tỷ lệ protein/creatinine niệu (PCR)	<150mg/g <15mg/mmol	≥150mg/g ≥15mg/mmol
Protein niệu 24 giờ	<150mg/24 giờ	≥150mg/24giờ
Protein niệu giấy nhúng	Âm tính	Vết đến dương tính

Xét nghiệm cặn lắng nước tiểu (tìm cặn lắng bất thường như hồng cầu, bạch cầu, các trụ niệu).

Xét nghiệm điện giải đồ.

Sinh thiết thận.

Chẩn đoán hình ảnh: Siêu âm thận và hệ tiết niệu (tìm sỏi, nang thận, kích thước thận).

Chẩn đoán xác định bệnh thận mạn khi các xét nghiệm vẫn bất thường trong những lần xét nghiệm lập lại sau trong vòng 3 tháng.

- Tiền sử: Có tiền sử bệnh thận tiết niệu hoặc có liên quan tới thận tiết niệu (tăng huyết áp, đái tháo đường).

Chẩn đoán giai đoạn BTM dựa theo bảng phân chia giai đoạn BTM (bảng 1.2). Chẩn đoán nguyên nhân BTM dựa trên bảng phân loại nguyên nhân (bảng 1.1), đồng thời cần phân biệt với suy thận cấp, vì suy thận cấp có thể hồi phục sau một thời gian giảm chức năng thận. Khi creatinine tăng đột ngột ở bệnh nhân BTM hoặc bệnh nhân có creatinine huyết thanh cao lúc nhập viện mà không biết mức cơ bản, cần tầm soát các yếu tố làm nặng thêm như thay đổi huyết áp, giảm thể tích máu do mất máu, mất dịch, suy tim, tắc nghẽn đường tiểu, nhiễm trùng, biến chứng mạch máu thận (huyết khối, hẹp động mạch thận), hoặc thuốc độc cho thận (thuốc cản quang, aminoglycoside, NSAIDs). Biến chứng của BTM bao gồm tăng huyết áp, thiếu máu, loạn dưỡng xương, suy dinh dưỡng, và các rối loạn nội tiết, tiêu hóa, chuyển hóa, thần kinh, tâm thần, tim mạch. [26], [27].

1.2.1.7. Điều trị bệnh thận mạn

a. Mục tiêu điều trị

Điều trị bệnh thận căn nguyên và các yếu tố nguy cơ cũng như bệnh phối hợp.

Làm chậm tiến triển của bệnh thận mạn.

Điều trị triệu chứng và biến chứng của bệnh.

Điều trị thay thế thận khi thận suy nặng.

b. Nguyên tắc điều trị bệnh thận mạn

Theo KDOQI 2002, chiến lược chung điều trị bệnh thận mạn được phân theo giai đoạn của phân độ bệnh thận mạn.

Bảng 1.5. Chiến lược điều trị theo giai đoạn của bệnh thận mạn

Giai đoạn	Mức lọc cầu thận (mL/ph/1,73)	Việc cần làm (*)
1	≥90	Chẩn đoán và điều trị bệnh căn nguyên, giới hạn yếu tố nguy cơ gây suy thận cấp, làm chậm tiến triển bệnh thận, điều trị yếu tố nguy cơ tim mạch
2	60 - 89	Ước đoán tốc độ tiến triển bệnh thận
3	30 - 59	Đánh giá và điều trị biến chứng
4	15 - 29	Chuẩn bị điều trị thay thế thận
5	≤15	Điều trị thay thế thận nếu có hội chứng ure huyết

(*) giai đoạn sau tiếp tục việc của giai đoạn trước

c. Các phương pháp điều trị bệnh thận mạn

Điều trị bảo tồn

Chỉ định điều trị bảo tồn khi mức lọc cầu thận >15mL/phút tương ứng với bệnh thận mạn tính giai đoạn I đến IV theo Hội thận học Hoa Kỳ.

Mục đích của điều trị bảo tồn nhằm làm chậm hoặc ngăn ngừa tiến triển của tình trạng suy thận, hạn chế các biến chứng và điều trị các biến chứng thận của suy thận.

Phương pháp điều trị bao gồm:

- Chế độ ăn giảm đạm.
- Kiểm soát huyết áp tốt, nên duy trì huyết áp ở mức <130/80mmHg.
- Điều trị tăng kali máu, điều trị toan máu.
- Điều trị thiếu máu.
- Điều trị tình trạng cường cận giáp và tổn thương xương.
- Chống nhiễm khuẩn và giải quyết các ổ hoại tử hoặc xuất huyết.
- Không dùng các chất độc cho thận.
- Điều trị bệnh là nguyên nhân của bệnh thận mạn hoặc các bệnh phối hợp.

Điều trị thay thế thận

Chỉ định điều trị thay thế thận khi mức lọc cầu thận <15mL/phút tương ứng với bệnh thận mạn tính giai đoạn cuối theo hội thận học Hoa Kỳ.

Điều trị thay thế thận gồm thận nhân tạo, lọc màng bụng, ghép thận [26].

1.2.2. Theo y học cổ truyền

1.2.2.1. Bệnh danh

Căn cứ vào các triệu chứng xuất hiện ở bệnh nhân bệnh thận mạn trên lâm sàng như phù thũng, tiểu ít, buồn nôn, nôn, mệt mỏi vô lực, sắc mặt tím tối, co giật..., có thể quy về phạm vi các chứng bệnh như thủy thũng, quan cách, niệu độc, long bế, hư lao, thận lao, thận phong.... Trong đó nếu phù thũng là triệu chứng lâm sàng chính, thường được chẩn đoán là thủy thũng; nếu triệu chứng chủ yếu là buồn nôn, nôn, tiểu ít, bí tiểu, có thể chẩn đoán là quan cách hoặc long bế; trường hợp biểu hiện rõ mệt mỏi vô lực, ăn kém, sắc mặt tím tối, có thể chẩn đoán là hư lao, thận lao. Giai đoạn cuối có các triệu chứng chóng mặt, co giật, hôn mê, tê bì, ngứa toàn thân, có thể chẩn đoán là niệu độc hoặc thận phong [28].

a. Thận lao

Bệnh danh "Thận lao" được đề cập đầu tiên trong "Kim quỹ yếu lược". Tài liệu "Kim quỹ yếu lược" chỉ ra triệu chứng của chứng "Thận lao" giống như của bệnh thận mạn. Các y gia hậu thế như Sào Nguyên Phương, Tôn Tư Mạo, Trần Vô Trạch đã quy nạp nguyên nhân gây bệnh của chứng "Thận lao" bao gồm "phòng lao thương thận", "tình chí thương thận", "tà thực thương thận" [29].

b. Hư lao

Bệnh danh hư lao lần đầu xuất hiện trong "Kim quỹ yếu lược". "Mạch chứng và cách chữa bệnh Huyết Tý Hư lao" chương 6, sách "Kim quỹ yếu lược" có viết: "Thực thương, ưu thương, phong khí bách bệnh" là trở thành nguyên nhân cơ bản của sự phát sinh bệnh hư lao. "Chư bất túc" của các loại nguyên nhân kéo dài điều trị không khỏi gây nên thì là bệnh cơ của hư lao. Bệnh suy thận mạn giai đoạn sau sau khi xuất hiện triệu chứng hư tổn mạn tính thì quy nó thuộc hư lao. Đặc điểm chủ yếu của nó là quá trình bệnh kéo dài, bệnh tình phức tạp, dai dẳng khó khỏi [30].

c. Quan cách

Bệnh danh "Quan cách" xuất hiện đầu tiên trong "Hoàng đế Nội kinh". Khi đó "Quan cách" được nhắc đến như một mạch tượng hoặc bệnh lý nhưng không nói đến mạch chứng, sau này Trương Trọng Cảnh chính thức gọi thành bệnh danh. Sách "Bình mạch pháp" viết Quan tức không đi tiểu được và Cách tức là nôn [31].

Trong sách "Thương hàn tạp bệnh luận" nhắc tới sự xuất hiện đồng thời của tiểu tiện không thông và nôn mửa làm chủ chứng là "Quan cách" [30].

d. Long bế

Bệnh danh "Long bế" xuất hiện đầu tiên trong Hoàng đế nội kinh. "Hoàng đế nội kinh" viết: "Bàng quang không lợi là long, không ước là di nịch". Mà trong "Tố vấn - tiêu bản bệnh truyền luận" nói: "Bàng quang bệnh tiểu tiện bế". Phân tách chỉ ra long và bế. Bệnh nguyên bệnh cơ của long bế không chỉ liên quan tới bàng quang mà với phế, tỳ, thận, can, tam tiêu cũng có mối quan hệ chặt chẽ. Trong "Tố Vấn" lại nói: "Kỳ bệnh long bế, tà thương thận dã" có thể thấy mối quan hệ sự phát bệnh của nó với thận. Bệnh suy thân mạn tiến triển tới giai đoạn sau tiểu cầu thận xơ hóa thông thường sẽ kèm thêm triệu chứng long bế này [30].

e. Thủy thũng

Trong "Kim quỹ yếu lược", "Thủy thũng" được mô tả khi nước không hóa thành khí, đọng lại mà sinh ra bệnh thủy thũng. Vì thế thủy khí nói theo bệnh lý, thủy thũng nói theo chứng trạng [32].

Trong "Tố vấn – thủy nhiệt huyệt luận thiên" ghi lại: "Thận giả chí âm, chí âm thịnh thủy, kỳ bản tại thận, kỳ mạt tại thận, giai tích thủy vậy, chư thấp thũng mãn, giai thuộc vu tỳ". Từ đây có thể thấy quan hệ của thủy thũng với 3 tạng phế, tỳ, thận vô cùng chặt chẽ, hơn nữa 3 tạng là mấu chốt quan trọng của sự chuyển hóa thủy dịch, bất kỳ tạng phủ nào có vấn đề đều ảnh hưởng tới các tạng phủ còn lại, tạo thành thủy dịch tích trệ bên trong cơ thể, tràn ra bì phu hình thành thủy thũng [30].

f. Niệu độc

Trong "Trọng đinh quảng ôn nhiệt luận" của Hà Liêm Thần đã chỉ ra: "Niệu độc nhập huyết, huyết độc thượng não là chứng hậu, nôn, buồn nôn, chóng mặt, ù tai, hơi thở hôi, co giật, miệng đắng, lưỡi có điểm đen và loét" [5].

1.2.2.2. Bệnh nguyên bệnh cơ

Thì Chấn Thanh cho rằng nguyên nhân gây bệnh thận mãn tính có thể chia thành chủ nhân (nguyên nhân trong cơ thể) và dụ nhân (nguyên nhân bên ngoài dẫn đến), chủ nhân phần lớn là do tỳ và thận hư tổn, đặc biệt là thận khí suy, không làm tốt việc phân thanh bí trọc, cho đến sự liên quan mật thiết với thấp trọc nội đình (ngưng đọng thấp trọc); dụ nhân chỉ tới ngoại tà và lao lực quá độ, bởi vì dụ nhân phát sinh, thường thúc đẩy bệnh tình trở nặng, thậm chí tử vong. Cơ chế bệnh sinh của nó đa phần là chính hư tà thực, hàn nhiệt thác tạp. Chính hư tức là âm, dương, khí, huyết hư tổn, tà thực chủ yếu có mấy phương diện thấp nhiệt, ứ huyết, thủy thấp, phong nhiệt. Mấu chốt của cơ chế bệnh sinh nằm ở công năng phân thanh bí trọc của thận thất điều, mà công năng phân thanh bí trọc của thận lại phụ thuộc vào tác dụng khí hóa của cơ thể. Thận khí hư khuy có thể dẫn đến trở ngại công năng khí hóa của thận, và khi rối loạn công năng tạng phủ tỳ, phế, can, v,v cũng có thể ảnh hưởng đến công năng khí hóa của thận. Khí hóa bất túc, công năng thăng thanh bí trọc bị trở ngại, đồng thời không có khả năng khai thông, vận hóa thủy dịch kịp thời mà hình thành thấp trọc, thấp nhiệt, nịch độc, ứ huyết [28].

Nhậm Kế Học đề xuất rằng gốc bệnh của căn bệnh này là nội thương làm chủ, bị thêm ngoại tà, cơ chế bệnh sinh là bệnh bắt nguồn từ thận, ảnh hưởng đến các cơ quan khác. Trước thiên bẩm phú bạc nhược (tiên thiên kém), thận nguyên hư suy là nguyên nhân gây bệnh trọng yếu, ẩm thực, tình chí không chế tiết (thất điều) đều có khả năng hóa độc [33].

Hà Lập Quần cho rằng nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh của bệnh thận mạn rất phức tạp có đặc điểm tồn tại "hư, thực, ứ, độc", trong đó cơ chế bệnh sinh cơ bản là hư, đồng thời lấy tỳ thận hư làm gốc bệnh, lâu ngày tác động đến nhiều tạng khác, khi bệnh tiến triển lại có thể xuất hiện tình trạng âm dương lưỡng hư của tạng phủ. Chính hư đồng thời thường xen lẫn nhiều tà thực, do hư gây nên thực, có thể thấy được thấp nhiệt, thấp (đàm) trọc, ứ huyết, trọc độc, hư thực thác tạp, tà độc hỗ kết, chính hư không có khả năng thắng tà, tà thực mạnh hơn sẽ làm gia tăng tình trạng chính hư. Trong quá trình phát triển của bệnh, dễ bị ảnh hưởng bởi các yếu tố ngoại cảm, ẩm thực, mệt mỏi, nhiều yếu tố bệnh lý cùng tồn tại, chức năng của nhiều cơ quan bị tổn thương dẫn đến hình thành bệnh nặng dai dẳng khó chữa thậm chí nguy hiểm. Nói chung, lấy tỳ thận hư làm gốc bệnh (bản), thấp trọc giáp ứ làm tiêu [34].

Trương Bội Thanh cho rằng khi bệnh thận mạn phát triển đến giai đoạn suy thận mạn đa số đều có những biến đổi bệnh lý như thấp trọc lâu ngày hóa độc, thấp độc nhập huyết, huyết lạc ứ trở, những thay đổi bệnh lý này bắt nguồn từ chính hư, nó tồn tại và tích tụ, điều này sẽ càng làm trầm trọng thêm sự hao tổn chính khí, khiến giai đoạn bệnh trở nên trầm trọng hơn [28].

Mặc dù cách nói của các y gia không hẳn tương đồng, nhưng có thể nhìn ra các y gia đối với kiến thức về bệnh nguyên bệnh cơ của bệnh này có xu hướng thống nhất, chính là bản hư tiêu thực, chính hư tiêu thực, thận hư là bản, tà độc là tiêu. Nên Hội Trung Y dược Trung Hoa năm 2011 chỉ ra " bệnh này là bản hư tiêu thực, chính hư là bản, tà thực là tiêu, chính hư là cương, tà thực là mục". Phân loại biện chứng lâm sàng lấy chính hư làm chủ, điều trị hay áp dụng phù chính và khứ tà kiêm cố, tiêu bản đồng trị. Hơn nữa đưa ra giữ gìn thận khí và chức năng các tạng khác, điều tiết âm dương bình hành, là nguyên tắc cơ bản của điều trị suy thận mạn xuyên suốt từ đầu đến cuối.

1.2.2.3. Các thể lâm sàng và điều trị

Điều trị BTM theo YHCT bao gồm cả mục tiêu kiểm soát bệnh nền gây suy thận mạn, cải thiện chức năng thận và điều trị các triệu chứng do bệnh thận mạn gây ra. Những phương pháp sử dụng điều trị đặc biệt là điều trị bằng thuốc cần đảm bảo không làm nặng thêm tình trạng tổn thương cấu trúc hay chức năng thận sẵn có. Việc chia ra các bệnh cảnh theo YHCT dựa trên triệu chứng của người bệnh có BTM chỉ mang tính tương đối và việc điều trị có khi chỉ giúp điều chỉnh những rối loạn kèm theo, bệnh cơ hội hay một số biến chứng của bệnh. Theo dõi chức năng lọc của thận định kỳ, đánh giá sự cải thiện các triệu chứng lâm sàng của người bệnh nếu có. Nếu có dấu hiệu thận tổn thương thêm hoặc tổn thương nhanh thì nên ngừng thuốc và đánh giá toàn diện người bệnh.

a. Thể tỳ thận (dương) hư

- Triệu chứng: Cơ thể mệt mỏi yếu sức, khí đoản lười nói, ăn lâu tiêu, trướng bụng, thắt lưng, đầu gối tê mỏi yếu, miệng nhạt không khát, đại tiện không táo bón, tiểu đêm nước tiểu trong dài, nặng thì sợ lạnh, chi lạnh, vùng thắt lưng lạnh đau, lưỡi nhạt rìa có dấn ấn răng, rêu lưỡi trắng, mạch trầm nhược.

- Pháp trị: Bổ khí kiện tỳ ích thận.

- Bài thuốc: hương sa lục quân tử thang gia hoàng kỳ, sâm cau, tiên linh tỳ (dâm dương hoắc), ba kích thiên.

Đảng sâm	16g	Sa nhân	03g
Bạch linh	10g	Mộc hương	03g
Bạch truật	10g	Hoàng kỳ	16g
Cam thảo chích	06g	Sâm cau	08g
Bán hạ chế	04g	Tiên linh tỳ	08g
Trần bì	04g	Ba kích thiên	08g

b. Thể tỳ thận khí âm lưỡng hư

- Triệu chứng: Sắc mặt kém tươi, khí đoản yếu sức, lưng gối mỏi yếu, bì phu khô táo, miệng khô mà không uống nhiều nước hoặc có triệu chứng lòng bàn tay chân nóng hoặc chân tay không ấm, đại tiện rối loạn, tiểu tiện ít sắc vàng, tiểu đêm trong dài, lưỡi nhạt có dấu ấn răng, mạch trầm tế.

- Pháp điều trị: Ích khí dưỡng âm.

- Bài thuốc: lục vị địa hoàng gia hoàng kỳ, thái tử sâm, mạch môn đông, ngũ vị tử, hoàng tinh.

Thục địa	16g	Hoàng kỳ	16g
Hoài sơn	12g	Thái tử sâm	12g
Sơn thù	12g	Mạch môn đông	08g
Mẫu đơn bì	06g	Ngũ vị tử	08g
Bạch linh	08g	Hoàng tinh	08g
Trạch tả	06g		

c. Thể can thận âm hư

- Triệu chứng: Xây xẩm chóng mặt, đau đầu, miệng lưỡi họng khô, khát thích uống nước mát, ngũ tâm phiền nhiệt, lưng gối mỏi yếu, tinh thần mệt mỏi yếu sức, đại tiện phân khô cứng, tiểu lượng ít sắc vàng, lưỡi đỏ nhạt không có rêu, mạch tế sác.

- Pháp điều trị: Tư dưỡng can thận.

- Bài thuốc: lục vị địa hoàng thang hợp nhị chí hoàn.

Thục địa	16g	Bạch linh	08g
Hoài sơn	12g	Trạch tả	06g
Sơn thù	12g	Nữ trinh tử	12g
Mẫu đơn bì	06g	Hạn liên thảo	12g

d. Thể âm dương lưỡng hư

- Triệu chứng: Mệt mỏi yếu sức, sợ lạnh chi lạnh, lòng bàn tay chân nóng, miệng khô muốn uống nước, lưng gối tê mỏi yếu, tiểu tiện ít sắc vàng, đại tiện phân không thành khuôn, lượng ít hoặc phân khô, lưỡi nhạt to mà nhuận, có dấu ấn răng, mạch trầm tế.

- Pháp điều trị: Âm dương song bổ.

- Bài thuốc: quế phụ bát vị hoàn gia tiên mao, tiên linh tỳ, mạch môn đông, thỏ ti tử.

Thục địa	16g	Nhục quế	03g
Hoài sơn	12g	Phụ tử chế	03g
Sơn thù	12g	Sâm cau	08g
Mẫu đơn bì	06g	Tiên linh tỳ	08g
Bạch linh	08g	Mạch môn đông	08g
Trạch tả	06g	Thỏ ty tử	08g

e. Thể đàm thấp trở trệ

- Triệu chứng: Buồn nôn, nôn ói, lâu tiêu, bụng trướng. miệng như có vị nước tiểu, miệng dính muốn uống nước. rêu lưỡi trắng nhớt hoặc trắng bẩn.

- Pháp điều trị: Thăng thanh giáng trọc, hòa vị hóa ứ.

- Bài thuốc: ôn đởm thang gia xương bồ, tàm sa, bội lan.

Bán hạ chế	04g	Bạch linh	08g
Trúc nhự	08g	Xương bồ	04g
Chỉ thực	08g	Tàm sa	04g
Trần bì	06g	Bội lan	06g
Cam thảo	06g		

f. Thể thấp nhiệt trở trệ

- Triệu chứng: Buồn nôn, nôn ói, miệng có vị nước tiểu, nước tiểu nóng lượng ít sắc vàng, miệng đắng khô, miệng dính muốn uống nước, rêu lưỡi vàng nhớt, mạch hoạt sác.

- Pháp điều trị: Thăng thanh giáng trọc, thanh nhiệt hóa thấp.

- Bài thuốc: hoàng liên ôn đởm thang gia lục nguyệt tuyết, hổ trượng, hòe hoa, mẫu lệ.

Hoàng liên	06g	Sinh khương	06g
Trúc nhự	12g	Bạch linh	10g
Chỉ thực	06g	Bạch đinh hương	06g
Bán hạ chế	06g	Hổ trượng	06g
Trần bì	06g	Hòe hoa	08g
Cam thảo	03g	Mẫu lệ	08g

g. Thể thủy thấp đình trệ

- Triệu chứng: Toàn thân phù thũng khá rõ, có thể kèm tràn dịch màng phổi (hung thủy), báng bụng (phúc thủy), bụng trướng đại tiện phân lỏng nát không thành khuôn, tiểu tiện ngắn ít, lưỡi nhạt rêu trắng, mạch trầm trì.

- Pháp điều trị: Hóa khí hành thủy.

- Bài thuốc: ngũ linh tán hợp ngũ bì ẩm

Trư linh	12g	Trần bì	09g
Bạch phục linh	12g	Sinh khương bì	06g
Trạch tả	20g	Tang bạch bì	09g
Bạch truật	12g	Đại phúc bì	09g
Quế chi	08g		

h. Thể khí trệ huyết ứ

- Triệu chứng: Sắc mặt tối, cơ phu móng bong tróc hoặc chân tay mình mẩy tê bì, đau thắt lưng vị trí cố định hoặc đau nhói, chất lưỡi tím tối hoặc có điểm ứ huyết, ban ứ huyết, mạch sáp.

- Pháp điều trị: Hoạt huyết hóa ứ.

- Bài thuốc: huyết phủ trục ứ thang gia hoàng kỳ, đan sâm.

Đương quy	08g	Sài hồ	08g
Sinh địa	08g	Xuyên khung	08g
Đào nhân	04g	Cát cánh	08g
Hồng hoa	04g	Ngưu tất	12g
Cam thảo	06g	Hoàng kỳ	16g
Chỉ xác	08g	Đan sâm	08g
Xích thược	06g		

i. Thể ngoại cảm

- Triệu chứng: Phong nhiệt ngoại cảm, triệu chứng thấy phát nhiệt hơi sợ gió, đau đầu, họng đau, miệng khô mà khát, ho khạc đàm vàng, rêu lưỡi vàng mỏng, mạch phù sác. Phong hàn ngoại cảm, triệu chứng thấy sợ lạnh, phát nhiệt, đau đầu, thân thể khó co duỗi, ho khạc đàm trắng mà ít, không ra mồ hôi, rêu lưỡi trắng mỏng, mạch phù khẩn.

Thể ngoại cảm phong nhiệt

+ Pháp điều trị: Sơ phong thanh nhiệt.

+ Bài thuốc: tang cúc ẩm hoặc ngân kiều tán gia giảm.

Tang diệp	12g	Bạc hà	06g
Cúc hoa	08g	Liên kiều	06g
Cát cánh	08g	Lô căn	08g
Hạnh nhân	06g	Cam thảo	06g

Thể ngoại cảm phong hàn

+ Pháp điều trị: Tân ôn giải biểu

+ Bài thuốc: thông sị thang gia kinh giới, phòng phong, tô diệp, hạnh nhân, xuyên khung, bạch chỉ.

Thông bạch	5 củ	Tô diệp	08g
Đạm đậu xị	12g	Hạnh nhân	06g
Kinh giới	12g	Xuyên khung	12g
Phòng phong	08g	Bạch chỉ	08g

Thể bệnh đàm thấp thường gặp trên lâm sàng ở bệnh nhân bệnh thận mạn. Pháp điều trị thăng thanh giáng trọc, hòa vị được xem là pháp điều trị cơ bản trong việc điều trị thể bệnh này. Tuy nhiên, nếu tình trạng đàm thấp trở trệ không được can thiệp kịp thời, bệnh có thể diễn tiến thành thể thấp nhiệt trở trệ, làm trầm trọng thêm tình trạng bệnh lý. Dựa trên cơ sở này, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu cao khô "thăng thanh giáng trọc" nhằm đánh giá độc tính cấp và hiệu quả của bài thuốc này trên mô hình bệnh thận mạn cắt 5/6 thận chuột [35].

1.2.2.4. Y học cổ truyền nghiên cứu điều trị bệnh thận mạn tính

Yongjun Wang và cộng sự (2012) nghiên cứu 578 bệnh nhân BTM giai đoạn 3 do viêm cầu thận với 3 nhóm can thiệp lần lượt bằng thuốc YHCT, thuốc ức chế men chuyển và nhóm dùng kết hợp thuốc YHCT và Benazepril, thời gian can thiệp kéo dài 24 tuần. Kết quả cho thấy eGFR trong nhóm chỉ sử dụng thuốc YHCT và nhóm kết hợp YHCT với thuốc Benazepril được cải thiện so với ban đầu ($p<0,05$) trong khi eGFR ở nhóm chỉ dùng Benazepril tăng độ suy thận. Protein niệu 24 giờ

và tỷ lệ albumin/creatinine niệu giảm ở nhóm YHCT + Benazepril (p<0,05). Tỷ lệ sống còn tích luỹ trong nhóm YHCT + Benazepril cao hơn so với nhóm chỉ sử dụng thuốc YHCT và nhóm Benazepril (p=0,044). Kết quả trên cho thấy khi kết hợp thuốc ức chế men chuyển với thuốc YHCT làm tăng tác dụng cải thiện chức năng thận và giảm tiểu đạm [36].

Năm 2022, Ma Jin và cộng sự thực hiện nghiên cứu điều trị bệnh nhân suy thận mạn tính thể tỳ thận khí suy và thấp trọc huyết ứ trên lâm sàng bằng viên nang "Shenshuai". Đây là một chế phẩm của y học cổ truyền Trung Quốc được bào chế theo phương pháp bổ tỳ, dưỡng thận, tiêu đục, hoạt huyết hoá ứ có các thành phần gồm thái tử sâm 15g, ngưu tất 10g, trần bì 15g, đại hoàng 5g, đan sâm 10g, bạch truật 10g, bội lan 10g, phục linh 10g, quy bản 10g, bán hạ bắc 10g, sa nhân 5g, bụp mì 1 gói, tử đằng 10g, hoắc hương 10g, kỷ tử 10g, thuỷ điệt 3g, thổ phục linh 20g, hoàng kỳ 20g. Kết quả nghiên cứu cho thấy viên nang có tác dụng rõ rệt trong điều trị suy thận mãn tính thể tỳ thận khí hư thấp trọc huyết ứ, có tác dụng làm giảm creatinine và nitơ máu, tăng độ lọc cầu thận và bảo vệ chức năng thận [37].

Tại bệnh viện YHCT Cam Túc, Trung Quốc, Liu Baohou dựa vào kinh nghiệm lâm sàng nhiều năm của mình và những hiểu biết sâu sắc về bệnh thận, ông đã phát triển chế phẩm điều trị bệnh thận tại bệnh viện, đó là viên nang "Bushen Paidu". Viên nang bổ thận có 12 loại dược liệu gồm nhân sâm, rễ vàng, quế, dương đào, phục linh, bạch truật, đại hoàng, nghệ đen, nghệ tây, xuyên khung, mẫu lệ và thuỷ điệt. "Bushen Paidu" được sử dụng rộng rãi trong điều trị bệnh thận mạn tính ở bệnh viện. Việc kết hợp các loại thuốc có tác dụng bổ tỳ, dưỡng thận và tiêu đục. Qua nhiều năm quan sát lâm sàng, người ta thấy rằng hiệu quả của nó là rất tốt. Sau khi dùng thuốc các chỉ số xét nghiệm của bệnh nhân được cải thiện hiệu quả và tình trạng suy nhược của bệnh nhân được cải thiện rõ rệt [38].

Năm 2022, Li Song và cộng sự nghiên cứu tác dụng của bài thuốc "Yishen Xiezhuo" điều trị bệnh nhân suy thận mạn thể tỳ thận khí hư. Thành phần của bài thuốc gồm phục linh 15g, thương truật 15g, hoàng kỳ 15g, sơn thù 15g, địa hoàng 15g, xuyên khung 15g, đan sâm 15g, tầm gửi 15g, tục đoạn 15g, rau má 30g, đại hoàng 5g, đoạn mộ lệ 30g, mẫu lệ 30g. So với phương pháp điều trị thông thường

của Tây y, phương pháp điều trị cơ bản của Tây y kết hợp với đơn thuốc "Yishen Xiezhuo" điều trị suy thận mãn tính thể tỳ thận khí hư có thể cải thiện tốt hơn các triệu chứng lâm sàng của bệnh nhân như mệt mỏi, yếu eo và đầu gối, phù nề và khó tiêu, cải thiện chức năng thận của bệnh nhân, mức độ protein trong nước tiểu 24 giờ và cải thiện chất lượng cuộc sống của họ [39].

Năm 2022, Liu Ming sử dụng nhóm bổ tỳ ích thận, thường dùng thuốc bổ khí như hoàng cầm, hoài sơn. Sơ can lý khí, điều sướng khí cơ, thường sử dụng thuốc lý khí như trần bì. Thanh lợi thấp nhiệt, thường dùng các thuốc lợi thuỷ thẩm thấp như phục linh, trạch tả. Hoạt huyết hoá ứ, thanh nhiệt giải độc thường dùng các loại thuốc hoạt huyết hoá ứ như ngưu tất, xuyên khung, thuốc thanh nhiệt như mẫu đơn bì, bạch mao căn, bồ công anh. Nhóm thuốc Liu Ming tâm đắc sử dụng trong điều trị bệnh thận mạn bao gồm hoàng cầm, kỷ tử, bạch truật, đỗ trọng, đương quy, thổ phục linh, thỏ ty tử, phục linh, hoài sơn, quảng hoắc hương, bạch mao căn, mẫu lệ, mẫu đơn bì, trần bì, ngưu tất, cam thảo, mạch đông, bồ công anh [40].

Như vậy hiệu quả của y học cổ truyền trong điều trị bệnh thận mãn tính đã được chứng minh qua nhiều nghiên cứu thực nghiệm và lâm sàng, thể hiện tác dụng tốt làm giảm các triệu chứng, cải thiện chức năng thận, ngăn ngừa và điều trị các biến chứng cũng như trì hoãn sự phát triển của suy thận.

1.3. Tổng quan về mô hình gây bệnh thận mạn trên động vật thực nghiệm

1.3.1. Mô hình gây bệnh thận mạn bằng phương pháp phẫu thuật

1.3.1.1. Mô hình cắt 5/6 thận chuột

Mô hình cắt 5/6 thận chuột là một trong những mô hình thử nghiệm rất phổ biến để gây rối loạn chức năng thận ở chuột. Việc thiết lập mô hình này có lịch sử lâu đời, từ năm 1952, Platt và cộng sự đã sử dụng chuột để tiến hành gây bệnh thận mạn bằng cắt 5/6 thận chuột [28]. Sau phẫu thuật, chuột không bị chảy máu hoặc nhiễm trùng vết thương, nhưng cân nặng giảm đáng kể, hoạt động và lượng thức ăn vào cơ thể giảm. Một tuần sau khi lập mô hình, nitơ urê huyết thanh, creatinine và protein niệu 24 giờ tăng dần; 6 tuần sau phẫu thuật, động vật bước vào giai đoạn bù chức năng thận và cơ thể phát triển các rối loạn điện giải và thiếu máu (hồng cầu,

hemoglobin, hematocrit giảm, tai, đuôi nhợt nhạt) và huyết áp tăng rõ rệt; 10 tuần sau phẫu thuật, nitơ ure huyết thanh, creatinin, protein niệu 24h, và huyết áp ở nhóm động vật mô hình đã tăng lên đáng kể và huyết áp có thể đạt tới 13,7kPa và trên 140mmHg. Quan sát mô bệnh học dưới kính hiển vi cho thấy sự giãn nở mao mạch cầu thận, phì đại tế bào nội mô, tăng sản trung mô cầu thận, thoái hóa hyaline cầu thận và thâm nhiễm tế bào lympho đơn nhân ống kẽ thận.

Giáo sư Du Yujun và cộng sự (2022) đã thiết lập mô hình bệnh thận mạn tính ở chuột bằng phương pháp cắt 5/6 thận chuột để nghiên cứu tác dụng của việc bổ sung magie đối với các bất thường khoáng chất và xương trong bệnh thận mãn tính. Kết quả sau phẫu thuật, ranh giới giữa vỏ thận và tủy thận mờ, cầu thận teo và xơ cứng, tế bào trung mô tăng sinh, màng đáy lộ rõ. Thận còn lại to lên bù trừ và được bao bọc bởi mô tăng sinh trên bề mặt, rất khó bóc tách. Ống thận sưng tấy và trụ protein, tế bào biểu mô ống thận bong tróc, hoại tử và teo ống thận, số lượng lớn tế bào viêm xâm nhập vào kẽ thận [41].

Nishijo và cộng sự (2017) nghiên cứu cơ chế giảm tiểu cầu do Linezolid gây ra ở mô hình chuột bị suy thận mạn tính. Chuột đực 5 tuần tuổi được gây suy thận mạn bằng cách cắt 5/6 thận chuột. Trong ca phẫu thuật đầu tiên, 2/3 quả thận trái đã được cắt bỏ bằng cách cắt bỏ cực trên và cực dưới Trong ca phẫu thuật thứ 2, thận phải đã được cắt bỏ hoàn toàn 28 ngày sau cuộc phẫu thuật thứ hai, nồng độ nitơ ure máu được đo lại để đánh giá chức năng thận. Kết quả cho thấy nồng độ nitơ ure máu ở các con chuột bị gây suy thận mạn cao hơn đáng kể so với còn chuột bình thường [42].

Ngoài mô hình cắt thận 5/6, còn có các phương pháp cắt thận 3/4, 4/5, 6/7, 7/8, 7/10 gây bệnh thận mạn.

H Makino và cộng sự (1990) đã thiết lập mô hình bệnh thận mạn ở chuột bằng phương pháp cắt 7/8 thận chuột. Trong mô hình này, 3/4 quả thận trái của chuột bị thắt và cắt bỏ. Một tuần sau thận phải được cắt bỏ. 8 tuần sau phẫu thuật, tiến hành đánh giá các chỉ số xét nghiệm sinh hoá của các con chuột bị cắt thận cho thấy creatinine huyết thanh tăng cao tới 2,8 +/- 0,3 mg/dl và nitơ ure máu 260 +/- 65 mg/dl. Bằng kính hiển vi ánh sáng, có những tổn thương đáng chú ý ở cầu thận và

ống thận ở 7/8 con chuột bị cắt bỏ thận. Hầu hết các cầu thận đều có biểu hiện phì đại, 40% các cầu thận có hình liềm tế bào hoặc tế bào sợi, 34% các cầu thận không chuyển thành xơ cứng toàn bộ hoặc thoái hóa, teo hoặc phì đại ống thận và trụ trong trong lòng và xơ hóa kẽ cũng được ghi nhận. Chỉ quan sát thấy mức độ tăng nhẹ của chất nền gian mô và các tổn thương thoái hóa biểu mô và 3% cầu thận bị xơ cứng ở 3/4 con chuột bị cắt thận. Từ những kết quả này, 7/8 con chuột bị cắt bỏ thận có thể đóng vai trò là mô hình hữu ích để nghiên cứu cơ chế gây ra bệnh xơ cứng cầu thận hoặc chứng hyalinosis và tác dụng của các loại thuốc khác nhau đối với bệnh viêm cầu thận.

Các mô hình cắt thận khác nhau có những đặc điểm khác nhau về thời điểm xảy ra suy thận, thay đổi creatinine trong máu, nitơ urê và hàm lượng protein trong nước tiểu cũng như tổn thương bệnh lý ở mô thận. Nếu cắt thận quá ít, quá trình suy thận diễn ra chậm. Nếu cắt thận quá nhiều có thể gây tử vong cho động vật. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, với mô hình cắt thận 5/6, sau phẫu thuật, các nephron còn lại có những thay đổi về huyết động, có thể gây ra protein niệu có độ lọc cao ở các nephron còn lại, cuối cùng sẽ làm tổn thương cầu thận và gây xơ cứng thận, dẫn đến xơ cứng cầu thận. Đặc điểm chính của mô hình này là phì đại và xơ cứng cầu thận, phù hợp với lý thuyết suy thận do độ lọc cầu thận cao, hiệu quả của mô hình tương đối gần với thực tế lâm sàng, tính ổn định và phạm vi ứng dụng rộng rãi. Việc thiết lập mô hình cắt thận 5/6 tương đối đơn giản, đây là mô hình lý tưởng để nghiên cứu cơ chế phát triển và trì hoãn sự suy giảm chức năng thận. Chính vì vậy, trong phạm vị nghiên cứu của đề tài, chúng tôi sử dụng phương pháp này tiến hành gây mô hình thực nghiệm.

1.3.1.2. Mô hình tắc nghẽn niệu quản một bên (UUO)

Mô hình tắc nghẽn niệu quản một bên (UUO) là mô hình BTM đặc hiệu cho tình trạng xơ hóa ống thận. Mô hình này có thể chứng minh tình trạng xơ hóa thận ở các thí nghiệm trên động vật vì thận bị tắc nghẽn hoàn toàn sẽ phát triển thận ứ nước. Tuy nhiên, mô hình này khác với bệnh lý BTM lâm sàng ở chỗ nó không phản ánh sự suy giảm chức năng thận hoặc tích tụ độc tố niệu. Do đó, bệnh lý ngoài thận do BTM gây ra không thể được làm sáng tỏ hoàn toàn bằng mô hình tắc nghẽn

niệu quản một bên [43]. Gây mô hình UUO tương đối đơn giản. Động vật đực, được khuyến nghị trong mô hình này, gây mê động vật và rạch một đường giữa bụng dưới, niệu quản trái sau đó được thắt lại [44].

1.3.2. Mô hình gây bệnh thận mạn bằng hóa chất

1.3.2.1. Adenine gây bệnh thận mạn trên động vật

Nguyên tắc của mô hình này là adenine tạo thành axit uric thông qua phản ứng enzym trong cơ thể động vật. Khi nồng độ axit uric máu vượt quá 500umol/L, urat sẽ kết tủa và kết tinh, lắng đọng ở ống thận và kẽ thận, tạo thành các dị thường urat. Viêm u hạt làm tắc nghẽn lòng ống thận và gây giãn nang ống thận, cuối cùng dẫn đến mất số lượng lớn nephron gây suy thận. Mô hình này được Yokozawa báo cáo lần đầu tiên vào năm 1986 và hiện đang được sử dụng rộng rãi. Nghiên cứu của Liu Hongyan và cộng sự chỉ ra rằng khi cho chuột uống adenine bằng ống thông trong 12 tuần thì một mô hình chuột CRF có nhiều biến chứng như thiếu máu, tăng huyết áp, rối loạn chuyển hóa lipid, canxi và phốt pho được thiết lập thành công và chức năng thận cho thấy sự tiến triển mạn tính không thể đảo ngược [28].

1.3.2.2. Doxorubicin gây bệnh thận mạn trên động vật

Doxorubicin là một loại kháng sinh anthracycline, nhanh chóng được đào thải khỏi huyết tương và tích tụ chủ yếu ở gan, thận, tim và ruột non. Khoảng 4 - 5% doxorubicin được bài tiết qua nước tiểu trong 5 ngày và 40 -50% qua mật trong 7 ngày. Sự tích tụ của doxorubicin ở thận có thể là nguyên nhân gây độc cho cơ quan này [45].

Năm 2005, Li Xinjian và Liu Xiaochen đã thành công trong việc thiết lập mô hình bệnh thận mạn tính ở chuột bằng cách tiêm doxorubicin. Kết quả cho thấy sự gia tăng protein niệu, triglycerid, cholesterol, giảm albumin huyết thanh và chức năng thận, với bệnh lý thận tiến triển từ thay đổi tối thiểu đến xơ cứng cầu thận, mô hình này tương tự với bệnh thận mạn tính ở người [46].

1.3.2.3. Acid folic gây bệnh thận mạn trên động vật

Mô hình bệnh thận mạn tính do acid folic (FA) mang lại nhiều ưu điểm so với các mô hình khác. FA là vitamin không gây ô nhiễm môi trường, tiêm đơn giản, không xâm lấn và chỉ gây tổn thương thận mà không ảnh hưởng đến các cơ quan khác. Tiêm FA 250 mg/kg trong phúc mạc có thể gây tổn thương thận cấp tính, tiến triển thành CKD nếu không được điều trị [47].

1.3.2.4. Acid aristolochic gây bệnh thận mạn trên động vật

Axit aristolochic (AA) từ cây Aristolochia gây hoại tử ống thận cấp và xơ hóa kẽ, dẫn đến bệnh thận mạn tính. Zhang Jian và cộng sự đã sử dụng AAI để gây tổn thương thận ở chuột và nhận thấy phản ứng khác nhau giữa các chủng chuột. Tiêm AAI 10 mg/kg vào chuột C57BL/6 có thể tạo mô hình bệnh thận cấp tính, tiến triển thành bệnh thận mạn tính theo thời gian [48].

1.4. Tổng quan về cao khô 'thăng thanh giáng trọc'

1.4.1. Xuất xứ cao khô

Cao khô "thăng thanh giáng trọc" được xây dựng dựa trên nền tảng bài thuốc ôn đởm thang gia giảm gồm các vị thổ phục linh, đan sâm, đỗ trọng, hoa hòe, hoàng kỳ, rau má, cốt khí, bán hạ chế, trần bì, trúc nhự, chỉ xác, tằm xa, đại hoàng, ngưu tất.

Công dụng: Thăng thanh giáng trọc, hòa vị hóa ứ.

Chỉ định: Điều trị bệnh nhân bệnh thận mạn tính có các triệu chứng mệt mỏi, ăn kém, nôn, ỉa chảy, mụn nhọt, ngứa ngoài da, da niêm mạc nhợt, xuất huyết dưới da, phù, tăng huyết áp, viêm ngoại tâm mạc, viêm thần kinh ngoại vi, ure, creatinin tăng, các bệnh lý về dạ dày.

Chống chỉ định: Không dùng cho người mẫn cảm với bất kỳ thành phần nào của chế phẩm.

1.4.2. Phân tích bài thuốc theo quân thần tá sứ

Bài thuốc được xây dựng gồm 14 vị thuốc thổ phục linh, đan sâm, đỗ trọng, hoa hòe, hoàng kỳ, rau má, cốt khí, bán hạ chế, trần bì, trúc nhự, chỉ xác, tằm sa, đại hoàng, ngưu tất.

Trong bài thuốc, bán hạ chế được sử dụng làm quân, với vị cay và tính ôn, quy kinh tỳ, vị và phế. Tác dụng của bán hạ là táo thấp, kiện tỳ, tiêu đàm và điều hòa vị khí, giáng nghịch chỉ nôn. Đối với các chứng tỳ thấp, đàm thịnh, ho suyễn hoặc vị khí mất điều hòa dẫn đến nôn mửa, bán hạ luôn đóng vai trò quan trọng. Theo quy luật ngũ hành, tỳ thổ sinh phế kim, nên khi thấp đàm ứ trệ ở tỳ, sớm muộn cũng ảnh hưởng đến phế. Vì vậy, bán hạ vào cả tỳ, vị và phế để táo thấp, kiện tỳ, tiêu đàm, ngăn ngừa tình trạng đàm thấp tác động xấu đến phế. Hoàng kỳ được dùng làm thần, vị ngọt tính ôn, vừa bổ khí vừa lợi niệu, giúp khí hóa bàng quang.

Trần bì làm thần, vị cay đắng tính ôn, tác dụng hành khí hóa ứ, kiện tỳ, táo thấp hóa đàm cùng với hoàng kỳ, một bổ khí, một hành khí, giúp cho bổ khí mà không trệ, giúp làm tăng tác dụng khí hóa bàng quang. Trần bì bổ sung cho bán hạ mà táo thấp được cả ở phế và tỳ, do đó mà chỉ được nôn mửa, hòa trung tiêu. Đỗ trọng, đan sâm, hoa hòe, thổ phục linh, chỉ xác, tằm sa, rau má, cốt khí, đại hoàng, trúc nhự là tá dược. Đỗ trọng vị ngọt tính ôn, quy kinh can thận, tác dụng bổ can thận, cường gân cốt, hạ áp, lợi tiểu. Đan sâm vị đắng tính hàn, quy kinh tâm, can có tác dụng hoạt huyết khứ ứ, giảm đau, thông kinh, thanh tâm trừ phiền. Hoa hòe vị đắng tính hàn, vào các kinh can, đại trường, tác dụng lương huyết, chỉ huyết, thanh can tả hỏa. Thổ phục linh vị ngọt đạm, tính bình, vào kinh can, vị, tác dụng kiện tỳ thẩm thấp lợi niệu. Chỉ xác vị đắng cay, tính lương, có tác dụng lý khí khoan trung, hành khí tiêu trướng kiện vị tiêu thực. Tằm sa vị ngọt cay, tính ôn, tác dụng khu phong trừ thấp, hòa vị hóa trọc, hoạt huyết. Rau má tác dụng lợi tiểu, giải độc, thanh nhiệt. Cốt khí vị đắng, tính hàn, tác dụng trừ thấp nhiệt. Đại hoàng tác dụng tả hạ công tích, thanh nhiệt tả hỏa, lương huyết. Trúc nhự vị ngọt, tính hàn, vào kinh phế, vị, can với tác dụng thanh nhiệt hóa đàm, trừ phiền chỉ ẩu. Cuối cùng vị sứ dược là ngưu tất. Ngưu tất vị đắng, chua tính bình, quy kinh can thận, có tác dụng hoạt huyết khứ ứ, bổ can thận dưỡng gân cốt, lợi niệu thông lâm, làm sứ dược dẫn huyết và hỏa xuống phần dưới cơ thể, làm giãm mạch hạ áp, lợi tiểu, làm hạ đường huyết, cải thiện chức năng gan, hạ cholesterol máu.

Tất cả các vị thuốc phối ngũ có tác dụng thăng thanh giáng trọc, hòa vị hoá ứ, cùng làm tăng tác dụng điều trị bệnh thận mạn của cao khô "thăng thanh giáng trọc" một cách chỉnh thể, phù hợp với nguyên nhân cơ chế bệnh sinh của bệnh thận mạn theo lý luận của y học cổ truyền.

1.4.3. Các nghiên cứu đã tiến hành đối với bài thuốc "thăng thanh giáng trọc thang"

Lê Thị Thanh Nhạn, Vũ Hoàng Long (2011) nghiên cứu tác dụng điều trị bệnh nhân suy thận mạn của bài thuốc "thăng thanh giáng trọc thang". Kết quả cho thấy:

Độc tính bán trường diễn trên thỏ theo đường uống dạng nước sắc, liều 10g/kg không ảnh hưởng tới các chỉ tiêu huyết học, chức năng gan thận của 8/10 thỏ sau 8 tuần

uống thuốc. Nhưng gây tổn thương ở mức độ nhẹ tế bào tim, gan, thận (xảy ra ở cả nhóm chứng và nhóm nghiên cứu).

Bệnh nhân uống bài thuốc "thăng thanh giáng trọc thang" được theo dõi các chỉ tiêu lâm sàng, cận lâm sàng và so sánh trước và sau điều trị cho thấy số bệnh nhân giảm chỉ số ure, creatinin và tăng mức lọc cầu thận với $P < 0,05$ [5].

1.5. Thuốc đối chứng trong mô hình nghiên cứu

Enalapril là một thuốc ức chế men chuyển angiotensin (ACE) có tác dụng mạnh mẽ trong việc điều chỉnh huyết áp và bảo vệ chức năng thận.

Enalapril sau khi được chuyển hóa thành dạng hoạt động là enalaprilat, thuốc này ức chế enzym ACE, ngăn cản quá trình chuyển đổi angiotensin I thành angiotensin II – một chất co mạch rất mạnh, góp phần quan trọng vào việc tăng huyết áp. Khi nồng độ angiotensin II giảm, mạch máu giãn ra, dẫn đến giảm huyết áp. Ngoài ra, sự giảm nồng độ angiotensin II cũng làm giảm tiết aldosteron – một hormone giữ natri và nước, giúp giảm tái hấp thu natri và nước tại thận. Điều này làm giảm thể tích máu, giảm áp lực tuần hoàn và hỗ trợ hạ huyết áp. Enalapril còn kích thích sự tăng hoạt tính của renin do cơ chế phản hồi âm tính bị suy yếu, tuy nhiên, do renin không thể tạo ra angiotensin II khi ACE bị ức chế, quá trình giảm huyết áp tiếp tục được duy trì.

Enalapril không chỉ giảm áp lực mạch máu mà còn tác động trực tiếp lên chức năng thận. Một trong những tác dụng quan trọng của thuốc là giảm co thắt tiểu động mạch đi trong cầu thận, từ đó làm giảm áp lực bên trong cầu thận và giúp bảo vệ chức năng thận, đặc biệt ở bệnh nhân mắc BTM. Thuốc còn có tác dụng lợi tiểu nhẹ nhờ làm giảm tái hấp thu natri và nước tại thận, giúp thải bớt lượng dịch thừa qua nước tiểu và giảm gánh nặng cho thận trong việc điều hòa thể tích dịch cơ thể. Đặc biệt, enalapril có hiệu quả ở cả những bệnh nhân có mức renin cao và thấp, nhờ cơ chế giãn mạch liên quan đến giảm angiotensin II. Thuốc không chỉ giúp giảm huyết áp mà còn bảo vệ tim mạch và thận, hỗ trợ tốt cho bệnh nhân tăng huyết áp và bệnh thận mạn [49].

Với cả hai tác dụng quan trọng này, enalapril không chỉ là thuốc điều trị tăng huyết áp hiệu quả mà còn có vai trò bảo vệ thận, đặc biệt ở những bệnh nhân

có nguy cơ tổn thương thận do bệnh mạn tính như giài đoạn đầu bệnh thận mạn, đái tháo đường hoặc tăng huyết áp lâu dài. Đây cũng là lý do nhóm nghiên cứu chúng tôi chọn Enalapril làm thuốc đối chứng trên mô hình thực nghiệm trong nghiên cứu này.

Chương 2
CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1.Chất liệu nghiên cứu

2.1.1. Công thức cao khô "thăng thanh giáng trọc"

Bảng 2.1 Thành phần bài thuốc "thăng thanh giáng trọc"

STT	Tên vị thuốc	Tên khoa học [50], [51]	Hàm lượng (g)
1	Thổ phục linh	*Rhizoma Smilacis glabrae*	10g
2	Đan sâm	*Radix et Rhizoma Salviae miltiorrhizae*	10g
3	Đỗ trọng	*Cortex Eucommiae*	10g
4	Hoa hoè	*Flos Styphnolobii japonici imaturi*	10g
5	Hoàng kỳ	*Radix Astragali membranacei*	10g
6	Rau má	*Herba Centellae asiaticae*	10g
7	Cốt khí	*Radix Polygoni cuspidati*	10g
8	Bán hạ (chế)	*Rhizoma Pinelliae*	5g
9	Trần bì	*Pericarpium Citri reticulatae perenne*	5g
10	Trúc nhự	*Caulis Bambusae in Taeniis*	5g
11	Chỉ xác	*Fructus Aurantii*	5g
12	Tầm sa	*Faeces Bombycum*	5g
13	Đại hoàng	*Rhizoma Rhei*	5g
14	Ngưu tất	*Radix Achyranthis bidentatae*	5g
Tổng			105 g

Chất liệu nghiên cứu là cao khô "thăng thanh giáng trọc" do Viện nghiên cứu Y Dược Bách Thảo Dược sản xuất từ bài thuốc "thăng thanh giáng trọc". Các dược liệu trong bài thuốc đều đạt tiêu chuẩn trong Dược điển Việt Nam V và tiêu chuẩn cơ sở. Thành phần bài thuốc "thăng thanh giáng trọc" được trình bày ở bảng 2.1.

Tỷ lệ bào chế cao khô "thăng thanh giáng trọc" là 10:1, tức từ 10g dược liệu khô bào chế ra 1g cao khô. Bài thuốc "thăng thanh giáng trọc" có tổng 105g dược liệu khô, bào chế ra 10,5g cao khô.

Quy cách đóng gói: 10kg trong 2 lần túi PE (thêm túi nhôm hàn kín).

Liều dùng trên lâm sàng: 2 ngày/thang.

Số lô sản xuất: 01.

Hạn dùng của thuốc: 6 tháng kể từ ngày sản xuất.

Tiêu chuẩn chất lượng: Tiêu chuẩn cơ sở và tiêu chuẩn dược điển Việt Nam V.

Điều kiện bảo quản của thuốc: Trong bao bì kín, nơi khô, nhiệt độ dưới 30℃.

2.1.2. Quy ước tính liều cho động vật nghiên cứu

Theo kinh nghiệm sử dụng lâm sàng, bài thuốc được sử dụng cho bệnh nhân trong 2 ngày. Với liều cao khô tương ứng 10,5g bào chế từ bài thuốc, liều cao khô sử dụng trên người được dự kiến là 5,25g/người/ngày hay 0,105g/kg/ngày. Quy đổi ra liều dự kiến có tác dụng ở chuột nhắt trắng (hệ số 12) là 0,105 x 12 = 1,26 g/kg/ngày; liều dự kiến có tác dụng ở chuột cống trắng (hệ số 7) là 0,105 x 7 = 0,735 g/kg/24h [52]. Cao khô "thăng thanh giáng trọc" được cho phân tán đều trong nước cất thành hỗn dịch và được cho chuột uống cưỡng bức qua kim cong đầu tù chuyên dụng.

2.2. Động vật nghiên cứu

2.2.1. Độc tính cấp

Nghiên cứu độc tính cấp được tiến hành trên chuột nhắt trắng chủng *Swiss*, cả hai giống, khoẻ mạnh, trọng lượng 18 - 22g, được nuôi trong điều kiện nuôi động vật thí nghiệm 7 ngày trước khi tiến hành nghiên cứu.

Các chuột thí nghiệm được cung cấp bởi Ban động vật – Học viện Quân y. Các chuột khoẻ mạnh được đánh giá gồm lông mượt, mắt trong, hậu môn khô, hoạt động, vận động bình thường, ăn uống bình thường, chất thải bình thường.

Động vật được nuôi dưỡng trong điều kiện chuẩn về thời gian sáng tối (12 giờ sáng/12 giờ tối), nhiệt độ 25 ± 2^{o}C, thức ăn dành riêng cho động vật nghiên cứu, nước sạch đun sôi để nguội uống tự do. Động vật được nuôi dưỡng ổn định trong phòng nuôi động vật thí nghiệm ít nhất 1 tuần trước khi tiến hành nghiên cứu.

2.2.2. Tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc"

Nghiên cứu tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" được tiến hành trên chuột cống trắng chủng *Wistar*, giống đực, trưởng thành, khoẻ mạnh, trọng lượng từ 200 – 250g.

Các chuột thí nghiệm được cung cấp bởi Ban động vật - Học viện Quân y. Các chuột khoẻ mạnh được đánh giá gồm lông mượt, mắt trong, hậu môn khô, hoạt động, vận động bình thường, ăn uống bình thường, chất thải bình thường.

Động vật được nuôi dưỡng trong điều kiện chuẩn về thời gian sáng tối (12 giờ sáng/12 giờ tối), nhiệt độ 25 ± 2^{o}C, thức ăn dành riêng cho động vật nghiên cứu, nước sạch đun sôi để nguội uống tự do. Động vật được nuôi dưỡng ổn định trong phòng nuôi động vật thí nghiệm ít nhất 1 tuần trước khi tiến hành nghiên cứu.

2.3. Phương tiện máy móc, hoá chất nghiên cứu và kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

2.3.1. Thuốc và hoá chất dùng trong nghiên cứu

- Natri pentobarbital: Thuốc để gây mê chuột.
- Các hóa chất xét nghiệm sinh hóa của hãng MEDIA, sản xuất tại Italia.
- Hóa chất xét nghiệm huyết học của hãng Human, Đức.
- Nước muối sinh lý 0,9%.
- Heparin Injection BP 5000IU/ml (Sintez Joint Stock Company, Nga): Thuốc chống đông máu để bảo quản máu xét nghiệm.

2.3.2. Máy móc và dụng cụ phục vụ nghiên cứu

- Máy xét nghiệm sinh hoá Biochemical Systems International Srl, Italia, model 3000 Evolution.
- Máy phân tích huyết học Humancout 30TS, hãng Human, Đức, sử dụng phần mềm phân tích huyết học dành cho chuột thí nghiệm.
- Máy ly tâm lạnh Universal 320 (Hettich - Đức).
- Cân phân tích 10^{-4}, model CP224S (Sartorius - Đức).
- Cân điện tử 2200g độ chính xác 0,01g (HL-Nhật Bản).
- Hệ thống Powerlab (ADInstruments – Australia) với phần mềm LabChart v8.0.0.và các thiết bị ngoại vi dùng đo huyết áp chuột bằng phương pháp quấn đuôi (bao áp lực và đầu đo huyết áp; bộ khuếch đại ML 125 NIBP).

- Tủ sưởi được kiểm soát nhiệt độ để làm ấm động vật (Ugo Basille, Ý).

- Kim cong đầu tù chuyên dụng dùng cho chuột uống thuốc (Nhật Bản), loại thích hợp dùng cho chuột cống (16 gauge feeding tubes, dài 7,62 cm), và loại thích hợp dùng cho chuột nhắt (20 gauge feeding tubes, dài 3,81 cm).

- Ống mao quản thủy tinh dùng để lấy máu chuột ((Brand™ Micro-haematocrit Capillary Tubes, đường kính trong 1.15 ± 0.05 mm, đường kính ngoài khoảng 1,5 mm).

- Bộ dụng cụ mổ động vật cỡ nhỏ.

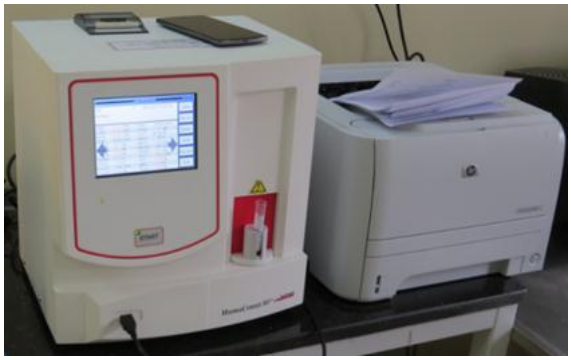
- Các thiết bị làm tiêu bản mô bệnh học.

- Một số thiết bị và dụng cụ nghiên cứu khác.

Hình 2.1. Máy xét nghiệm sinh hoá

Hình 2.2. Cân điện tử

Hình 2.3. Kim cong đầu tù



Hình 2.4. Máy xét nghiệm huyết học

2.3.3. Kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

2.3.3.1. Phương pháp đo huyết áp, nhịp tim chuột

Chuột được sưởi ấm trong tủ sưởi (Ugo Basille, Ý) để phát hiện tốt hơn xung động mạch đuôi. Cảm biến vòng bít ở đuôi được kết nối với bộ khuếch đại ML 125 NIBP.

Đo huyết áp đuôi chuột bằng kỹ thuật quấn đuôi (the tail-cuff technique), sử dụng hệ thống đo huyết áp đuôi chuột không xâm lấn của hãng ADInstrument (New Zealand)

Hình 2.5. Đo huyết áp đuôi chuột bằng hệ thống Powerlab cùng các thiết bị ngoại vi

Tiến hành đo huyết áp tâm thu, huyết áp tâm trương ở cả các lô bằng hệ thống đo huyết áp đuôi chuột không xâm lấn. Chuột bị hạn chế vận động trong dụng cụ giam giữ trong vòng 10 - 20 phút/ngày trong 5 ngày trước khi ghi huyết áp để làm quen với điều kiện ghi huyết áp. Ghi huyết áp chuột ở sát gốc đuôi chuột bằng kỹ thuật quấn đuôi (the tail-cuff technique). Các chuột được sưởi ấm 30 phút ở 28^0C trong tủ sưởi được kiểm soát nhiệt độ (Ugo Basille, Ý) để phát hiện tốt hơn xung động mạch đuôi, nơi mà đuôi được đưa qua vòng bít và cảm biến vòng bít ở đuôi được kết nối với bộ khuếch đại (ML 125 NIBP, AD Instruments, Australia). Đặt bao áp lực và đầu đo huyết áp vào gốc đuôi chuột, đầu đo huyết áp cách bao áp lực 2 cm và đúng vị trí của động mạch đuôi chuột. Để giảm thiểu sự thay đổi huyết áp do căng thẳng gây ra, tất cả các phép đo được thực hiện bởi cùng một người trong cùng một môi trường yên tĩnh tại cùng một thời điểm trong ngày. Tiến hành ghi và phân tích kết quả huyết áp bằng hệ thống thu thập, xử lý dữ liệu Powerlab, phần mềm Labchart Pro. Dựa trên kết quả ghi lại diễn biến nhịp mạch và biến đổi huyết áp trên khoảng đo, tiến hành phân tích để xác định huyết áp đuôi chuột. Huyết áp xác định trong khoảng thời gian bơm, xả hơi tại vòng bít đuôi chuột. Giá trị huyết áp được hiển thị tự động trên đồ thị ghi diễn biến mạch nhịp và huyết áp theo thời gian. Huyết áp

tối đa được xác định là huyết áp đo được tại thời điểm bắt đầu mất nhịp mạch và huyết áp tối thiểu được xác định tại thời điểm bắt đầu có mạch nhịp trở lại [53].

Huyết áp trung bình của chuột theo công thức [54]:

HA trung bình = HA tâm trương + 0,412 (HA tâm thu - HA tâm trương).

2.3.3.2. Cách lấy nước tiểu đánh giá

Thể tích nước tiểu được đánh giá tại các thời điểm To (ngay trước uống thuốc) và Tc (sau uống thuốc ngày cuối) vào thời điểm 7h30 sáng. Vào ngày đánh giá, mỗi chuột được nhốt vào một chuồng riêng có khay hứng và thu nước tiểu vào một cốc.

2.3.3.3. Kỹ thuật cho chuột uống cưỡng bức

- Mẫu thử được lấy sẵn vào bơm tiêm cho uống thuốc (gồm xilanh có gắn kim đầu tù chuyên dụng của Nhật Bản, loại thích hợp dùng cho chuột nhắt hoặc dùng cho chuột cống tuỳ theo động vật cho uống).

- Bắt chuột ra khỏi chuồng bằng cách dùng tay phải nắm đuôi chuột, nhẹ nhàng để chuột lên vỉ lưới, kéo nhẹ chuột về phía sau để chuột bám vào vỉ lưới. Ngón trỏ và ngón cái bàn tay trái đưa lên tóm da gáy sát phía đầu chuột, bàn tay ôm nhẹ thân chuột, kẹp đuôi chuột vào giữa các ngón tay còn lại để cố định chuột.

- Tay phải cầm bơm tiêm cho uống thuốc nhẹ nhàng đưa qua miệng vào thẳng dạ dày chuột (kim uống thuốc vào sâu khoảng 2/3 kim). Nhẹ nhàng bơm mẫu thử vào thẳng dạ dày chuột theo liều đã xác định.

2.3.3.4. Kỹ thuật lấy mẫu máu

- Bắt chuột ra khỏi chuồng bằng cách dùng tay phải nắm đuôi chuột, nhẹ nhàng để chuột lên vỉ lưới, kéo nhẹ chuột về phía sau để chuột bám vào vỉ lưới. Ngón trỏ và ngón cái bàn tay trái đưa lên tóm da gáy sát phía đầu chuột, bàn tay ôm nhẹ thân chuột, kẹp đuôi chuột vào giữa các ngón tay còn lại để cố định chuột.

- Chuột được gây mê ngắn bằng Ketamin 90 mg/ml/kg tiêm phúc mạc.

- Ngón giữa tay phải đẩy nhẹ để làm căng da vùng quanh mắt. Ngón trỏ và ngón cái bàn tay phải cầm ống mao quản thủy tinh đâm qua da ngay phía dưới mắt vào vị trí đám rối mạch phía dưới mắt (chếch góc 30 độ so với mũi).

- Đẩy nhẹ ngón tay cái đủ để đâm thủng tổ chức mô và đi vào vị trí đám rối mạch phía dưới mắt. Giữ cố định chuột và ống lấy máu, máu sẽ chảy qua ống mao dẫn thủy tinh vào ống lấy máu.

- Sau khi lấy đủ lượng máu cần thiết, ống mao dẫn nhanh chóng được rút ra, ấn giữ nhẹ vùng lấy máu để cầm máu, sát khuẩn nhẹ vùng lấy máu bằng bông cồn vô khuẩn.

2.4. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian: từ tháng 04/2024 đến tháng 10/2024.

- Địa điểm:

Bộ môn Dược lý, Viện Đào tạo Dược, Học viện quân y.

Khoa giải phẫu bệnh và pháp y, Bệnh viện Quân y 103.

2.5. Phương pháp nghiên cứu

2.5.1. Phương pháp nghiên cứu độc tính cấp của cao khô "thăng thanh giáng trọc"

Xác định LD_{50} của cao khô "thăng thanh giáng trọc" trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo phương pháp Litchfield-Wilcoxon và theo hướng dẫn của Bộ y tế và hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO).

2.5.1.1. Thăm dò liều ban đầu

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss* 03 con, cân nặng 20,0 ± 2,0g. Cao khô "thăng thanh giáng trọc" được cho chuột uống ở các mức liều 3,0g/kg; 6,0g/kg; 12,0g/kg ở cùng thể tích 0,2mL/10g/lần x 3 lần. Chuột được nhịn ăn 12 giờ trước khi uống thuốc, vẫn uống nước đầy đủ. Đánh giá tình trạng chuột trong thời gian 72h và trong thời gian 7 ngày sau khi uống mẫu thử, từ đó chọn ra các liều thử nghiệm chính thức.

2.5.1.2. Thử nghiệm chính thức

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss* được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con, được uống cao khô "thăng thanh giáng trọc" với thể tích 0.2ml/10g thể trọng/lần nhưng với các liều tăng dần, tối đa 3 lần/24 giờ, mỗi lần uống cách nhau ít nhất 3 giờ. Thông thường chuột được uống thuốc vào các khung giờ 8 giờ, 11 giờ và 14 giờ trong ngày. Chuột được nhịn ăn 12 giờ trước khi uống thuốc, vẫn uống nước đầy đủ. Đánh giá tình trạng chuột trong thời gian 72h và trong thời gian 7 ngày sau khi uống mẫu thử.

2.5.2. Phương pháp nghiên cứu tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc"

2.5.2.1. Phương pháp gây mô hình bệnh thận mạn trên chuột

Tiến hành gây mô hình bệnh thận mạn tính trên chuột cống trắng theo phương pháp mô tả bởi Lu, J. R và cộng sự (2014), có sửa đổi [55].

Chuột được tiến hành phẫu thuật trong điều kiện vô trùng. Quá trình phẫu thuật được tiến hành thành 2 giai đoạn:

Giai đoạn 1: Cắt bỏ 2/3 thận trái.

Chuột được gây mê bằng natri pentobarbital liều 50 mg/kg trọng lượng cơ thể tiêm phúc mạc. Sau gây mê, đặt chuột nằm nghiêng trên bàn mổ có lót một miếng đệm ấm. Cạo sạch lông và sát trùng vùng mổ bằng dung dịch betadine 10%. Tiếp đó, rạch da theo đường chéo song song với xương sườn dưới cùng bên trái. Bóc tách cân cơ, tổ chức liên kết, bộc lộ thận trái ra khỏi bao xơ thận, sử dụng nỉa và tăm bông ướt. Quá trình bóc tách và bộc lộ được tiến hành cẩn thận, tránh chạm vào tuyến thượng thận. Tách riêng và đặt xuống dưới động mạch thận một sợi chỉ chờ 4,0 bằng dụng cụ tự tạo. Đặt nòng kim luồn (400 µm) song song và áp sát động mạch thận. Thắt tạm thời động mạch thận và nòng kim luồn bằng sợi chỉ chờ đã đặt sẵn. Sau khi động mạch thận tạm thời bị tắc nghẽn, dùng dao điện lần lượt cắt bỏ 1/3 cực trên và 1/3 cực dưới của thận trái. Từ từ nới nút thắt động mạch thận kết hợp với kiểm soát chảy máu bằng dùng miếng bọt biển gelatin nén lên bề mặt vết cắt. Vùng mổ được rửa sạch bằng nước muối sinh lý, nhẹ nhàng thấm khô bằng gạc vô khuẩn. Tiếp đó, nhẹ nhàng đưa thận vào ổ bụng và khâu tổ chức liên kết, cân cơ thành bụng, lưng theo lớp; khâu da và sát trùng tại chỗ bằng dung dịch betadine 10%. Sau phẫu thuật, chuột được đưa vào chuồng ủ ấm và theo dõi sau mổ đến khi động vật tỉnh táo trở lại.

Giai đoạn 2: Cắt bỏ toàn bộ thận phải

Sau mổ cắt bỏ 2/3 thận trái được 15 ngày, lúc này chuột đã hoàn toàn hồi phục, tiến hành phẫu thuật cắt bỏ toàn bộ thận phải. Tiến hành gây mê chuột, sát trùng, rạch da theo đường chéo song song với xương sườn dưới cùng bên phải và bộc lộ thận phải ra khỏi bao xơ thận tương tự như quá trình phẫu thuật ở giai đoạn 1. Sau đó, bộc lộ và luồn sợi chỉ 4,0 qua cuống thận bằng dụng cụ tự tạo. Tiến hành

thắt chặt cuống thận bao gồm cả động mạch, tĩnh mạch thận và niệu quản. Cuối cùng thận phải được cắt bỏ bằng phương pháp cắt ngang các mạch máu và niệu quản ngay sát thận, xa chỗ thắt chỉ. Khâu tổ chức liên kết, cân cơ thành bụng, lưng theo lớp; khâu da và sát trùng tại chỗ bằng dung dịch betadine 10%. Sau phẫu thuật, chuột được đưa vào chuồng ủ ấm và theo dõi sau mổ đến khi động vật tỉnh táo trở lại. Sau mổ 7 ngày, chuột có thể đưa trở lại nuôi chung với các chuột khác trong nhóm.

Các chuột chứng phẫu thuật được tiến hành các bước phẫu thuật giai đoạn 1 và giai đoạn 2 tương tự như phẫu thuật gây mô hình, tuy nhiên quá trình phẫu thuật dừng lại ở bước bóc tách cân cơ, tổ chức liên kết để bộc lộ thận, không bộc lộ thận ra khỏi bao xơ thận cũng như không tác động gây tổn thương nhu mô thận. Sau đó, khâu tổ chức liên kết, cân cơ thành bụng, lưng theo lớp; khâu da và sát trùng tại chỗ bằng dung dịch betadine 10%. Như một phản ứng thích nghi với việc cắt bỏ thận, phần thận còn lại sẽ phì đại, tăng lọc cầu thận, tiến triển thành protein niệu, tăng ure, creatinin máu, tăng huyết áp, xơ hóa thận với xơ cứng cầu thận và sẹo ống kẽ thận theo thời gian.

Tiêu chuẩn để xác định chuột đã gây bệnh thận mạn thành công của mô hình được đánh giá tại thời điểm 15 ngày sau phẫu thuật giai đoạn 2 gồm: Chuột sống, vết mổ khô liền sẹo tốt và có một trong các biểu hiện của suy chức năng thận là ure máu, creatinin máu, protein niệu 24h tăng trên hoặc bằng 1,5 lần so với trước phẫu thuật.

2.5.2.2. Phương pháp nghiên cứu tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" trên mô hình bệnh thận mạn ở chuột.

Chuột chứng phẫu thuật gồm 10 con được cho vào lô chứng PT. Các chuột gây mô hình bệnh thận mạn thành công được chia ngẫu nhiên vào 4 lô, mỗi lô 10 con. Như vậy nghiên cứu gồm 5 lô chuột, mỗi lô 10 con.

Lô 1 (chứng PT): PT không cắt thận + uống nước cất.

Lô 2 (mô hình): PT cắt 5/6 thận + uống nước cất.

Lô 3 (tham chiếu): PT cắt 5/6 thận + uống enalapril liều 10mg/kg/ngày.

Lô 4 (TTGT-1): PT cắt 5/6 thận + uống TTGT liều 0,735 g/kg/24h.

Lô 5 (TTGT-2): PT cắt 5/6 thận + uống TTGT liều 1,47 g/kg/24h.

Các lô chuột được cho uống mẫu thử, thuốc tham chiếu hoặc nước cất theo phân lô trong 60 ngày để đánh giá tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc".

2.6. Chỉ tiêu quan sát

2.6.1. Chỉ tiêu quan sát độc tính cấp của cao khô "thăng thanh giáng trọc"

Thông qua các triệu chứng bất thường xảy ra ngay sau khi uống thuốc trong vòng 72 giờ:

- Tình trạng chung của chuột: Hoạt động, vận động, thần kinh thực vật, tình trạng hô hấp, ăn uống, chất thải.

- Quá trình diễn biến bắt đầu và có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết…).

- Khả năng, thời gian hồi phục và số lượng chuột chết.

Quan sát các biểu hiện nhiễm độc muộn và khả năng hồi phục các biểu hiện nhiễm độc: Tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống cao khô "thăng thanh giáng trọc". Các chỉ tiêu theo dõi tương tự như theo dõi trong 72 giờ đầu.

2.6.2. Chỉ tiêu quan sát tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc"

Tình trạng chung của chuột: Biểu hiện lông, hoạt động, ăn uống và các dấu hiệu bất thường được theo dõi hàng ngày.

Cân nặng của chuột.

Tỷ lệ chuột sống/chết.

Chỉ số huyết áp chuột.

Chỉ số công thức máu: Số lượng hồng cầu, huyết sắc tố, hematocrit.

Chỉ số sinh hoá máu: Ure, creatinine huyết thanh.

Chỉ số xét nghiệm nước tiểu: Số lượng nước tiểu 24h, protein niệu.

Chỉ tiêu cân nặng thận chuột, mô bệnh học thận chuột.

2.7. Chỉ tiêu đánh giá kết quả

2.7.1. Chỉ tiêu đánh giá kết quả độc tính cấp của cao khô "thăng thanh giáng trọc"

Tất cả chuột chết (nếu có) được mổ để đánh giá tổn thương đại thể và xác định nguyên nhân gây độc. Tìm liều cao nhất không gây chết chuột, liều thấp nhất gây chết 100% số chuột và các liều trung gian, số chuột chết ở các liều trung gian (nếu có). Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính (sử dụng giấy probit hoặc phần mềm excel) để xác định LD_{50} của mẫu thử.

Nếu không có chuột chết, xác định liều dung nạp tối đa của chuột.

2.7.2. Chỉ tiêu đánh giá tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc"

- Cân nặng của chuột được đánh giá ngay sau phẫu thuật giai đoạn hai, 15 ngày sau phẫu thuật giai đoạn hai, sau uống thuốc 60 ngày. Tiến hành cân chuột bằng cân chính xác 10^{-2}g.

- Các xét nghiệm đánh giá chức năng thận: Ure máu, creatinine máu, protein niệu 24h bằng máy xét nghiệm sinh hóa Biochemical Systems International Srl, số lượng (thể tích) nước tiểu 24h được đo bằng Buret 25ml được lượng giá tới 0,01ml. Đánh giá ở 3 thời điểm trước phẫu thuật, 15 ngày sau phẫu thuật lần 2, sau uống thuốc 60 ngày.

- Huyết áp tối đa, huyết áp tối thiểu, sử dụng Hệ thống Powerlab (ADInstruments – Australia) với hệ thống đo huyết áp đuôi chuột không xâm lấn của hãng ADInstrument (New Zealand) và phần mềm LabChart v8.0.0. Đánh giá ở 3 thời điểm: trước phẫu thuật, 15 ngày sau phẫu thuật lần 2, sau uống thuốc 60 ngày.

- Số lượng hồng cầu, huyết sắc tố, hematocrit, được đo bằng máy xét nghiệm huyết học Humancout 30TS, hãng Human, Đức, sử dụng phần mềm phân tích huyết học dành cho chuột thí nghiệm. Đánh giá ở thời điểm sau uống thuốc 60 ngày.

- Chỉ tiêu cân nặng thận, mô bệnh học thận. Sau 60 ngày dùng thuốc và nước cất, tất cả các chuột được mổ lấy thận, đánh giá cân nặng của thận. Tiến hành làm tiêu bản mô bệnh học 30% số chuột. Thận chuột được cố định trong formalin 10%, khử nước bằng một loạt các bước đưa qua ethanol và acetone, đúc parafin, cắt tiêu bản dày 4µ, nhuộm hematoxylin-eosin (HE) và quan sát dưới kính hiển vi để đánh giá tổn thương mô bệnh học thận.

2.8. Xử lý số liệu

Các số liệu được trình bày dưới dạng Mean ± SD. So sánh thống kê bằng test T-student, sử dụng phần mềm SPSS 20.0. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.9. Sai số và biện pháp khắc phục 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 đã được chuẩn hóa và có độ chính xác cao.

- Xử lý số liệu bằng phần mềm chuyên dụng trên máy tính. Lưu trữ số liệu, thông tin bằng sổ ghi chép, chụp ảnh.

2.10. Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu được thông qua Hội đồng bảo vệ đề cương Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam.

Nghiên cứu được triển khai theo đúng đề cương đã được phê duyệt.

Nghiên cứu được thực hiện trên chuột cống trắng, và chuột nhắt trắng, số lượng động vật sử dụng trong các mô hình thí nghiệm được hạn chế ở mức tối thiểu, đủ để thu được kết quả đảm bảo độ tin cậy và đủ xử lý thống kê. Trung thực trong xử lý số liệu.

Những chuột chết trong quá trình làm thí nghiệm (nếu có) và 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 nghiên cứu độc tính cấp của cao khô "thăng thanh giáng trọc"

3.1.1. Kết quả thử nghiệm thăm dò liều ban đầu

Bảng 3.1. Kết quả đánh giá thử nghiệm thăm dò liều ban đầu

Chuột thí nghiệm	Liều dùng (g/kg thể trọng)	Kết quả theo dõi trong 72 giờ đầu	Kết quả theo dõi từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 7
Chuột 1	3,0	Sau uống thuốc chuột giảm vận động, ăn uống, sau khoảng 6-8h chuột nhanh chóng trở về trạng thái bình thường, đi ngoài phân bình thường, không có chuột nào chết cũng như có biểu hiện độc tính.	Các chuột hoạt động, vận động bình thường, đi ngoài phân bình thường, không có chuột nào chết cũng như có biểu hiện độc tính.
Chuột 2	6,0		
Chuột 3	12,0		

Bảng 3.1 cho thấy, cao khô "thăng thanh giáng trọc" cho chuột uống ở các mức liều 3,0g/kg; 6,0g/kg; 12,0g/kg ở cùng thể tích 0,2mL/10g/lần x 3 lần (tức 60mL/kg). Sau uống thuốc chuột giảm vận động, ăn uống, sau khoảng 6 - 8h chuột nhanh chóng trở về trạng thái bình thường, đi ngoài phân bình thường, không có chuột nào chết cũng như có biểu hiện độc tính.

72h sau uống thuốc, không có chuột thí nghiệm nào bị chết.

Sau 7 ngày uống thuốc cho thấy các chuột hoạt động, vận động bình thường, đi ngoài phân bình thường, không có chuột nào chết cũng như có biểu hiện độc tính.

Với các mức liều cho uống, chưa thấy có chuột nào có biểu hiện độc tính. Vì vậy liều thử chính thức được chọn là ở các mức liều tương đương hoặc cao hơn so với các mức liều đã dùng trong thử nghiệm thăm dò.

3.1.2. Kết quả thử nghiệm độc tính cấp

Thử nghiệm chính thức được đánh giá trên 5 lô chuột, mỗi lô 10 con, uống mẫu thử với các mức liều 6g, 12g, 18g, 24g và 30g. Chuột được cho uống với cùng thể tích 0,2ml/10g/lần x 10 lần.

3.1.2.1. Kết quả lên tình trạng chung của chuột

Tiến hành theo dõi liên tục, đánh giá chuột ở các lô nghiên cứu sau khi được uống mẫu thử. Theo dõi các biểu hiện nhiễm độc sớm như Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu và có dấu hiệu nhiễm độc, khả năng và thời gian hồi phục và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc. Tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống mẫu thử để đánh giá biểu hiện nhiễm độc muộn và khả năng hồi phục các biểu hiện nhiễm độc.

Bảng 3.2. Kết quả về tình trạng hoạt động, vận động của chuột

Lô chuột	Số chuột thí nghiệm	Liều dùng (g/kg thể trọng)	Thể tích cho uống	Tình trạng hoạt động, vận động bình thường sau 72 giờ	Tình trạng hoạt động, vận động bình thương sau 7 ngày
Lô 1	10	6,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 2	10	12,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 3	10	18,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 4	10	24,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 5	10	30,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10

Bảng 3.2 cho thấy, sau 72h chuột ở tất cả các lô hoạt động, vận động bình thường, không có con nào có biểu hiện của các trạng thái kích thích hoặc ức chế thần kinh; không có chuột nào có biểu hiện về tổn thương thần kinh vận động. Sau 7 ngày Tất cả các con chuột ở các lô đều hoạt động và vận động bình thường, không có con nào thể hiện dấu hiệu kích thích hoặc ức chế thần kinh, cũng như không có con nào cho thấy dấu hiệu tổn thương thần kinh vận động.

Bảng 3.3. Kết quả về ảnh hưởng tới thần kinh thực vật

Lô chuột	Số chuột thí nghiệm	Liều dùng (g/kg thể trọng)	Thể tích cho uống	Tình trạng thần kinh thực vật bình thường sau 72 giờ	Tình trạng thần kinh thực vật bình thường sau 7 ngày
Lô 1	10	6,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 2	10	12,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 3	10	18,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 4	10	24,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 5	10	30,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10

Bảng 3.3 cho thấy sau 72h chuột ở tất cả các lô đều không thấy có biểu hiện về ảnh hưởng của chế phẩm lên tình trạng thần kinh thực vật; không có con nào có tình trạng bị ra mồ hôi hoặc bị khô đỏ da; đồng tử mắt của các chuột bình thường, không biểu hiện bị co, giãn đồng tử. Sau 7 ngày tất cả các con chuột ở các lô đều không cho thấy dấu hiệu ảnh hưởng của chế phẩm lên hệ thần kinh thực vật; không con nào có tình trạng đổ mồ hôi hay khô đỏ da; đồng tử mắt của các con chuột bình thường, không có biểu hiện co hoặc giãn đồng tử.

Bảng 3.4. Kết quả về ảnh hưởng tới tình trạng hô hấp

Lô chuột	Số chuột thí nghiệm	Liều dùng (g/kg thể trọng)	Thể tích cho uống	Tình trạng hô hấp bình thường sau 72 giờ	Tình trạng hô hấp bình thường sau 7 ngày
Lô 1	10	6,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 2	10	12,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 3	10	18,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 4	10	24,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 5	10	30,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10

Bảng 3.4 cho thấy sau 72h chuột ở tất cả các lô đều có tình trạng hô hấp bình thường, không có biểu hiện khó thở, tím tái, ho. Sau 7 ngày tất cả các lô chuột đều có hô hấp bình thường, không xuất hiện dấu hiệu khó thở, tím tái hay ho.

Bảng 3.5. Kết quả về ảnh hưởng tới tình trạng ăn uống của chuột

Lô chuột	Số chuột thí nghiệm	Liều dùng (g/kg thể trọng)	Thể tích cho uống	Tình trạng ăn uống bình thường sau 72 giờ	Tình trạng ăn uống bình thường sau 7 ngày
Lô 1	10	6,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 2	10	12,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 3	10	18,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 4	10	24,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 5	10	30,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10

Bảng 3.5 cho thấy sau 72h các chuột ở tất cả các lô đã ăn uống bình thường, không có biểu hiện của việc bỏ ăn cũng như không có biểu hiện của việc ăn uống tăng lên. Sau 7 ngày chuột ở tất cả các lô đều ăn uống bình thường, không có dấu hiệu bỏ ăn hay ăn uống tăng bất thường.

Bảng 3.6. Kết quả về ảnh hưởng tới tình trạng chất thải của chuột

Lô chuột	Số chuột thí nghiệm	Liều dùng (g/kg thể trọng)	Thể tích cho uống	Tình trạng chất thải bình thường sau 72 giờ	Tình trạng chất thải bình thường sau 7 ngày
Lô 1	10	6,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 2	10	12,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 3	10	18,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 4	10	24,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 5	10	30,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10

Bảng 3.6 cho thấy sau 72h các chuột đi ngoài phân khuôn, màu sắc bình thường. Kiểm tra hậu môn của các chuột thấy hậu môn khô, không có tấy đỏ. Sau 7 ngày chuột đi ngoài phân khuôn với màu sắc bình thường. Kiểm tra hậu môn cho thấy hậu môn khô, không có dấu hiệu tấy đỏ.

Bảng 3.7. Kết quả về đánh giá những biểu hiện bất thường khác

Lô chuột	Số chuột thí nghiệm	Liều dùng (g/kg thể trọng)	Thể tích cho uống	Không có biểu hiện bất thường gì khác sau 72 giờ	Không có biểu hiện bất thường gì khác sau 7 ngày
Lô 1	10	6,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 2	10	12,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 3	10	18,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 4	10	24,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10
Lô 5	10	30,0	0,20mL/10g x 3lần	10/10	10/10

Bảng 3.7 cho thấy sau 72h các chuột ở tất cả các lô đều không có biểu hiện bất thường gì khác (không bị đau quặn bụng, không bị ngứa đưa chân lên gãi…). Sau 7 ngày chuột ở tất cả các lô không có biểu hiện bất thường nào khác, như đau quặn bụng hay ngứa gãi bằng chân.

**** Kết quả theo dõi, đánh giá số chuột chết ở mỗi lô sau khi uống mẫu thử***

Kết quả nghiên cứu được trình bày ở Bảng 3.8.

Bảng 3.8. Kết quả đánh giá số chuột chết ở mỗi lô sau khi uống mẫu thử

Lô chuột	Số chuột thí nghiệm	Liều dùng (g/kg thể trọng)	Thể tích cho uống	Số chuột sống/chết sau 72 giờ	Số chuột sống/chết sau 7 ngày
Lô 1	10	6,0	0,20mL/10g x 3lần	10/0	10/0
Lô 2	10	12,0	0,20mL/10g x 3lần	10/0	10/0
Lô 3	10	18,0	0,20mL/10g x 3lần	10/0	10/0
Lô 4	10	24,0	0,20mL/10g x 3lần	10/0	10/0
Lô 5	10	30,0	0,20mL/10g x 3lần	10/0	10/0

Bảng 3.8 cho thấy, cao khô "thăng thanh giáng trọc" cho chuột ở các lô uống với các mức liều khác nhau với cùng 1 thể tích 0,2mL/10g/lần × 3 lần (tức 60mL/kg). Chuột uống với mức liều thấp nhất là 6,0g/kg thể trọng cho đến mức liều cao nhất là 30,0g/kg thể trọng, không có chuột thí nghiệm nào bị chết sau uống thuốc 72 giờ. Liều 30,0g/kg là mức liều mà ở đó hỗn dịch mẫu thử pha ở mức độ đậm đặc tối đa có thể cho phép thuốc qua kim thuận lợi để cho chuột uống.

Đến hết 7 ngày (168 giờ sau uống thuốc) các chuột hoạt động, ăn uống bình thường, chất thải bình thường, không có chuột nào chết.

Như vậy chuột đã được cho uống đến mức liều cao gấp 23,6 lần liều dự kiến có tác dụng mà không có chuột nào chết cũng như không có biểu hiện của độc tính. Như vậy có thể khẳng định được cao khô "thăng thanh giáng trọc" đạt được tính an toàn trong thử nghiệm độc tính cấp.

3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" trên mô hình bệnh thận mạn cắt 5/6 thận chuột

3.2.1. Kết quả đánh giá tình trạng chung và cân nặng của chuột

3.2.1.1. Tình trạng chung

Kết quả đánh giá tình trạng chung cho thấy chuột ở các lô phẫu thuật gây mô hình có biểu hiện xù lông, lông sạm màu hơn, hoạt động và ăn uống giảm so với lô chứng phẫu thuật, với biểu hiện ngày càng rõ rệt hơn theo thời gian. Tình trạng chung của chuột ở các lô tham chiếu (dùng enalapril) và các lô dùng TTGT có cải thiện tốt hơn (ít xù lông hơn, hoạt động và ăn uống tốt hơn) so với lô mô hình.

Kết quả đánh giá cân nặng của chuột được trình bày ở bảng 3.9.

3.2.1.2. Cân nặng chuột

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên cân nặng chuột ($\bar{X}$ ± SD, n = 10 ở mỗi lô)

Lô nghiên cứu	Cân nặng chuột (g)			p_{b-a}	p_{c-a}	p_{c-b}
	Ngay sau PT lần 2 (a)	15 ngày sau PT lần 2 (b)	Sau uống thuốc 60 ngày (c)			
Chứng PT (1)	198,08 ± 18,92	208,21 ± 20,69	236,18 ± 19,54	< 0,05	< 0,01	< 0,01
Mô hình (2)	196,36 ± 19,05	195,62 ± 19,55	193,95 ± 19,28	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Tham chiếu (3)	191,82 ± 18,62	189,82 ± 18,62	218,32 ± 20,14	> 0,05	> 0,05	< 0,05
TTGT-1 (4)	195,16 ± 17,63	194,95 ± 19,26	215,91 ± 21,06	> 0,05	> 0,05	< 0,05
TTGT-2 (5)	193,95 ± 20,06	193,08 ± 18,98	224,06 21,65	> 0,05	> 0,05	< 0,05
P_{2-1}	> 0,05	< 0,05	< 0,01	-	-	-
$P_{3,4,5-1}$	> 0,05	< 0,05	< 0,05	-	-	-
$P_{3,4,5-2}$	> 0,05	> 0,05	< 0,05	-	-	-
$P_{4,5-3}$	> 0,05	> 0,05	> 0,05	-	-	-
P_{5-4}	> 0,05	> 0,05	> 0,05	-	-	-

Bảng 3.9 cho thấy sau phẫu thuật lần 2, trọng lượng chuột ở nhóm chứng PT là 198,08 ± 18,92 lớn hơn ở nhóm mô hình có trọng lượng là 196,36 ± 19,05, song sự khác biết này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Tương tự, trọng lượng của

chuột ở nhóm tham chiếu là 191,82 ± 18,62, nhóm TTGT-1 có trọng lượng 195,16 ± 17,63, nhóm TTGT-2 có trọng lượng 193,95 ± 20,06 nhỏ hơn nhóm chứng PT có trọng lượng 198,08 ± 18,92, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Trọng lượng của chuột ở nhóm tham chiếu là 191,82 ± 18,62, nhóm TTGT-1 có trọng lượng 195,16 ± 17,63, nhóm TTGT-2 có trọng lượng 193,95 ± 20,06 nhỏ hơn nhóm mô hình có trọng lượng 196,36 ± 19,05, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có trọng lượng chuột 195,16 ± 17,63, nhóm TTGT-2 có trọng lượng 193,95 ± 20,06 lớn hơn nhóm tham chiếu có trọng lượng 191,82 ± 18,62 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Trọng lượng của chuột ở nhóm TTGT-2 là 193,95 ± 20,06 nhỏ hơn nhóm TTGT-1 là 195,16 ± 17,63, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

Từ các nhận xét trên cho thấy tại thời điểm ban đầu, cân nặng chuột ở các lô là như nhau (p >0,05). Các lô 2,3,4,5 (là những lô phẫu thuật cắt bỏ 5/6 thận), cân nặng chuột có xu hướng nhỏ hơn so với lô chứng PT (không cắt bỏ thận), tuy nhiên do cân nặng thận cắt bỏ (khoảng 1g) là nhỏ tính theo tỷ lệ so với cân nặng chuột nên chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh giữa các lô PT cắt bỏ thận so với lô chứng PT (p >0,05).

15 ngày sau phẫu thuật lần 2, trọng lượng chuột ở nhóm chứng PT là 208,21 ± 20,69 lớn hơn ở nhóm mô hình có trọng lượng là 195,62 ± 19,55, sự khác biết này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Tương tự, trọng lượng của chuột ở nhóm tham chiếu là 189,82 ± 18,62, nhóm TTGT-1 có trọng lượng 194,95 ± 19,26, nhóm TTGT-2 có trọng lượng 193,08 ± 18,98 nhỏ hơn nhóm chứng PT có trọng lượng 208,21 ± 20,69, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Trọng lượng của chuột ở nhóm tham chiếu là 189,82 ± 18,62, nhóm TTGT-1 có trọng lượng 194,95 ± 19,26, nhóm TTGT-2 có trọng lượng 193,08 ± 18,98 nhỏ hơn nhóm mô hình có trọng lượng 195,62 ± 19,55, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có trọng lượng chuột 194,95 ± 19,26, nhóm TTGT-2 có trọng lượng 193,08 ± 18,98 lớn hơn nhóm tham chiếu có trọng lượng 189,82 ± 18,62 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Trọng lượng của chuột ở nhóm TTGT-2 là 193,08 ± 18,98 nhỏ hơn nhóm TTGT-1 là 194,95 ± 19,26, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

- Từ các nhận xét trên cho thấy, tại thời điểm 15 ngày sau phẫu thuật lần 2 (trước uống thuốc): cân nặng chuột ở các lô 2,3,4,5 là những lô phẫu thuật cắt bỏ thận không tăng, trong khi lô chứng PT chuột tăng cân. Kết quả cân nặng chuột ở các lô PT cắt bỏ 5/6 thận giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng PT ($p < 0,05$).

Sau uống thuốc 60 ngày, trọng lượng chuột ở nhóm chứng PT là 236,18 ± 19,54 lớn hơn ở nhóm mô hình có trọng lượng là 193,95 ± 19,28, sự khác biết này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Tương tự, trọng lượng của chuột ở nhóm tham chiếu là 218,32 ± 20,14, nhóm TTGT-1 có trọng lượng 215,91 ± 21,06, nhóm TTGT-2 có trọng lượng 224,06 ± 21,65 nhỏ hơn nhóm chứng PT có trọng lượng 236,18 ± 19,54, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Trọng lượng của chuột ở nhóm tham chiếu là 218,32 ± 20,14, nhóm TTGT-1 có trọng lượng 215,91 ± 21,06, nhóm TTGT-2 có trọng lượng 224,06 ± 21,65 lớn hơn nhóm mô hình có trọng lượng 193,65 ± 19,28, sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Nhóm TTGT-1 có trọng lượng chuột 215,91 ± 21,06, nhỏ hơn nhóm tham chiếu có trọng lượng 218,32 ± 20,14, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Nhóm TTGT-2 có trọng lượng 224,06 ± 21,65 lớn hơn nhóm tham chiếu có trọng lượng 218,32 ± 20,14, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Trọng lượng của chuột ở nhóm TTGT-2 là 224,06 ± 21,65 lớn hơn nhóm TTGT-1 là 215,91 ± 21,06, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

- Từ các nhận xét trên cho thấy tại thời điểm sau 60 ngày uống thuốc: cân nặng chuột ở các lô uống thuốc tăng so với trước uống thuốc ($p < 0,05$). Cân nặng chuột ở lô mô hình không tăng. So với lô mô hình, cân nặng chuột ở các lô dùng thuốc cao hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.2.2. Kết quả đánh giá ure, creatinin máu chuột

Kết quả được trình bày ở các bảng 3.10 và 3.11

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên nồng độ ure huyết thanh của chuột ($\overline{X}$ ± SD, n = 10 ở mỗi lô)

Lô nghiên cứu	Nồng độ ure huyết thanh (mmol/l)			p_{b-a}	p_{c-a}	p_{c-b}
	Trước phẫu thuật	15 ngày sau PT lần 2	Sau uống thuốc 60 ngày			
Chứng PT (1)	5,72 ± 0,71	5,88 ± 0,84	6,01 ± 0,98	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Mô hình (2)	5,68 ± 0,74	8,96 ± 0,98	10,56 ± 1,12	> 0,05	< 0,01	< 0,001
Tham chiếu (3)	5,81 ± 0,88	8,81± 1,01	8,24 ± 0,96	> 0,05	< 0,01	< 0,05
TTGT-1 (4)	5,48 ± 0,69	8,68 ± 0,92	8,59 ± 0,91	> 0,05	< 0,01	> 0,05
TTGT-2 (5)	5,92 ± 0,85	8,75 ± 0,93	7,90 ± 0,85	> 0,05	< 0,01	< 0,05
P_{2-1}	> 0,05	< 0,01	< 0,001	-	-	-
$P_{3,4,5-1}$	> 0,05	< 0,01	< 0,01	-	-	-
$P_{3,4,5-2}$	> 0,05	> 0,05	< 0,01	-	-	-
$P_{4,5-3}$	> 0,05	> 0,05	> 0,05	-	-	-
P_{5-4}	> 0,05	> 0,05	< 0,05	-	-	-

Bảng 3.10 cho thấy trước phẫu thuật, nồng độ ure huyết thanh chuột ở nhóm chứng PT là 5,72 ± 0,71 lớn hơn ở nhóm mô hình có nồng độ là 5,68 ± 0,74, song sự khác biết này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Tương tự, nồng độ ure huyết thanh chuột ở nhóm tham chiếu là 5,81 ± 0,88, nhóm TTGT-2 có nồng độ 5,92 ± 0,85 lớn hơn nhóm chứng PT có nồng độ 5,72 ± 0,71, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nồng độ ure huyết thanh chuột ở nhóm tham chiếu là 5,81 ± 0,88, nhóm TTGT-2 có nồng độ 5,92 ± 0,85 lớn hơn nhóm mô hình có nồng độ 5,68 ± 0,74, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có nồng độ ure huyết thanh 5,48 ± 0,69 nhỏ hơn nhóm tham chiếu có nồng độ 5,81 ± 0,88 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có nồng độ ure huyết thanh 5,92 ± 0,85 lớn hơn nhóm tham chiếu có nồng độ 5,81 ± 0,88 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nồng độ ure huyết thanh chuột ở nhóm TTGT-2 là 5,92 ± 0,85 lớn hơn nhóm TTGT-1 là 5,48 ± 0,69, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

Từ các nhận xét trên cho thấy tại thời điểm trước phẫu thuật: nồng độ ure huyết thanh của chuột ở các lô là như nhau (p >0,05).

15 ngày sau phẫu thuật lần 2, nồng độ ure huyết thanh chuột ở nhóm chứng PT là 5,88 ± 0,84 nhỏ hơn ở nhóm mô hình có nồng độ là 8,96 ± 0,98, sự khác biết này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Tương tự, nồng độ ure huyết thanh chuột ở nhóm tham chiếu là 8,81 ± 1,01, nhóm TTGT-1 có nồng độ 8,68 ± 0,92, nhóm TTGT-2 có nồng độ 8,75 ± 0,93 lớn hơn nhóm chứng PT có nồng độ 5,88 ± 0,84, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Nồng độ ure huyết thanh chuột ở nhóm tham chiếu là 8,81 ± 1,01, nhóm TTGT-1 có nồng độ 8,68 ± 0,92, nhóm TTGT-2 có nồng độ 8,75 ± 0,93 nhỏ hơn nhóm mô hình có nồng độ 8,96 ± 0,98, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có nồng độ 8,68 ± 0,92, nhóm TTGT-2 có nồng độ 8,75 ± 0,93 nhỏ hơn nhóm tham chiếu có nồng độ 8,81 ± 1,01 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nồng độ ure huyết thanh chuột ở nhóm TTGT-2 là 8,75 ± 0,93 lớn hơn nhóm TTGT-1 là 8,68 ± 0,92, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

Từ các nhận xét trên cho thấy tại thời điểm 15 ngày sau phẫu thuật lần 2 (trước uống thuốc): nồng độ ure huyết thanh của chuột ở các lô 2,3,4,5 (là những lô phẫu thuật cắt bỏ thận) tăng (p <0,01 so với trước PT cũng như so với ở lô chứng PT). So sánh giữa ở các lô PT cắt bỏ 5/6 thận, nồng độ ure huyết thanh của chuột khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p >0,05).

Sau uống thuốc 60 ngày, nồng độ ure huyết thanh chuột ở nhóm chứng PT là 6,01 ± 0,98 nhỏ hơn ở nhóm mô hình có nồng độ là 10,56 ± 1,12, sự khác biết này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Tương tự, nồng độ ure huyết thanh chuột ở nhóm tham chiếu là 8,24 ± 0,96, nhóm TTGT-1 có nồng độ 8,59 ± 0,91, nhóm TTGT-2 có nồng độ 7,90 ± 0,85 lớn hơn nhóm chứng PT có nồng độ 6,01 ± 0,98, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Nồng độ ure huyết thanh chuột ở nhóm tham chiếu là 8,24 ± 0,96, nhóm TTGT-1 có nồng độ 8,59 ± 0,91, nhóm TTGT-2 có nồng độ 7,90 ± 0,85 nhỏ hơn nhóm mô hình có nồng độ là 10,56 ± 1,12, sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Nhóm TTGT-1 có nồng độ ure huyết thanh 8,59 ± 0,91, lớn hơn nhóm tham chiếu có nồng độ 8,24 ± 0,96, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có nồng độ 7,90 ± 0,85 nhỏ hơn nhóm tham chiếu có nồng độ 8,24 ± 0,96, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nồng độ ure huyết thanh chuột ở nhóm TTGT-2 là 7,90 ±

0,85 nhỏ hơn nhóm TTGT-1 là 8,59 ± 0,91, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05.

Từ các nhận xét trên cho thấy tại thời điểm sau 60 ngày uống thuốc:

+ Nồng độ ure huyết thanh của chuột ở lô chứng PT không tăng so với các thời điểm trước (p >0,05).

+ Nồng độ ure huyết thanh của chuột ở lô mô hình tăng cao so với các thời điểm trước (p <0,01 và p <0,001), và tăng cao so với ở lô chứng PT với p <0,001.

+ So với lô mô hình, nồng độ ure huyết thanh của chuột ở các lô uống thuốc giảm có ý nghĩa thống kê với p <0,01. Nồng độ ure huyết thanh của chuột ở lô TTGT-2 giảm nhiều nhất, và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với ở lô TTGT-1 (p <0,05).

Bảng 3.11. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên nồng độ creatinin huyết thanh của chuột ($\overline{X}$ ± SD, n = 10 ở mỗi lô)

Lô nghiên cứu	Nồng độ creatinin huyết thanh (µmol/l)			p_{b-a}	p_{c-a}	p_{c-b}
	Trước phẫu thuật	15 ngày sau PT lần 2	Sau uống thuốc 60 ngày			
Chứng PT (1)	89,20±9,85	90,10 ± 9,92	91,10 ± 10,21	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Mô hình (2)	88,90± 9,54	139,60±14,26	241,38 ± 26,52	> 0,05	< 0,01	< 0,001
Tham chiếu (3)	86,90± 9,65	140,80±15,06	131,60±14,96	> 0,05	< 0,01	< 0,05
TTGT-1 (4)	86,10± 9,52	138,80±14,16	133,99±14,73	> 0,05	< 0,01	> 0,05
TTGT-2 (5)	85,90± 9,46	141,50±13,96	130,60±13,65	> 0,05	< 0,01	< 0,05
P_{2-1}	> 0,05	< 0,01	< 0,001	-	-	-
$P_{3,4,5-1}$	> 0,05	< 0,01	< 0,01	-	-	-
$P_{3,4,5-2}$	> 0,05	> 0,05	< 0,01	-	-	-
$P_{4,5-3}$	> 0,05	> 0,05	> 0,05	-	-	-
P_{5-4}	> 0,05	> 0,05	< 0,05	-	-	-

Bảng 3.11 cho thấy trước phẫu thuật, nồng độ creatinin huyết thanh chuột ở nhóm chứng PT là 89,20 ± 9,85 lớn hơn ở nhóm mô hình có nồng độ là 88,90 ± 9,54, song sự khác biết này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Tương tự, nồng độ creatinin huyết thanh chuột ở nhóm tham chiếu là 86,90 ± 9,65, nhóm TTGT-1 có nồng độ 86,10 ± 9,52, nhóm TTGT-2 có nồng độ 85,90 ± 9,46 nhỏ hơn nhóm chứng PT có nồng độ 89,20 ± 9,85, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nồng độ creatinin huyết thanh chuột ở nhóm tham chiếu là 86,90 ± 9,65, nhóm TTGT-1 có nồng độ 86,10 ± 9,52, nhóm TTGT-2 có nồng độ 85,90 ± 9,46 nhỏ hơn nhóm chứng PT có nồng độ 89,20 ± 9,85, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có nồng độ 86,10 ± 9,52, nhóm TTGT-2 có nồng độ 85,90 ± 9,46 nhỏ hơn nhóm tham chiếu là 86,90 ± 9,65 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có nồng độ creatinin huyết thanh 85,90 ± 9,46 nhỏ hơn nhóm TTGT-1 có nồng độ 86,10 ± 9,52 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

- Tại thời điểm trước phẫu thuật: nồng độ creatinin huyết thanh của chuột ở các lô là như nhau (p >0,05).

15 ngày sau phẫu thuật lần 2, nồng độ creatinin huyết thanh chuột ở nhóm chứng PT là 90,10 ± 9,92 nhỏ hơn ở nhóm mô hình có nồng độ là 139,60 ± 14,26, sự khác biết này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Tương tự, nồng độ creatinin huyết thanh chuột ở nhóm tham chiếu là 140,80 ± 15,06, nhóm TTGT-1 có nồng độ 138,80 ± 14,16, nhóm TTGT-2 có nồng độ 141,50 ± 13,96 lớn hơn nhóm chứng PT có nồng độ 90,10 ± 9,92, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Nồng độ creatinin huyết thanh chuột ở nhóm tham chiếu là 140,80 ± 15,06, nhóm TTGT-2 có nồng độ 141,50 ± 13,96 lớn hơn nhóm mô hình có nồng độ 139,60 ± 14,26, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có nồng độ 141,50 ± 13,96 lớn hơn nhóm tham chiếu có nồng độ 140,80 ± 15,06 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nồng độ creatinin huyết thanh chuột ở nhóm TTGT-2 là 141,50 ± 13,96 lớn hơn nhóm TTGT-1 có nồng độ là 138,80 ± 14,16, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

- Tại thời điểm 15 ngày sau phẫu thuật lần 2 (trước uống thuốc): nồng độ creatinin huyết thanh của chuột ở các lô 2,3,4,5 (là những lô phẫu thuật cắt bỏ thận) tăng (p <0,01 so với trước PT cũng như so với ở lô chứng PT). So sánh giữa ở các lô PT

cắt bỏ 5/6 thận, nồng độ creatinin huyết thanh của chuột khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p >0,05).

Sau uống thuốc 60 ngày, nồng độ creatinin huyết thanh chuột ở nhóm chứng PT là 91,10 ± 10,21 nhỏ hơn ở nhóm mô hình có nồng độ là 241,38 ± 26,52, sự khác biết này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Tương tự, nồng độ creatinin huyết thanh chuột ở nhóm tham chiếu là 131,60 ± 14,96, nhóm TTGT-1 có nồng độ 133,99 ± 14,73, nhóm TTGT-2 có nồng độ 130,60 ± 13,65 lớn hơn nhóm chứng PT có nồng độ 91,10 ± 10,21, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Nồng độ creatinin huyết thanh chuột ở nhóm tham chiếu là 131,60 ± 14,96, nhóm TTGT-1 có nồng độ 133,99 ± 14,73, nhóm TTGT-2 có nồng độ 130,60 ± 13,65 nhỏ hơn nhóm mô hình có nồng độ 241,38 ± 26,52, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Nhóm TTGT-1 có nồng độ creatinin huyết thanh 133,99 ± 14,73, lớn hơn nhóm tham chiếu có nồng độ 131,60 ± 14,96, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có nồng độ 130,60 ± 13,65 nhỏ hơn nhóm tham chiếu có nồng độ 131,60 ± 14,96, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nồng độ creatinin huyết thanh chuột ở nhóm TTGT-2 là 130,60 ± 13,65 nhỏ hơn nhóm TTGT-1 là 133,99 ± 14,73, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05.

- Tại thời điểm sau 60 ngày uống thuốc:

+ Nồng độ creatinin huyết thanh của chuột ở lô chứng PT không tăng so với các thời điểm trước (p >0,05).

+ Nồng độ creatinin huyết thanh của chuột ở lô mô hình tăng cao so với các thời điểm trước (p <0,01 và p <0,001), và tăng cao so với trước PT với p <0,001.

+ So với lô mô hình, nồng độ creatinin huyết thanh của chuột ở các lô uống thuốc giảm có ý nghĩa thống kê với p <0,01. Nồng độ creatinin huyết thanh của chuột ở lô TTGT-2 giảm nhiều nhất, và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với ở lô TTGT-1 (p <0,05).

3.2.3. Kết quả đánh giá một số chỉ số huyết học của chuột

Kết quả được trình bày ở các bảng 3.12

Bảng 3.12. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên một số chỉ số huyết học của chuột ($\overline{X}$ ± SD, n = 10 ở mỗi lô)

Lô nghiên cứu	Số lượng hồng cầu máu chuột (T/l)	Hàm lượng huyết sắc tố máu chuột (g/l)	Hematocrit máu chuột (%)
Chứng PT (1)	7,46 ± 0,95	138,82 ± 11,08	32,85 ± 3,19
Mô hình (2)	5,32 ± 0,64	117,32 ± 12,05	31,96 ± 3,05
Tham chiếu (3)	6,41 ± 0,79	126,16 ± 12,46	32,14 ± 3,12
TTGT-1 (4)	6,38 ± 0,81	124,95 ± 11,84	32,09 ± 3,26
TTGT-2 (5)	6,69 ± 0,75	130,27 ± 12,35	32,98 ± 3,29
P_{2-1}	< 0,01	< 0,01	> 0,05
$P_{3,4,5-1}$	< 0,05	< 0,05	> 0,05
$P_{3,4,5-2}$	< 0,05	< 0,05	> 0,05
$P_{4,5-3}$	> 0,05	> 0,05	> 0,05
P_{5-4}	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Bảng 3.12 cho thấy số lượng hồng cầu máu chuột ở nhóm chứng PT là 7,46 ± 0,95 lớn hơn ở nhóm mô hình có số lượng là 5,32 ± 0,64, sự khác biết này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Số lượng hồng cầu máu chuột ở nhóm tham chiếu là 6,41 ± 0,79, nhóm TTGT-1 có số lượng 6,38 ± 0,81, nhóm TTGT-2 có số lượng 6,69 ± 0,75 nhỏ hơn nhóm chứng PT có số lượng 7,46 ± 0,95, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Số lượng hồng cầu máu chuột ở nhóm tham chiếu là 6,41 ± 0,79, nhóm TTGT-1 có số lượng 6,38 ± 0,81, nhóm TTGT-2 có số lượng 6,69 ± 0,75 lớn hơn nhóm mô hình có số lượng 5,32 ± 0,64, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Nhóm TTGT-1 có số lượng hồng cầu máu chuột 6,38 ± 0,81 nhỏ hơn nhóm tham chiếu có số lượng là là 6,41 ± 0,79 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có số lượng hồng cầu máu chuột 6,69 ± 0,75 lớn hơn nhóm tham chiếu có số lượng là 6,41 ± 0,79 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có số lượng hồng cầu máu chuọt 6,69 ± 0,75 nhỏ hơn nhóm TTGT-1 có số lượng 6,38 ± 0,81 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

Hàm lượng huyết sắc tố máu chuột ở nhóm chứng PT là 138,82 ± 11,08 lớn hơn ở nhóm mô hình có hàm lượng là 117,32 ± 12,05, sự khác biết này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Hàm lượng huyết sắc tố máu chuột ở nhóm tham chiếu là 126,16 ± 12,46, nhóm TTGT-1 có hàm lượng 124,95 ± 11,84, nhóm TTGT-2 có hàm lượng 130,27 ± 12,35 nhỏ hơn nhóm chứng PT có hàm lượng 138,82 ± 11,08, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Hàm lượng huyết sắc tố máu chuột ở nhóm tham chiếu là 126,16 ± 12,46, nhóm TTGT-1 có hàm lượng 124,95 ± 11,84, nhóm TTGT-2 có hàm lượng 130,27 ± 12,35 lớn hơn nhóm chứng mô hình có hàm lượng 117,32 ± 12,05, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Nhóm TTGT-1 có hàm lượng huyết sắc tố máu chuột 124,95 ± 11,84 nhỏ hơn nhóm tham chiếu có hàm lượng là 126,16 ± 12,46 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có hàm lượng huyết sắc tố máu chuột 130,27 ± 12,35 lớn hơn nhóm tham chiếu có hàm lượng là 126,16 ± 12,46 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có hàm lượng huyết sắc tố máu chuột 130,27 ± 12,35 nhỏ hơn nhóm TTGT-1 có hàm lượng 124,95 ± 11,84 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

Hematocrit máu chuột ở nhóm chứng PT là 32,85 ± 3,19 lớn hơn ở nhóm mô hình có hàm lượng là 31,96 ± 3,05, sự khác biết này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Hematocrit máu chuột ở nhóm tham chiếu là 32,14 ± 3,12, nhóm TTGT-1 có hàm lượng 32,09 ± 3,26, nhỏ hơn nhóm chứng PT có hàm lượng 32,85 ± 3,19, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Hematocrit máu chuột ở nhóm tham chiếu là 32,14 ± 3,12, nhóm TTGT-1 có hàm lượng 32,09 ± 3,26, nhóm TTGT-2 có hàm lượng 32,98 ± 3,29 lớn hơn nhóm chứng mô hình có hàm lượng 31,96 ± 3,05, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có hematocrit máu chuột 32,09 ± 3,26 nhỏ hơn nhóm tham chiếu có hàm lượng là 32,14 ± 3,12 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có hematocrit máu chuột 32,98 ± 3,29 lớn hơn nhóm tham chiếu có hàm lượng là 32,14 ± 3,12 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có hematocrit máu chuột 32,98 ± 3,29 nhỏ hơn nhóm TTGT-1 có hàm lượng 32,09 ± 3,26 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

- So với lô chứng PT, số lượng hồng cầu máu chuột và hàm lượng huyết sắc tố máu chuột ở lô mô hình giảm có ý nghĩa thống kê với p <0,01.

- So với lô mô hình, số lượng hồng cầu máu chuột và hàm lượng huyết sắc tố máu chuột ở các lô dùng thuốc tăng, khác biệt có ý nghĩa thống kê với p <0,05.

- Hematocrit máu chuột ở các lô khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê (p >0,05).

3.2.4. Kết quả đánh giá huyết áp của chuột

Kết quả được trình bày ở các bảng 3.7, 3.8 và 3.9

Bảng 3.13. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên huyết áp tâm thu của chuột ($\bar{X}$ ± SD, n = 10 ở mỗi lô)

Lô nghiên cứu	Huyết áp tâm thu của chuột (mmHg)			p_{b-a}	p_{c-a}	p_{c-b}
	Trước phẫu thuật (a)	15 ngày sau PT lần 2 (b)	Sau uống thuốc 60 ngày (c)			
Chứng PT(1)	117,52±15,71	115,84±17,40	116,48±12,82	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Mô hình (2)	118,55±14,62	130,21±18,28	156,46±13,09	> 0,05	< 0,001	< 0,01
Tham chiếu (3)	119,89±12,75	131,23±15,71	139,09± 13,47	> 0,05	< 0,05	> 0,05
TTGT-1 (4)	119,80±13,62	129,16±10,55	142,85± 15,56	> 0,05	< 0,01	< 0,05
TTGT-2 (5)	120,76 ± 9,46	130,13±16,30	137,06± 12,29	> 0,05	< 0,05	> 0,05
P_{2-1}	> 0,05	> 0,05	< 0,001	-	-	-
$P_{3,4,5-1}$	> 0,05	> 0,05	< 0,01	-	-	-
$P_{3,5-2}$	> 0,05	> 0,05	< 0,01	-	-	-
P_{4-2}	> 0,05	> 0,05	< 0,05	-	-	-
$P_{4,5-3}$	> 0,05	> 0,05	> 0,05	-	-	-
P_{5-4}	> 0,05	> 0,05	> 0,05	-	-	-

Bảng 3.13 cho thấy trước phẫu thuật, huyết áp tâm thu của chuột ở nhóm chứng PT là 117,52 ± 15,71 nhỏ hơn ở nhóm mô hình có huyết áp là 118,55 ± 14,62, song sự khác biết này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Huyết áp tâm thu của chuột ở nhóm tham chiếu là 119,89 ± 12,75, nhóm TTGT-1 có huyết áp 119,80 ± 13,62, nhóm TTGT-2 có huyết áp 120,76 ± 9,46 lớn hơn nhóm chứng PT có huyết áp 117,52 ± 15,71, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Huyết áp tâm thu của chuột ở nhóm tham chiếu là 119,89 ± 12,75, nhóm TTGT-1 có huyết áp 119,80 ± 13,62, nhóm TTGT-2 có huyết áp 120,76 ± 9,46 lớn hơn nhóm mô hình có huyết áp 118,55 ± 14,62, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có huyết áp 119,80 ± 13,62, nhóm TTGT-2 có huyết áp 120,76 ± 9,46 lớn hơn nhóm mô hình có huyết áp là 118,55 ± 14,62 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có huyết áp 119,80 ± 13,62, nhóm TTGT-2 có huyết áp 120,76 ± 9,46 lớn hơn nhóm tham chiếu có huyết áp là 119,80 ± 13,62 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p

>0,05. Nhóm TTGT-2 có huyết áp là 120,76 ± 9,46 lớn hơn nhóm TTGT-1 có huyết áp 119,80 ± 13,62 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

- Tại thời điểm trước phẫu thuật: huyết áp tâm thu của chuột ở các lô là như nhau (p >0,05).

15 ngày sau phẫu thuật lần 2, huyết áp tâm thu của chuột ở nhóm chứng PT là 115,84 ± 17,40 nhỏ hơn ở nhóm mô hình có huyết áp là 130,21 ± 18,28, song sự khác biết này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Huyết áp tâm thu của chuột ở nhóm tham chiếu là 131,23 ± 15,71, nhóm TTGT-1 có huyết áp 129,16 ± 10,55, nhóm TTGT-2 có huyết áp 130,13 ± 16,30 lớn hơn nhóm chứng PT có huyết áp 115,84 ± 17,40, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Huyết áp tâm thu của chuột ở nhóm tham chiếu là 131,23 ± 15,71, nhóm TTGT-2 có huyết áp 130,13 ± 16,30 lớn hơn nhóm mô hình có huyết áp 130,21 ± 18,28, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có huyết áp 129,16 ± 10,55, nhóm TTGT-2 có huyết áp 130,13 ± 16,30 nhỏ hơn nhóm mô hình có huyết áp là 130,21 ± 18,28 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có huyết áp 129,16 ± 10,55, nhóm TTGT-2 có huyết áp 130,13 ± 16,30 nhỏ hơn nhóm tham chiếu có huyết áp là 131,23 ± 15,71 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có huyết áp là 130,13 ± 16,30 lớn hơn nhóm TTGT-1 có huyết áp 129,16 ± 10,55 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

- Tại thời điểm 15 ngày sau phẫu thuật lần 2 (trước uống thuốc): huyết áp tâm thu của chuột ở các lô 2,3,4,5 (là những lô phẫu thuật cắt bỏ thận) tăng nhưng chưa có ý nghĩa thống kê so với trước PT cũng như so với ở lô chứng PT (p >0,05).

Sau uống thuốc 60 ngày, huyết áp tâm thu của chuột ở nhóm chứng PT là 116,48 ± 12,82 nhỏ hơn ở nhóm mô hình có huyết áp là 156,46 ± 13,09, sự khác biết này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Huyết áp tâm thu của chuột ở nhóm tham chiếu là 139,09 ± 13,4, nhóm TTGT-1 có huyết áp 142,85 ± 15,56, nhóm TTGT-2 có huyết áp 137,06 ± 12,29 lớn hơn nhóm chứng PT có huyết áp 116,48 ± 12,82, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Huyết áp tâm thu của chuột ở nhóm tham chiếu là 139,09 ± 13,4, nhóm TTGT-1 có huyết áp 142,85 ± 15,56, nhóm

TTGT-2 có huyết áp 137,06 ± 12,29 nhỏ hơn nhóm mô hình có huyết áp 156,46 ± 13,09, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Nhóm TTGT-1 có huyết áp 142,85 ± 15,56, nhóm TTGT-2 có huyết áp 137,06 ± 12,29 nhỏ hơn nhóm mô hình có huyết áp là 156,46 ± 13,09 sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05.

- Tại thời điểm sau 60 ngày uống thuốc:

+ Huyết áp tâm thu của chuột ở lô chứng PT không tăng so với ở các thời điểm trước (p >0,05).

+ Huyết áp tâm thu của chuột ở lô mô hình tăng cao so với ở lô chứng PT với p <0,001; đồng thời tăng cao so với ở các thời điểm trước (p <0,001 so với ở thời điểm trước phẫu thuật và p <0,01 so với ở thời điểm 15 ngày sau PT lần 2).

+ So với ở lô mô hình, huyết áp tâm thu của chuột ở lô tham chiếu và lô TTGT-2 giảm có ý nghĩa thống kê với p <0,01; và ở lô TTGT-1 giảm có ý nghĩa thống kê với p <0,05.

+ So sánh giữa 3 lô tham chiếu, TTGT-1 và TTGT-2, huyết áp tâm thu của chuột ở 3 lô này không có sự khác biệt (p >0,05).

Bảng 3.14. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên huyết áp tâm trương của chuột ($\bar{X}$ ± SD, n = 10 ở mỗi lô)

Lô nghiên cứu	Huyết áp tâm trương của chuột (mmHg)			p_{b-a}	p_{c-a}	p_{c-b}
	Trước phẫu thuật (a)	15 ngày sau PT lần 2 (b)	Sau uống thuốc 60 ngày (c)			
Chứng PT (1)	97,76±13,25	95,63±15,32	109,56±16,28	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Mô hình (2)	100,13±11,12	110,33±16,47	141,74±22,61	> 0,05	< 0,001	< 0,01
Tham chiếu(3)	99,41 ± 9,75	109,50±14,71	118,81± 22,50	> 0,05	< 0,05	> 0,05
TTGT-1 (4)	99,89 ± 13,80	109,63±16,92	122,45±17,69	> 0,05	< 0,01	< 0,05
TTGT-2 (5)	98,96 ± 11,84	109,32±15,79	113,86± 16,32	> 0,05	< 0,05	> 0,05
P_{2-1}	> 0,05	> 0,05	< 0,001	-	-	-
$P_{3,4,5-1}$	> 0,05	> 0,05	> 0,05	-	-	-
$P_{3,4-2}$	> 0,05	> 0,05	< 0,05	-	-	-
P_{5-2}	> 0,05	> 0,05	< 0,01	-	-	-
$P_{4,5-3}$	> 0,05	> 0,05	> 0,05	-	-	-
P_{5-4}	> 0,05	> 0,05	> 0,05	-	-	-

Bảng 3.14 cho thấy trước phẫu thuật, huyết áp tâm trương của chuột ở nhóm chứng PT là 97,76 ± 13,25 nhỏ hơn ở nhóm mô hình có huyết áp là 100,13 ± 11,12, song sự khác biết này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Huyết áp tâm trương của chuột ở nhóm tham chiếu là 99,41 ± 9,75, nhóm TTGT-1 có huyết áp 99,89 ± 13,80, nhóm TTGT-2 có huyết áp 98,96 ± 11,84 lớn hơn nhóm chứng PT có huyết áp 97,76 ± 13,25, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Huyết áp tâm trương của chuột ở nhóm tham chiếu là 99,41 ± 9,75, nhóm TTGT-1 có huyết áp 99,89 ± 13,80, nhóm TTGT-2 có huyết áp 98,96 ± 11,84 nhỏ hơn nhóm mô hình có huyết áp 100,13 ± 11,12, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có huyết áp 99,89 ± 13,80 lớn hơn nhóm tham chiếu có huyết áp là 99,41 ± 9,45 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có huyết áp là 98,96 ± 11,84 nhỏ hơn nhóm TTGT-1 có huyết áp 99,89 ± 13,80 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

- Tại thời điểm trước phẫu thuật: huyết áp tâm trương của chuột ở các lô là như nhau (p >0,05).

15 ngày sau phẫu thuật lần 2, huyết áp tâm trương của chuột ở nhóm chứng PT là 95,63 ± 15,32 nhỏ hơn ở nhóm mô hình có huyết áp là 110,33 ± 16,47, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Huyết áp tâm trương của chuột ở nhóm tham chiếu là 109,50 ± 14,71, nhóm TTGT-1 có huyết áp 109,63 ± 16,92, nhóm TTGT-2 có huyết áp 109,32 ± 15,79 lớn hơn nhóm chứng PT có huyết áp 95,63 ± 15,32, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Huyết áp tâm trương của chuột ở nhóm tham chiếu là 109,50 ± 14,71, nhóm TTGT-1 có huyết áp 109,63 ± 16,92 nhỏ hơn nhóm mô hình có huyết áp 110,33 ± 16,47, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có huyết áp 109,32 ± 15,79 nhỏ hơn nhóm mô hình có huyết áp là 110,33 ± 11,12 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có huyết áp 109,63 ± 16,92 lớn hơn nhóm tham chiếu có huyết áp là 109,50 ± 14,71 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có huyết áp 109,32 ± 15,79 nhỏ hơn nhóm tham chiếu có huyết áp là 109,50 ± 14,71 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có huyết áp là 109,32 ± 15,79 nhỏ hơn nhóm TTGT-1 có huyết áp 109,63 ± 16,92 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

- Tại thời điểm 15 ngày sau phẫu thuật lần 2 (trước uống thuốc): huyết áp tâm trương của chuột ở các lô 2,3,4,5 (là những lô phẫu thuật cắt bỏ thận) tăng nhưng chưa có ý nghĩa thống kê so với trước PT cũng như so với ở lô chứng PT ($p > 0,05$).

Sau uống thuốc 60 ngày, huyết áp tâm trương của chuột ở nhóm chứng PT là 109,56 ± 16,28 nhỏ hơn ở nhóm mô hình có huyết áp là 141,74 ± 22,61, sự khác biết này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Huyết áp tâm trương của chuột ở nhóm tham chiếu là 118,81 ± 22,50, nhóm TTGT-1 có huyết áp 122,45 ± 17,69, nhóm TTGT-2 có huyết áp 113,86 ± 16,32 lớn hơn nhóm chứng PT có huyết áp 109,56 ± 16,28, sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Huyết áp tâm trương của chuột ở nhóm tham chiếu là 118,81 ± 22,50, nhóm TTGT-1 có huyết áp 122,45 ± 17,69 nhỏ hơn nhóm mô hình có huyết áp 141,74 ± 22,61, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Nhóm TTGT-2 có huyết áp 113,86 ± 16,32 nhỏ hơn nhóm mô hình có huyết áp là 141,74 ± 22,61 sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Nhóm TTGT-1 có huyết áp 122,45 ± 17,69, nhóm TTGT-2 có huyết áp 113,86 ± 16,32 lớn hơn nhóm tham chiếu có huyết áp 118,81 ± 22,50, sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Nhóm TTGT-1 có huyết áp 122,45 ± 17,69 lớn hơn nhóm TTGT-2 có huyết áp 113,86 ± 16,32, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

- Tại thời điểm sau 60 ngày uống thuốc:

+ Huyết áp tâm trương của chuột ở lô chứng PT không tăng so với các thời điểm trước ($p > 0,05$).

+ Huyết áp tâm trương của chuột ở lô mô hình tăng cao so với ở lô chứng PT với $p < 0,001$; đồng thời tăng cao so với ở các thời điểm trước ($p < 0,001$ so với ở thời điểm trước phẫu thuật và $p < 0,01$ so với ở thời điểm 15 ngày sau PT lần 2).

+ So với ở lô mô hình, huyết áp tâm trương của chuột ở lô tham chiếu và lô TTGT-1 giảm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ và ở lô TTGT-2 giảm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

+ So sánh giữa 3 lô tham chiếu, TTGT-1 và TTGT-2, huyết áp tâm trương của chuột ở 3 lô này không có sự khác biệt ($p > 0,05$).

Bảng 3.15. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên huyết áp trung bình của chuột ($\bar{X}$ ± SD, n = 10 ở mỗi lô)

Lô nghiên cứu	Huyết áp trung bình của chuột (mmHg)			p_{b-a}	p_{c-a}	p_{c-b}
	Trước phẫu thuật (a)	15 ngày sau PT lần 2 (b)	Sau uống thuốc 60 ngày (c)			
Chứng PT (1)	105,90±14,26	103,96±16,07	112,41±11,79	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Mô hình (2)	107,72±12,37	118,52±16,62	147,80±17,08	> 0,05	<0,001	<0,01
Tham chiếu (3)	107,85±10,81	118,45±14,90	127,16±17,95	> 0,05	< 0,05	>0,05
TTGT-1 (4)	108,09±14,89	117,68±13,07	130,85±15,64	> 0,05	< 0,01	< 0,05
TTGT-2 (5)	107,94±12,40	117,89±14,96	123,42±13,39	> 0,05	< 0,05	> 0,05
P_{2-1}	> 0,05	> 0,05	< 0,001	-	-	-
$P_{3,4,5-1}$	> 0,05	> 0,05	> 0,05	-	-	-
$P_{3,4-2}$	> 0,05	> 0,05	< 0,05	-	-	-
P_{5-2}	> 0,05	> 0,05	< 0,01	-	-	-
$P_{4,5-3}$	> 0,05	> 0,05	> 0,05	-	-	-
P_{5-4}	> 0,05	> 0,05	> 0,05	-	-	-

Bảng 3.15 cho thấy trước phẫu thuật, huyết áp trung bình của chuột ở nhóm chứng PT là 105,90 ± 14,26 nhỏ hơn ở nhóm mô hình có huyết áp là 107,72 ± 12,37, song sự khác biết này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Huyết áp trung bình của chuột ở nhóm tham chiếu là 107,85 ± 10,81, nhóm TTGT-1 có huyết áp 108,09 ± 14,89, nhóm TTGT-2 có huyết áp 107,94 ± 12,40 lớn hơn nhóm chứng PT có huyết áp 105,90 ± 14,26, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p

>0,05. Huyết áp trung bình của chuột ở nhóm tham chiếu là 107,85 ± 10,81, nhóm TTGT-1 có huyết áp 108,09 ± 14,89 lớn hơn nhóm mô hình có huyết áp 107,72 ± 12,37, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có huyết áp 107,94 ± 12,40 lớn hơn nhóm mô hình có huyết áp 107,72 ± 12,37 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có huyết áp là 108,09 ± 14,89, nhóm TTGT-2 có huyết áp là 107,94 ± 12,40 lớn hơn nhóm tham chiếu có huyết áp 107,85 ± 10,81 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có huyết áp là 108,09 ± 14,89 lớn nhóm TTGT-2 có huyết áp là 107,94 ± 12,40 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

- Tại thời điểm trước phẫu thuật: huyết áp trung bình của chuột ở các lô là như nhau (p >0,05).

15 ngày sau phẫu thuật lần 2, huyết áp trung bình của chuột ở nhóm chứng PT là 103,96 ± 16,07 nhỏ hơn ở nhóm mô hình có huyết áp là 118,52 ± 16,62, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Huyết áp trung bình của chuột ở nhóm tham chiếu là 118,45 ± 14,90, nhóm TTGT-1 có huyết áp 117,68 ± 13,07, nhóm TTGT-2 có huyết áp 117,89 ± 14,96 lớn hơn nhóm chứng PT có huyết áp 103,96 ± 16,07, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Huyết áp trung bình của chuột ở nhóm tham chiếu là 118,45 ± 14,90, nhóm TTGT-1 có huyết áp 117,68 ± 13,07 nhỏ hơn nhóm mô hình có huyết áp 118,45 ± 14,90, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có huyết áp 117,89 ± 14,96 nhỏ hơn nhóm mô hình có huyết áp là 118,52 ± 16,62 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có huyết áp 117,68 ± 13,07, nhóm TTGT-2 có huyết áp 117,89 ± 14,96 nhỏ hơn nhóm tham chiếu có huyết áp là 118,45 ± 14,90 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có huyết áp là 117,89 ± 14,96 lớn hơn nhóm TTGT-1 có huyết áp 117,68 ± 13,07 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

- Tại thời điểm 15 ngày sau phẫu thuật lần 2 (trước uống thuốc): huyết áp trung bình của chuột ở các lô 2,3,4,5 (là những lô phẫu thuật cắt bỏ thận) tăng nhưng chưa có ý nghĩa thống kê so với trước PT cũng như so với ở lô chứng PT (p >0,05).

Sau uống thuốc 60 ngày, huyết áp trung bình của chuột ở nhóm chứng PT là 112,41 ± 11,79 nhỏ hơn ở nhóm mô hình có huyết áp là 147,80 ± 17,08, sự khác biết này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Huyết áp trung bình của chuột ở nhóm tham chiếu là 127,16 ± 17,95, nhóm TTGT-1 có huyết áp 130,85 ± 15,64, nhóm TTGT-2 có huyết áp 123,42 ± 13,39 lớn hơn nhóm chứng PT có huyết áp 112,41 ± 11,79, sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Huyết áp trung bình của chuột ở nhóm tham chiếu là 127,16 ± 17,95, nhóm TTGT-1 có huyết áp 130,85 ± 15,64 nhỏ hơn nhóm mô hình có huyết áp 147,80 ± 17,08, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Nhóm TTGT-2 có huyết áp 123,42 ± 13,39 nhỏ hơn nhóm mô hình có huyết áp là 147,80 ± 17,08 sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Nhóm TTGT-1 có huyết áp 130,85 ± 15,64 lớn nhóm TTGT-2 có huyết áp 123,42 ± 13,39 và nhóm tham chiếu có huyết áp 127,16 ± 17,95, sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có huyết áp 130,85 ± 15,64 lớn hơn nhóm TTGT-2 có huyết áp 123,42 ± 13,39, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

- Tại thời điểm sau 60 ngày uống thuốc:

+ Huyết áp trung bình của chuột ở lô chứng PT không tăng so với các thời điểm trước (p >0,05).

+ Huyết áp trung bình của chuột ở lô mô hình tăng cao so với ở lô chứng PT với p <0,001; đồng thời tăng cao so với ở các thời điểm trước (p <0,001 so với ở thời điểm trước phẫu thuật và p <0,01 so với ở thời điểm 15 ngày sau PT lần 2).

+ So với ở lô mô hình, huyết áp trung bình của chuột ở lô tham chiếu và lô TTGT-1 giảm có ý nghĩa thống kê với p <0,05 và ở lô TTGT-2 giảm có ý nghĩa thống kê với p <0,01.

+ So sánh giữa 3 lô tham chiếu, TTGT-1 và TTGT-2, huyết áp trung bình của chuột ở 3 lô này không có sự khác biệt (p >0,05).

3.2.5. Kết quả đánh giá một số chỉ số nước tiểu của chuột

Kết quả được trình bày ở các bảng 3.10, 3.11

Bảng 3.16. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên số lượng nước tiểu 24h của chuột ($\overline{X}$ ± SD, n = 10 ở mỗi lô)

Lô nghiên cứu	Số lượng nước tiểu 24h (ml)			p_{b-a}	p_{c-a}	p_{c-b}
	Trước phẫu thuật (a)	15 ngày sau PT lần 2 (b)	Sau uống thuốc 60 ngày (c)			
Chứng PT (1)	14,93± 3,12	13,65±2,97	15,01 ± 4,17	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Mô hình (2)	14,77± 3,63	21,15±2,63	30,28± 5,68	< 0,05	< 0,001	< 0,01
Tham chiếu (3)	13,97± 3,01	20,89±4,06	21,13 ± 3,07	< 0,05	< 0,05	> 0,05
TTGT-1 (4)	15,09± 4,02	21,94±3,97	23,08 ± 3,76	< 0,05	< 0,05	> 0,05
TTGT-2 (5)	15,36± 3,84	21,05±2,85	20,97 ± 3,31	< 0,05	< 0,05	> 0,05
P_{2-1}	> 0,05	< 0,05	< 0,001	-	-	-
$P_{3,4,5-1}$	> 0,05	< 0,05	< 0,01	-	-	-
$P_{3,4,5-2}$	> 0,05	> 0,05	< 0,05	-	-	-
$P_{4,5-3}$	> 0,05	> 0,05	> 0,05	-	-	-
P_{5-4}	> 0,05	> 0,05	> 0,05	-	-	-

Bảng 3.16 cho thấy trước phẫu thuật, số lượng nước tiểu 24h của chuột ở nhóm chứng PT là 14,93 ± 3,12 nhỏ hơn ở nhóm mô hình có số lượng 14,77 ± 3,63, song sự khác biết này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Số lượng nước tiểu 24h của chuột ở nhóm tham chiếu là 13,97 ± 3,01 nhỏ hơn nhóm TTGT-1 có số lượng 15,09 ± 4,02, nhóm TTGT-2 có số lượng 15,36 ± 3,84 và nhóm chứng PT có số

lượng 14,93 ± 3,12, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Số lượng nước tiểu 24h của chuột ở nhóm tham chiếu là 13,97 ± 3,01 nhỏ hơn nhóm TTGT-1 có số lượng 15,09 ± 4,02, nhóm TTGT-2 có số lượng 15,36 ± 3,84 và nhóm mô hình có số lượng 14,77 ± 3,63, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có số lượng nước tiểu 24h là 15,09 ± 4,02, nhóm TTGT-2 có số lượng là 15,36 ± 3,84 lớn hơn nhóm tham chiếu có số lượng là 13,97 ± 3,01 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có số lượng là 15,09 ± 4,02 nhỏ hơn nhóm TTGT-2 có số lượng là 15,36 ± 3,84 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

- Tại thời điểm trước phẫu thuật: số lượng nước tiểu 24h của chuột ở các lô là như nhau (p >0,05).

15 ngày sau phẫu thuật lần 2, số lượng nước tiểu 24h của chuột ở nhóm chứng PT là 13,65 ± 2,97 nhỏ hơn ở nhóm mô hình có số lượng là 21,15 ± 2,63, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Số lượng nước tiểu 24h của chuột ở nhóm tham chiếu là 20,89 ± 4,06, nhóm TTGT-1 có số lượng 21,94 ± 3,97, nhóm TTGT-2 có số lượng 21,05 ± 2,85 lớn hơn nhóm chứng PT có số lượng 13,65 ± 2,97, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Số lượng nước tiểu 24h của chuột ở nhóm tham chiếu là 20,89 ± 4,06 nhỏ hơn nhóm TTGT-1 có số lượng 21,94 ± 3,97, nhóm TTGT-2 có số lượng 21,05 ± 2,85 và nhóm mô hình có số lượng 21,15 ± 2,63, song sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có số lượng nước tiểu 24h là 21,94 ± 3,97, nhóm TTGT-2 có số lượng 21,05 ± 2,85 lớn hơn nhóm tham chiếu có số lượng 20,89 ± 4,06, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có số lượng 21,05 ± 2,85 nhỏ hơn nhóm TTGT-1 có số lượng 21,94 ± 3,97 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

- Tại thời điểm 15 ngày sau phẫu thuật lần 2 (trước uống thuốc): số lượng nước tiểu 24h của chuột ở các lô 2,3,4,5 (là những lô phẫu thuật cắt bỏ thận) tăng có ý nghĩa thống kê so với trước PT cũng như so với ở lô chứng PT với p <0,05.

Sau uống thuốc 60 ngày, số lượng nước tiểu 24h ở nhóm chứng PT là 15,01 ± 4,17 nhỏ hơn ở nhóm mô hình có số lượng là 30,28 ± 5,68, sự khác biết này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Số lượng nước tiểu 24h của chuột ở nhóm tham chiếu là 21,13 ± 3,07, nhóm TTGT-1 có số lượng 23,08 ± 3,76, nhóm TTGT-2 có số lượng 20,97 ± 3,31 lớn hơn nhóm chứng PT có số lượng 15,01 ± 4,17, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Số lượng nước tiểu 24h của chuột ở nhóm tham chiếu là 21,13 ± 3,07, nhóm TTGT-1 có số lượng 23,08 ± 3,76, nhóm TTGT-2 có số lượng 20,97 ± 3,31 lớn hơn nhóm mô hình có số lượng 30,28 ± 5,68, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Nhóm TTGT-2 có số lượng 20,97 ± 3,31 nhỏ hơn nhóm TTGT-1 có số lượng 23,08 ± 3,76 và nhóm tham chiếu có số lượng 21,13 ± 3,07, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có số lượng 23,08 ± 3,76 lớn nhóm TTGT-2 có số lượng 20,97 ± 3,31, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

- Tại thời điểm sau 60 ngày uống thuốc:

+ Số lượng nước tiểu 24h của chuột ở lô chứng PT không tăng so với các thời điểm trước (p >0,05).

+ Số lượng nước tiểu 24h của chuột ở lô mô hình tăng cao so với ở lô chứng PT với p <0,001; đồng thời tăng cao so với ở các thời điểm trước (p <0,001 so với ở thời điểm trước phẫu thuật và p <0,01 so với ở thời điểm 15 ngày sau PT lần 2).

+ So với ở lô mô hình, số lượng nước tiểu 24h của chuột ở lô tham chiếu và các lô TTGT-1, TTGT-2 giảm có ý nghĩa thống kê với p <0,01.

+ So sánh giữa 3 lô tham chiếu, TTGT-1 và TTGT-2, số lượng nước tiểu 24h của chuột ở 3 lô này không có sự khác biệt (p >0,05).

Bảng 3.17. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên protein niệu 24h của chuột ($\overline{X}$ ± SD, n = 10 ở mỗi lô)

Lô nghiên cứu	Protein niệu 24h của chuột (mg/24h)			p_{b-a}	p_{c-a}	p_{c-b}
	Trước phẫu thuật (a)	15 ngày sau PT lần 2 (b)	Sau uống thuốc 60 ngày (c)			
Chứng PT (1)	235,68±42,32	243,27±37,42	252,03±41,27	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Mô hình (2)	219,85±39,75	358,31±52,45	482,19±58,66	< 0,05	<0,001	<0,01
Tham chiếu(3)	251,12±40,58	364,62±55,12	376,82±51,84	< 0,05	< 0,05	> 0,05
TTGT-1 (4)	208,96±36,83	349,84±43,96	361,96±45,76	< 0,05	< 0,05	> 0,05
TTGT-2 (5)	261,09±32,64	351,86±54,16	358,13±53,26	< 0,05	< 0,05	> 0,05
P_{2-1}	> 0,05	< 0,05	< 0,001	-	-	-
$P_{3,4,5-1}$	> 0,05	< 0,05	< 0,01	-	-	-
$P_{3,4,5-2}$	> 0,05	> 0,05	< 0,05	-	-	-
$P_{4,5-3}$	> 0,05	> 0,05	> 0,05	-	-	-
P_{5-4}	> 0,05	> 0,05	> 0,05	-	-	-

Bảng 3.17 cho thấy trước phẫu thuật, protein niệu 24h của chuột ở nhóm chứng PT là 235,68 ± 42,32 lớn hơn ở nhóm mô hình có số lượng 219,85 ± 39,75, song sự khác biết này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Protein niệu 24h của chuột ở nhóm nhóm TTGT-1 là 208,96 ± 36,83 nhỏ hơn nhóm chứng PT có số lượng 235,68 ± 42,32, nhóm tham chiếu có số lượng 251,12 ± 40,58 và nhóm TTGT-2 có số lượng 261,09 ± 32,64, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Protein niệu 24h của chuột ở nhóm nhóm TTGT-1 là 208,96 ± 36,83 nhỏ hơn nhóm mô hình có số lượng 219,85 ± 39,75, nhóm tham chiếu có số lượng 251,12 ± 40,58 và nhóm TTGT-2 có số lượng 261,09 ± 32,64, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có protein niệu 24h là 208,96 ± 36,83 nhỏ hơn nhóm TTGT-2 có số lượng là 261,09 ± 32,64 và nhóm tham chiếu có số lượng là 251,12 ± 40,58 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có số lượng là 208,96 ± 36,83 nhỏ hơn nhóm TTGT-2 có số lượng là 261,09 ± 32,64 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

- Tại thời điểm trước phẫu thuật: protein niệu 24h của chuột ở các lô là như nhau (p >0,05).

15 ngày sau phẫu thuật lần 2, protein niệu 24h của chuột ở nhóm chứng PT là 243,27 ± 37,42 nhỏ hơn ở nhóm mô hình có số lượng là 358,31 ± 52,45, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Protein niệu 24h của chuột ở nhóm tham chiếu là 364,62 ± 55,12, nhóm TTGT-1 có số lượng 349,84 ± 43,96, nhóm TTGT-2 có số lượng 351,86 ± 54,16 lớn hơn nhóm chứng PT có số lượng 243,27 ± 37,42, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Protein niệu 24h của chuột ở nhóm TTGT-1 là 349,84 ± 43,96 nhỏ hơn nhóm TTGT-2 có số lượng 351,86 ± 54,16, nhóm mô hình có số lượng 358,31 ± 52,45 và nhóm tham chiếu có số lượng 364,62 ± 55,12, song sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-1 có số lượng protein niệu 24h là 349,84 ± 43,96, nhóm TTGT-2 có số lượng 351,86 ± 54,16 lớn hơn nhóm tham chiếu có số lượng 364,62 ± 55,12, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05. Nhóm TTGT-2 có số lượng 351,86 ± 54,16 lớn hơn nhóm TTGT-1 có số lượng 349,84 ± 43,96 song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

- Tại thời điểm 15 ngày sau phẫu thuật lần 2 (trước uống thuốc): protein niệu 24h của chuột ở các lô 2,3,4,5 (là những lô phẫu thuật cắt bỏ thận) tăng có ý nghĩa thống kê so với trước PT cũng như so với ở lô chứng PT với p <0,05.

Sau uống thuốc 60 ngày, protein niệu 24h ở nhóm chứng PT là 252,03 ± 41,27 nhỏ hơn ở nhóm mô hình có số lượng là 482,19 ± 58,66, sự khác biết này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Protein niệu 24h của chuột ở nhóm tham chiếu là 376,82 ± 51,84, nhóm TTGT-1 có số lượng 361,96 ± 45,76, nhóm TTGT-2 có số lượng 358,13 ± 53,26 lớn hơn nhóm chứng PT có số lượng 252,03 ± 41,27, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Protein niệu 24h của chuột ở nhóm tham chiếu là 376,82 ± 51,84, nhóm TTGT-1 có số lượng 361,96 ± 45,76, nhóm TTGT-2 có số lượng 358,13 ± 53,26 nhỏ hơn nhóm mô hình có số lượng 482,19 ± 58,66, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p <0,05. Nhóm tham chiếu có số lượng 376,82 ± 51,84 lớn hơn nhóm TTGT-1 có số lượng 361,96 ± 45,76 và nhóm TTGT-2 có số lượng 358,13 ± 53,26, song sự khác biệt này ko có ý nghĩa thống kê với p

>0,05. Nhóm TTGT-1 có số lượng 361,96 ± 45,76 lớn nhóm TTGT-2 có số lượng 358,13 ± 53,26, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p >0,05.

- Tại thời điểm sau 60 ngày uống thuốc:

+ Protein niệu 24h của chuột ở lô chứng PT không tăng so với các thời điểm trước (p >0,05).

+ Protein niệu 24h của chuột ở lô mô hình tăng cao so với ở lô chứng PT với p <0,001; đồng thời tăng cao so với ở các thời điểm trước (p <0,001 so với ở thời điểm trước phẫu thuật và p < 0,01 so với ở thời điểm 15 ngày sau PT lần 2).

+ So với ở lô mô hình, protein niệu 24h của chuột ở lô tham chiếu và các lô TTGT-1, TTGT-2 giảm có ý nghĩa thống kê với p <0,01.

+ So sánh giữa 3 lô tham chiếu, TTGT-1 và TTGT-2, protein niệu của chuột ở 3 lô này không có sự khác biệt (p >0,05).

3.2.6. Kết quả đánh giá cân nặng và vi thể thận chuột

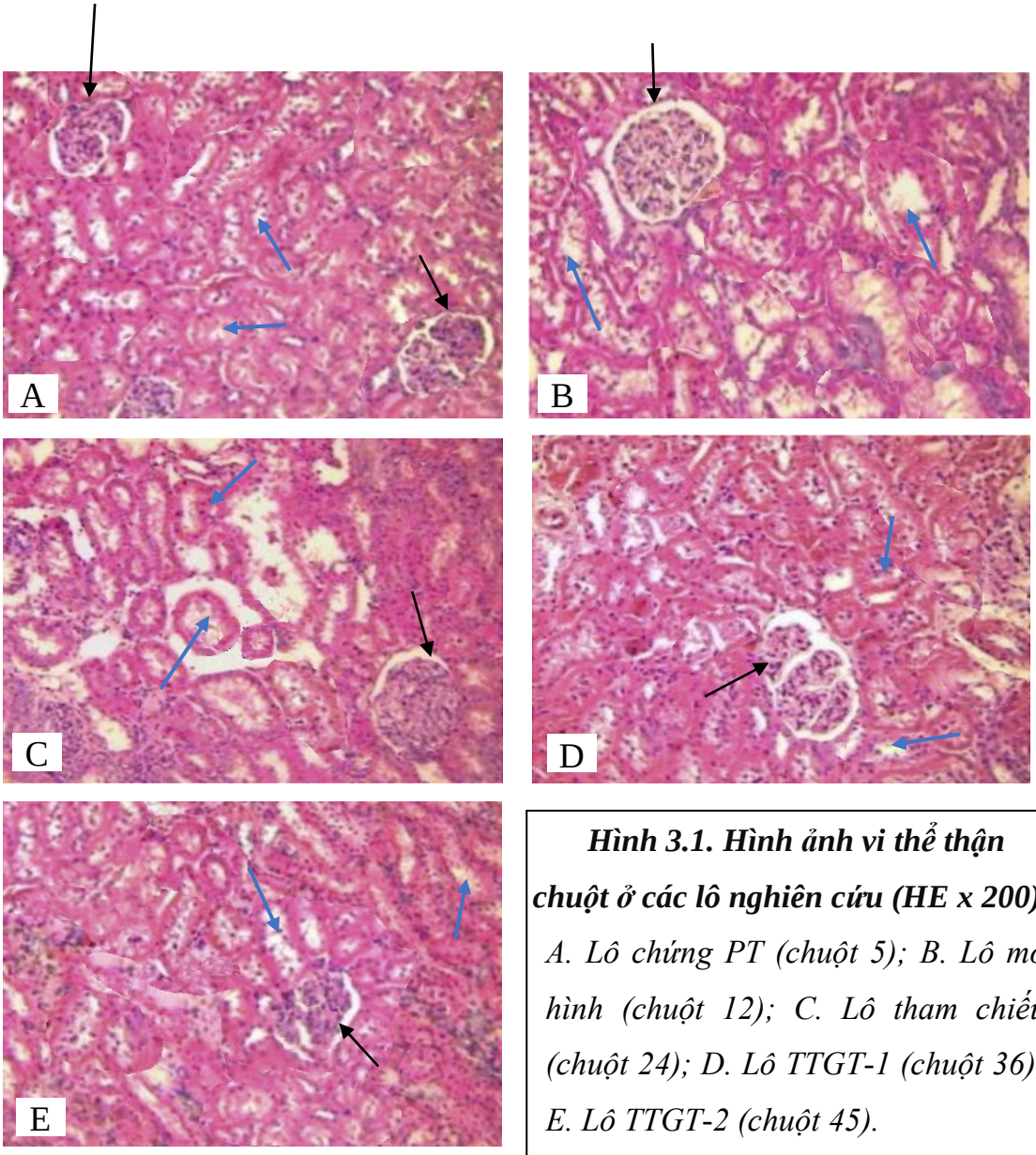
Kết quả được trình bày ở bảng 3.12 và ảnh 3.1

Bảng 3.18. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên cân nặng thận chuột ($\bar{X}$ ± SD, n = 10 ở mỗi lô)

Lô nghiên cứu	Cân nặng thận chuột (g/100g chuột)	% giảm so với lô mô hình
Mô hình (2)	0,396 ± 0,046	-
Tham chiếu (3)	0,341 ± 0,042	13,89 %
TTGT-1 (4)	0,336 ± 0,051	15,15 %
TTGT-2 (5)	0,331 ± 0,049	16,41 %
$P_{3,4,5-2}$	< 0,05	-
$P_{4,5-3}$	> 0,05	-
P_{5-4}	> 0,05	-

- So với lô mô hình, cân nặng thận chuột ở các lô tham chiếu, TTGT-1, TTGT-2 giảm lần lượt là 13,89%; 15,15% và 16,41%, khác biệt có ý nghĩa thống kê với p <0,05.

+ So sánh giữa 3 lô tham chiếu, TTGT-1 và TTGT-2, cân nặng thận chuột ở 3 lô này không có sự khác biệt (p >0,05).



Hình 3.1. Hình ảnh vi thể thận chuột ở các lô nghiên cứu (HE x 200)

A. Lô chứng PT (chuột 5); B. Lô mô hình (chuột 12); C. Lô tham chiếu (chuột 24); D. Lô TTGT-1 (chuột 36); E. Lô TTGT-2 (chuột 45).

1. Cầu thận (mũi tên đen)

2. Ống thận (mũi tên xanh)

- Hình ảnh cấu trúc mô học của thận chuột ở lô chứng PT (ảnh A) cho thấy nhu mô thận bình thường, vỏ thận có các cầu thận, các ống thận và các mạch máu giữa các ống thận với cấu trúc bình thường.

- Hình ảnh cấu trúc mô học của thận chuột ở lô mô hình (ảnh B) cho thấy giãn mô kẽ, phì đại cầu thận, giãn lòng ống thận.

- Hình ảnh cấu trúc mô học của thận chuột ở các lô tham chiếu (ảnh C), lô TTGT-1 (ảnh D), lô TTGT-2 (ảnh E) thấy các tổn thương ở thận được cải thiện rõ so với ở lô mô hình (ảnh B).

Chương 4
BÀN LUẬN

4.1. Bàn luận về độc tính cấp của cao khô "thăng thanh giáng trọc"

Theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới, ngoại trừ các bài thuốc cổ phương được bào chế theo các phương pháp truyền thống, tất cả các loại thuốc có nguồn gốc từ dược liệu đều bắt buộc phải trải qua các thử nghiệm đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn trên động vật thực nghiệm trước khi được phép tiến hành thử nghiệm trên người. Điều này nhằm đảm bảo tính an toàn của thuốc trước khi đưa vào sử dụng trên lâm sàng. Cao khô "thăng thanh giáng trọc" được bào chế dựa trên một bài thuốc nghiệm phương, không thuộc nhóm các bài thuốc cổ phương theo truyền thống, vì vậy nó cũng cần phải được đánh giá một cách chi tiết về độc tính cấp trên mô hình động vật trước khi tiến hành bất kỳ thử nghiệm nào trên con người. Đây là bước cần thiết để đảm bảo sự an toàn và hiệu quả trong quá trình nghiên cứu và phát triển dược phẩm có nguồn gốc từ dược liệu.

Trong nghiên cứu, cả chuột đực và chuột cái đều được lựa chọn nhằm đảm bảo kết quả có thể đại diện cho cả hai giới tính. Đường dùng thuốc được lựa chọn là đường uống, trùng khớp với phương pháp sẽ được sử dụng trên người trong các thử nghiệm tiếp theo. Để bảo đảm chuột nhận được một lượng thuốc lớn với độ chính xác cao khi sử dụng đường uống, quy trình cưỡng bức đưa thuốc trực tiếp vào dạ dày qua một loại kim chuyên dụng có đầu cong và tù được áp dụng. Tuy nhiên, phương pháp này đòi hỏi sự cẩn thận vì nếu thực hiện không đúng cách, có thể gây tổn thương niêm mạc đường tiêu hóa của chuột, dẫn đến xuất huyết hoặc thậm chí thủng dạ dày. Ngoài ra, một nguy cơ khác là việc thuốc có thể vô tình đi vào đường hô hấp, gây sặc hoặc suy hô hấp, dẫn đến tử vong cho chuột. Bên cạnh đó, thao tác bắt và giữ chuột cũng đòi hỏi phải được thực hiện cẩn trọng, vì nếu kỹ thuật không tốt, chuột có thể bị tổn thương hoặc thậm chí tử vong do stress hoặc chấn thương cơ học. Để tránh các rủi ro trên, toàn bộ quá trình này được giao cho một kỹ thuật viên có nhiều kinh nghiệm đảm trách. Người thực hiện phải có kỹ năng thành thạo để bảo đảm thuốc được đưa vào dạ dày của chuột đúng cách, với liều lượng chính xác

mà không gây bất kỳ tổn thương nào cho chuột. Nhờ vậy, sự an toàn của chuột trong suốt quá trình nghiên cứu được đảm bảo tối đa, đồng thời kết quả thử nghiệm cũng đạt được độ chính xác cao nhất có thể [56].

Quá trình theo dõi và đánh giá tình trạng sức khỏe chung của chuột trong thí nghiệm, cũng như ghi nhận số lượng chuột chết trong từng nhóm nghiên cứu, đòi hỏi sự cẩn trọng cao độ và kinh nghiệm dày dặn từ phía các nghiên cứu viên. Công việc này cần được thực hiện thường xuyên và liên tục, nhằm phát hiện kịp thời những dấu hiệu bất thường liên quan đến độc tính của thuốc, tránh bỏ sót bất kỳ biểu hiện nào có thể cho thấy tác động xấu đến chuột thí nghiệm. Để đảm bảo hiệu quả trong quá trình giám sát, chúng tôi luôn phân chia ca trực sao cho mỗi ca đều có ít nhất hai nghiên cứu viên có kinh nghiệm theo dõi cùng lúc. Nhờ vậy, quá trình giám sát diễn ra liên tục, không có sự gián đoạn, và đảm bảo mọi diễn biến bất thường đều được ghi nhận kịp thời. Đồng thời, việc chuẩn bị các bước phẫu tích chuột luôn sẵn sàng trong trường hợp có bất kỳ chuột nào tử vong trong quá trình thí nghiệm. Điều này cho phép chúng tôi nhanh chóng thực hiện phẫu tích ngay khi cần, từ đó xác định nguyên nhân gây tử vong chính xác nhất. Các nguyên nhân có thể dẫn đến chuột chết trong thí nghiệm về độc tính cấp thường bao gồm nhiều yếu tố liên quan đến phản ứng của thuốc. Ví dụ, độc tính của thuốc có thể gây kích thích hệ thần kinh, dẫn đến hiện tượng chuột bị co giật, suy hô hấp và tử vong. Ngoài ra, suy gan, suy thận, hoặc rối loạn chức năng do mất cân bằng điện giải sau khi chuột bị đi lỏng nhiều cũng có thể là nguyên nhân. Các tổn thương vật lý khác như tắc ruột hoặc xuất huyết nội tạng cũng là những yếu tố nguy hiểm có thể gây tử vong. Tuy nhiên, trong nghiên cứu về độc tính cấp của cao khô "thăng thanh giáng trọc", chúng tôi ghi nhận rằng không có chuột nào bị tử vong trong suốt quá trình thí nghiệm. Do đó, không có hiện tượng nào liên quan đến các nguyên nhân gây tử vong kể trên được phát hiện. Kết quả này cho thấy rằng, ít nhất trong phạm vi nghiên cứu này, cao khô "thăng thanh giáng trọc" không gây ra bất kỳ tác động độc tính cấp tính nghiêm trọng nào đối với chuột thí nghiệm. Điều này là một bước quan trọng trong việc đánh giá tính an toàn của thuốc trước khi tiếp tục các bước thử nghiệm trên người trong tương lai.

Nghiên cứu về độc tính cấp theo đường uống của cao khô "thăng thanh giáng trọc" trên chuột nhắt trắng đã cung cấp những kết quả đáng khích lệ. Cụ thể, chuột được cho uống thuốc với liều lượng lên đến 30,0g/kg thể trọng, đây là mức liều tối đa có thể áp dụng qua đường uống để kiểm tra độc tính cấp của mẫu thử. Trong suốt quá trình nghiên cứu, không có trường hợp chuột nào tử vong, và cũng không ghi nhận bất kỳ triệu chứng bất thường nào trong vòng 72 giờ sau khi chuột được cho uống liều cuối cùng, cũng như trong khoảng thời gian theo dõi kéo dài 7 ngày sau đó. Điều này cho thấy, cao khô "thăng thanh giáng trọc" không gây ra bất kỳ tác động độc tính cấp tính rõ rệt nào ở liều lượng cao nhất mà chuột có thể tiếp nhận qua đường uống trong 24 giờ, với mức liều lên đến 30,0g/kg thể trọng – gấp 23,6 lần so với liều dự kiến có tác dụng. Đặc biệt, trong quá trình theo dõi, các chuột vẫn duy trì tình trạng sức khỏe ổn định, biểu hiện bề ngoài hoàn toàn bình thường với lông mượt, mắt sáng trong, ăn uống đầy đủ và hoạt động như thường lệ. Không có dấu hiệu bất thường nào về sức khỏe hoặc hoạt động sống của chuột được phát hiện. Vì vậy, nghiên cứu đã không thể xác định được giá trị LD_{50} (liều lượng gây chết 50% số động vật thử nghiệm) cho cao khô "thăng thanh giáng trọc" qua đường uống, cho thấy thuốc có độ an toàn rất cao trong phạm vi thí nghiệm. Kết quả này cũng phản ánh tính an toàn của bài thuốc "thăng thanh giáng trọc" khi sử dụng ở dạng thuốc sắc truyền thống. Trên lâm sàng, chưa có bất kỳ báo cáo nào về các tác dụng phụ nghiêm trọng ở bệnh nhân như đau đầu, đau bụng, buồn nôn, mẩn ngứa, phù nề hay sốc thuốc. Điều này đồng nhất với những kết luận từ các nghiên cứu trước đó cũng như phù hợp với tiêu chuẩn của Dược điển Việt Nam V. Cao khô "thăng thanh giáng trọc" được xác định không có tính độc, nên dùng an toàn cho người bệnh. Những phát hiện này không chỉ củng cố niềm tin vào độ an toàn của cao khô "thăng thanh giáng trọc" mà còn là cơ sở để tiếp tục các thử nghiệm lâm sàng trên người bệnh.

Việc chưa tìm thấy LD_{50} của cao khô "thăng thanh giáng trọc" theo đường uống trên chuột nhắt trắng với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24h là 30,0g/kg, gấp 23,6 lần mức liều dự kiến có hiệu quả, cùng với việc không phát hiện thấy các biểu hiện bất thường của tình trạng bị độc khi dùng mẫu thử liều cao,

chứng tỏ cao khô "thăng thanh giáng trọc" có tính an toàn cao. Kết quả này thực hiện được nội dung trong mục tiêu 1 của đề tài nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với việc sử dụng bài thuốc "thăng thanh giáng trọc" dạng thuốc sắc truyền thống nhiều năm tại khoa Thận tiết niệu bệnh viện Tuệ Tĩnh và nghiên cứu của Lê Thị Thanh Nhạn, Vũ Hoàng Long (2011), chưa phát hiện bệnh nhân nào có biểu hiện ngộ độc trên lâm sàng.

4.2. Bàn luận về tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" trên mô hình bệnh thận mạn cắt 5/6 thận chuột

4.2.1. Về mô hình thực nghiệm

Bệnh thận mạn là một bệnh phổ biến và nguy kịch trên thực hành lâm sàng. Trong những năm gần đây khi tỷ lệ mắc BTM ngày càng tăng lên hàng năm, nghiên cứu về cơ chế bệnh sinh cũng như các biện pháp phòng ngừa và điều trị BTM đã trở thành chủ đề nóng trong cộng đồng y tế trong và ngoài nước. Hiện nay nhiều tác giả trong và ngoài nước đã nghiên cứu mô hình BTM trên động vật. Các mô hình BTM đã được tạo ra thành công ở nhiều loại động vật như chuột nhắt, thỏ, và các phương pháp được sử dụng chủ yếu bao gồm các phương pháp vật lý, hóa học, sinh học. Trong đó phương pháp cắt thận 5/6 và phương pháp adenine thường được sử dụng trong các thí nghiệm.

Phương pháp cắt thận 5/6 còn gọi là phương pháp Platt, do Platt thiết lập thành công mô hình BTM bằng phẫu thuật cắt 5/6 thận chuột lần đầu tiên vào năm 1952. Mô hình này về cơ bản phù hợp với điều kiện nghiên cứu của Việt Nam, cơ chế gây mô hình cơ bản giống với cơ chế bệnh sinh của BTM trên người. Do vậy, chúng tôi đã lựa chọn mô hình tiến hành theo mô tả của Lu, J. R và cộng sự (2014).

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy sau 2 tuần phẫu thuật cắt 5/6 thận chuột, nồng độ ure, creatinine trong máu chuột tăng, thể tích nước tiểu 24h và protein 24h của chuột tăng. Đây là những chỉ số quan trọng để đánh giá tổn thương chức năng thận. Kết quả đánh giá về các chỉ số này của chúng tôi khi gây mô hình hoàn toàn phù hợp với các tác giả khác [55], [57]. Trong nghiên cứu của các tác giả chúng tôi chưa tìm thấy tiêu chuẩn để xác định mô hình thành công trước khi cho chuột dùng thuốc nghiên cứu, tuy nhiên các kết quả nghiên cứu về xét nghiệm máu,

nước tiểu, mô bệnh học thận...đều có tương đối đầy đủ và rõ nét các biểu hiện của bệnh thận mạn. Có lẽ việc cắt bỏ 5/6 thận, chỉ còn để lại 1/6 thận chính là một tổn thương thận khá lớn, là một tổn thương ổn định ở tất cả các chuột và không thể hồi phục, với kết quả tất yếu là diễn biến của bệnh thạn mạn tính tiến triển. Mô hình gây bệnh thận mạn bằng cắt 5/6 thận chuột cống trắng trước đây cũng đã được triển khai tại Bộ môn Dược lý, Học viện Quân y, với kết quả các chỉ số ure, creatinine máu và protein niệu 24h của chuột tăng từ 1,5 đến 2 lần so với trước phẫu thuật. Mức độ tăng từ 1,5 lần trở lên có thể được xem là mức tăng rõ của tính trạng trạng bệnh lý. Vì vậy, để quy chuẩn mô hình, chúng tôi lựa chọn chỉ tiêu đánh giá mô hình thực hiện thành công ngoài tiêu chuẩn chuột sống, vết mổ khô liền sẹo tốt có bổ sung thêm tiêu chuẩn có một trong các biểu hiện của suy chức năng thận: ure máu, creatinin máu, protein niệu 24h tăng trên hoặc bằng 1,5 lần so với trước phẫu thuật. Kết quả đánh giá huyết áp tâm thu, huyết áp tâm trương, huyết áp trung bình của chuột tại thời điểm 2 tuần sau phẫu thuật trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy các chỉ số huyết áp tăng nhưng chưa có ý nghĩa thống kê. Các chỉ số huyết áp chỉ tăng rõ rệt ở thời điểm cuối của nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu này của chúng tôi phù hợp với kết quả nghiên cứu của Kohei Hayashi và cộng sự (2020) [58], và cũng cho thấy diễn biến gây bệnh thận tiến triển của mô hình. Cùng với thời gian, các biểu hiện bệnh thận càng tiến triển. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tính từ lúc bắt đầu phẫu thuật gây tổn thương thận đến khi kết thúc thí nghiệm là 3 tháng (90 ngày), và biểu hiện tổn thương thận tiến triển dần thành mạn tính. Kết quả các chỉ số huyết áp tăng cao, cùng với biểu hiện thiếu máu rõ rệt của chuột, kết hợp với hình ảnh tổn thương mô bệnh học thận ở lô mô hình là minh chứng rõ nét cho bệnh thận mạn tính trên chuột nghiên cứu.

Như vậy với mô hình mà chúng tôi áp dụng trong nghiên cứu này thì kết quả gây BTM trên chuột rõ rệt và phù hợp với cơ chế bệnh sinh trên người, được xem là mô hình phù hợp trong điều kiện nghiên cứu trong nước cũng như là mô hình hiện đang được nhiều tác giả sử dụng và công bố trên các tạp chí quốc tế, có tính cập nhật tốt. Thuốc nghiên cứu sử dụng trong mô hình này được đánh giá tác dụng dự phòng, ngăn chặn, làm giảm tiến triển của bệnh.

4.2.2. Về tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" trên mô hình bệnh thận mạn cắt 5/6 thận chuột

4.2.2.1. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên tình trạng chung của chuột

Khi nghiên cứu tác dụng của thuốc trên thực nghiệm, các chỉ số về tình trạng chung của động vật thực nghiệm là bắt buộc và định kỳ trong thời gian dùng thuốc. 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.

Kết quả đánh giá cho thấy chuột ở các lô phẫu thuật gây mô hình có biểu hiện xù lông, lông sạm màu, hoạt động và ăn uống giảm, với tình trạng xấu đi theo thời gian. Trong khi đó, chuột ở các lô tham chiếu (dùng enalapril) và các lô dùng TTGT có cải thiện tốt hơn, ít xù lông hơn và hoạt động, ăn uống tốt hơn so với lô mô hình.

Cơ chế bệnh sinh của bệnh thận mạn liên quan đến các tổn thương thận gây ra phản ứng viêm, xơ hóa cầu thận từng vùng, xơ hóa ống thận và mô kẽ [59]. Thành phần cao khô "thăng thanh giáng trọc" bao gồm các vị thuốc như hoàng kỳ, thổ phục linh, trúc nhự, đan sâm, tằm sa, ngưu tất đã được sử dụng lâu dài như thuốc kháng khuẩn, chống viêm và chống oxy hóa. Những tác dụng này góp phần làm giảm quá trình xơ hóa cầu thận, hạn chế sự tiến triển tổn thương thận trong mô hình bệnh thận mạn trên chuột thực nghiệm, đồng thời cải thiện tình trạng ăn uống, hoạt động, sức khỏe lông, da, niêm mạc và chất tiết của chuột.

4.2.2.2. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên cân nặng của chuột

Tại thời điểm ban đầu, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê về cân nặng giữa các lô ($p > 0,05$), điều này cho thấy mô hình chuột được chuẩn bị đồng đều, giúp đảm bảo tính khách quan trong việc đánh giá tác động của các biện pháp can thiệp. Sau phẫu thuật cắt bỏ 5/6 thận, cân nặng của chuột trong các lô phẫu thuật (lô 2, 3, 4, 5) có xu hướng nhỏ hơn so với lô chứng PT. Điều này có thể do tác động của việc mất thận đến tình trạng sức khỏe và quá trình chuyển hóa của chuột. Tuy nhiên, vì cân nặng của thận cắt bỏ nhỏ so với cân nặng tổng thể của chuột, nên chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p >0,05$). Tại thời điểm 15 ngày sau phẫu thuật

lần 2, chuột trong các lô phẫu thuật cắt bỏ thận không có sự tăng cân, trong khi lô chứng PT cho thấy chuột có xu hướng tăng cân. Kết quả này cho thấy rằng việc cắt bỏ 5/6 thận đã có tác động tiêu cực đến quá trình phát triển của chuột, làm giảm khả năng chuyển hóa và tích trữ năng lượng của cơ thể, dẫn đến sự suy giảm cân nặng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Sau 60 ngày uống thuốc, cân nặng của chuột trong các lô dùng thuốc đã tăng có ý nghĩa thống kê so với thời điểm trước khi uống thuốc ($p < 0,05$), trong khi cân nặng của chuột trong lô mô hình không tăng. Sự khác biệt rõ rệt này cho thấy thuốc đã có hiệu quả trong việc cải thiện tình trạng chuyển hóa và giúp chuột tăng cân, đồng thời khẳng định tính ưu việt của việc sử dụng thuốc so với lô không dùng thuốc ($p < 0,05$). Nghiên cứu cho thấy rằng phẫu thuật cắt bỏ 5/6 thận có ảnh hưởng tiêu cực đến cân nặng và quá trình phát triển của chuột. Việc sử dụng thuốc đã có hiệu quả trong việc giúp chuột tăng cân trở lại sau khi bị suy giảm cân nặng do phẫu thuật.

Như vậy kết quả nghiên cứu cho thấy cao khô "thăng thanh giáng trọc" giúp cải thiện cân nặng của chuột sau phẫu thuật.

4.2.2.3. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên nồng độ ure huyết thanh của chuột

Tăng nồng độ ure trong máu gặp phổ biến trong các bệnh nhân có giảm lọc. Mỗi ngày cơ thể tự thoái hóa một lượng protein đáng kể để tạo ra hàng chục gram ure nội sinh, chưa kể số ure có nguồn gốc ngoại sinh (từ protein thức ăn). Nhờ sự đào thải liên tục của thận, nồng độ ure-huyết bình thường chỉ khoảng 0,20 hay 0,30g/l và sẽ tăng lên khi suy thận [60].

Trước phẫu thuật, nồng độ ure huyết thanh của chuột ở các lô không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Điều này cho thấy các chuột trong nghiên cứu có tình trạng sinh lý tương đồng, tạo nền tảng cho việc so sánh tác động của can thiệp phẫu thuật và thuốc. Sau 15 ngày kể từ khi phẫu thuật cắt bỏ thận (lần 2), nồng độ ure huyết thanh ở các lô phẫu thuật (lô 2, 3, 4, 5) tăng cao rõ rệt so với trước phẫu thuật và so với lô chứng PT ($p < 0,01$). Sự gia tăng này cho thấy chức năng lọc của thận bị giảm, khiến ure tích tụ trong huyết thanh. Tuy nhiên, khi so sánh giữa các lô cắt bỏ thận, không có sự khác biệt đáng kể về nồng độ ure huyết

thanh (p >0,05), điều này gợi ý rằng mức độ suy giảm chức năng thận do phẫu thuật tương đồng giữa các lô này. Sau 60 ngày, nồng độ ure huyết thanh ở lô chứng PT không có sự thay đổi so với các thời điểm trước (p >0,05), điều này cho thấy chức năng thận của chuột khỏe mạnh không bị ảnh hưởng. Nồng độ ure huyết thanh ở lô mô hình (chuột bị cắt bỏ 5/6 thận không uống thuốc) tiếp tục tăng mạnh (p <0,01 và p <0,001 so với các thời điểm trước), cho thấy tình trạng suy giảm chức năng thận ngày càng nghiêm trọng. Nồng độ ure huyết thanh của chuột ở các lô uống thuốc đã giảm đáng kể so với lô mô hình (p <0,01), cho thấy thuốc có tác dụng cải thiện chức năng thận và giảm tích tụ ure. Đặc biệt, lô TTGT-2 có sự giảm nồng độ ure mạnh nhất, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô TTGT-1 (p <0,05). Điều này có thể gợi ý rằng liều lượng hoặc loại thuốc trong lô TTGT-2 có hiệu quả cao hơn trong việc cải thiện chức năng thận. Phẫu thuật cắt bỏ 5/6 thận gây ra sự suy giảm chức năng thận, dẫn đến nồng độ ure huyết thanh tăng cao rõ rệt.

Thổ phục linh, một thành phần trong cao khô "thăng thanh giáng trọc", có một số tác giả nghiên cứu thổ phục linh sử dụng trong điều trị tăng acid uric máu. Các hợp chất chính có tác dụng hạ acid uric máu trong thổ phục linh gồm acid 5-O-caffeoylshikimic, quercetin và astilbin. Những thành phần này không chỉ giúp giảm acid uric mà còn giảm stress oxy hóa gây ra bởi sự gia tăng acid uric máu, thông qua việc tăng cường hoạt động của catalase và ức chế xanthin oxidase. Trong các nghiên cứu mô hình động vật, thổ phục linh đã cho thấy khả năng bảo vệ thận chuột khỏi tổn thương do tăng acid uric máu và giảm tổn thương thận do cisplatin gây ra, nhờ vào tác dụng chống viêm và giảm stress oxy hóa của astilbin. Mối liên hệ giữa sự gia tăng acid uric máu và suy giảm chức năng thận làm cho thổ phục linh trở thành một phương pháp hiệu quả trong việc bảo vệ chức năng thận thông qua cơ chế giảm acid uric và chống oxy hóa [61], [62]. Phải chăng cao khô "thăng thanh giáng trọc có tác dụng chống oxy hóa trên thực nghiệm, nên mới dẫn đến bài thuốc có kết quả như vây, điều này cần được nghiên cứu tiếp.

4.2.2.4. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên nồng độ creatinin huyết thanh của chuột

Chỉ số creatinin máu là một trong những dấu hiệu quan trọng nhất để đánh

giá chức năng thận. Trong bệnh thận mạn, khi chức năng thận suy giảm, nồng độ creatinin máu tăng cao phản ánh sự giảm khả năng lọc của cầu thận, thường được đánh giá thông qua chỉ số eGFR. Cụ thể, khi creatinin máu tăng, eGFR sẽ giảm, cho thấy tình trạng suy giảm chức năng thận ngày càng nghiêm trọng. Bệnh thận mạn, dù xuất phát từ các bệnh lý khác nhau như bệnh cầu thận, ống-kẽ thận, bệnh mạch máu thận, hay các bệnh thận bẩm sinh, di truyền, đều có xu hướng tiến triển đến giai đoạn cuối, dẫn đến suy thận hoàn toàn. Quá trình này diễn ra qua nhiều giai đoạn, từ suy giảm nhẹ đến nặng, và được theo dõi chặt chẽ bằng nồng độ creatinin và eGFR. Trong mỗi đợt tiến triển nặng của bệnh, số lượng nephron bị tổn thương tăng đột biến, dẫn đến việc nhiều nephron bị loại khỏi vòng chức năng. Điều này làm giảm đáng kể khả năng lọc của thận và dẫn đến sự gia tăng đột ngột chỉ số creatinin trong máu. Khi chức năng nephron giảm, các chất thải, bao gồm creatinin, không được thải ra khỏi cơ thể hiệu quả, dẫn đến sự tích lũy trong máu và làm cho eGFR giảm nhanh. Tần suất và mức độ của các đợt tiến triển nặng càng nhiều, chức năng thận càng nhanh chóng suy giảm, từ đó rút ngắn thời gian tiến triển đến suy thận giai đoạn cuối. Quá trình tiến triển của bệnh thận có thể diễn ra nhanh hay chậm, tùy thuộc vào nguyên nhân gây bệnh. Ví dụ, viêm cầu thận hình liềm ngoài mao mạch có thể dẫn đến suy thận giai đoạn cuối trong vài tuần hoặc vài tháng. Trong khi đó, các bệnh cầu thận nguyên phát có thể mất từ 5 - 10 năm để tiến triển, và một số trường hợp có thể kéo dài đến 15 - 20 năm. Tuy nhiên, trong suốt thời gian này, bất kỳ đợt tiến triển nặng nào cũng có thể gây tổn thương thêm nhiều nephron, làm gia tăng chỉ số creatinin và giảm nhanh chức năng thận [63].

Trước khi phẫu thuật, nồng độ creatinin huyết thanh của chuột ở các lô không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Điều này chỉ ra rằng tình trạng sức khỏe về chức năng thận của chuột trong các lô là tương đương, giúp làm cơ sở khách quan để đánh giá tác động của phẫu thuật và thuốc trong các giai đoạn tiếp theo. Sau 15 ngày từ khi thực hiện phẫu thuật lần 2 (trước khi dùng thuốc), nồng độ creatinin huyết thanh ở các lô chuột cắt bỏ 5/6 thận (lô 2, 3, 4, 5) tăng đáng kể so với trước phẫu thuật cũng như so với lô chứng PT ($p <0,01$). Sự gia tăng này

phản ánh tình trạng suy giảm chức năng thận do mất mát phần lớn mô thận, khiến cho creatinin không thể lọc ra khỏi cơ thể một cách hiệu quả. Tuy nhiên, khi so sánh giữa các lô phẫu thuật cắt bỏ thận, không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê về nồng độ creatinin ($p > 0,05$), chứng tỏ rằng mức độ suy giảm chức năng thận là tương đương ở các nhóm chuột bị cắt thận. Sau 60 ngày dùng thuốc nồng độ creatinin huyết thanh của chuột ở lô chứng PT không có sự thay đổi so với các thời điểm trước đó ($p > 0,05$), điều này cho thấy rằng chức năng thận của chuột khỏe mạnh không bị ảnh hưởng. Nồng độ creatinin huyết thanh ở lô mô hình (chuột bị cắt bỏ 5/6 thận không dùng thuốc) tiếp tục tăng mạnh ($p < 0,01$ và $p < 0,001$ so với các thời điểm trước), và tăng cao so với trước phẫu thuật với $p < 0,001$, cho thấy tình trạng suy giảm chức năng thận trở nên nghiêm trọng hơn theo thời gian. Nồng độ creatinin huyết thanh của chuột ở các lô dùng thuốc giảm đáng kể so với lô mô hình ($p < 0,01$), điều này chứng tỏ thuốc đã có tác dụng cải thiện chức năng thận bằng cách làm giảm sự tích tụ creatinin trong máu. Đặc biệt, lô TTGT-2 có sự giảm mạnh nhất về nồng độ creatinin huyết thanh, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô TTGT-1 ($p < 0,05$).

Phẫu thuật cắt bỏ 5/6 thận dẫn đến sự gia tăng rõ rệt nồng độ creatinin huyết thanh, phản ánh sự suy giảm chức năng thận. Sử dụng thuốc đã chứng tỏ có hiệu quả trong việc giảm nồng độ creatinin huyết thanh, giúp cải thiện chức năng thận.

Thành phần cao khô "thăng thanh giáng trọc" chứa đại hoàng và đan sâm. Đại hoàng chứa hơn 20 loại anthraquinon, trong đó emodin, rhein và aloe-emodin được nghiên cứu nhiều ở Trung Quốc. Trong một thử nghiệm trên 151 bệnh nhân CKD có creatinine huyết thanh khoảng 3,7 mg/dL, việc sử dụng đại hoàng làm chậm tiến triển bệnh. Sau 25-40 tháng, tần suất bệnh nhân có creatinine ≥ 8 mg/dL là 54,3% trong nhóm dùng captopril, 25,9% trong nhóm dùng đại hoàng và 13,1% trong nhóm kết hợp cả hai. Kết quả cho thấy đại hoàng có tác dụng bảo vệ thận và hỗ trợ tốt khi kết hợp với ACEI. Thí nghiệm trên chuột bị cắt bỏ thận cho thấy đại hoàng làm giảm creatinine huyết thanh, tăng độ thanh thải insulin, giảm protein niệu, cải thiện rối loạn lipid và giảm phì đại thận mà không ảnh hưởng đến huyết

áp. Emodin, một thành phần của đại hoàng, ức chế tăng sinh tế bào và sản xuất interleukin-6 trong mô chuột, đồng thời giảm bài tiết interleukin-1 và ức chế hoạt động Na-K-ATPase và Ca-ATPase trong tế bào thận. Rhein, một thành phần khác, cũng có tác dụng tương tự, giúp cải thiện chức năng thận và giảm phì đại tế bào. Các nghiên cứu cho thấy nhiều thành phần trong đại hoàng có tác dụng điều trị tích cực với CKD [64]. Khi sử dụng bài thuốc thăng thanh giáng trọc dưới dạng thuốc sắc trên lâm sàng, thường bệnh nhân đi phân lỏng nát 3-4 lần, đó chính là tác dụng giáng trọc thải độc qua con đường.

Nghiên cứu của Kuo Ching Huan và cộng sự về tỉ lệ sống sót dài hạn của bệnh nhân sử dụng YHCT tại Đài Loan được thực hiện trên 14.718 người mắc CKD, gồm 6.958 người dùng YHCT và 7.760 người không dùng YHCT, sử dụng dữ liệu từ cơ sở dữ liệu bảo hiểm y tế theo chiều dọc năm 2000 và bộ dữ liệu con của cơ sở dữ liệu nghiên cứu bảo hiểm y tế quốc gia. Các yếu tố nhân khẩu học như giới tính, tuổi tác, loại công việc, khu vực cư trú và mức độ hấp thụ đã được điều chỉnh như các hiệp phương sai trong phân tích. Phân tích mạng lưới các phương pháp điều trị, bao gồm công thức thảo dược và thảo mộc đơn lẻ, được thực hiện để xác định các mô hình sử dụng YHCT trong điều trị CKD. Phương pháp Kaplan-Meier được sử dụng để so sánh tỉ lệ sống sót giữa nhóm dùng và không dùng YHCT. Kết quả cho thấy đan sâm là thảo dược được sử dụng phổ biến nhất [65].

4.2.2.5. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên các chỉ số huyết học của chuột

Theo WHO, thiếu máu là tình trạng giảm huyết sắc tố trung bình và/hoặc số lượng hồng cầu lưu hành ở máu ngoại vi dưới mức bình thường so với người cùng giới, cùng lứa tuổi và trong cùng một môi trường sống dẫn tới thiếu oxy cung cấp cho các mô tế bào trong cơ thể [66]. Năm 1957, Jacobson và cộng sự đã chứng minh rằng thận là cơ quan chính sản xuất nội tiết tố có tác dụng kích thích sản sinh hồng cầu và được gọi tên là Erythropoietin (EPO). Năm 1974, Eslev đã chứng minh được rằng thận là nơi cung cấp EPO cho cơ thể. Do bệnh nhân BTM có tổn thương nhu mô thận không hồi phục nên thận không còn đủ khả năng sản xuất đủ EPO như người bình thường (2-3IU/kg/ngày), dẫn đến sự suy giảm của quá trình biệt hóa

dòng hồng cầu ở tủy xương và hậu quả cuối cùng là bệnh nhân bị thiếu máu. Do đó nguyên nhân chính gây nên tình trạng thiếu máu ở bệnh nhân BTM là do thiếu EPO. Có thể nói rằng, thiếu máu là một triệu chứng rất thường gặp trong BTM [67].

So với lô chứng PT, lô mô hình cho thấy sự giảm đáng kể về số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố trong máu ($p < 0,01$). Kết quả này phản ánh tình trạng suy giảm chức năng thận, dẫn đến thiếu máu. Suy thận làm giảm sản xuất erythropoietin – một hormone quan trọng do thận tiết ra, kích thích tủy xương sản xuất hồng cầu. Khi thận suy yếu, sự thiếu hụt erythropoietin có thể gây ra thiếu máu, dẫn đến sự giảm hồng cầu và huyết sắc tố. So với lô mô hình, các lô chuột được dùng thuốc cho thấy sự tăng lên đáng kể về số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố ($p < 0,05$). Điều này cho thấy thuốc có tác dụng khôi phục một phần chức năng thận hoặc tác động trực tiếp lên quá trình tạo hồng cầu, giúp cải thiện tình trạng thiếu máu do suy thận. Việc tăng số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố là một dấu hiệu tích cực, chỉ ra rằng thuốc không chỉ giúp phục hồi chức năng thận mà còn cải thiện quá trình tái tạo máu. Mặc dù số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố có sự cải thiện, nhưng hematocrit (tỷ lệ phần trăm của tế bào hồng cầu trong tổng thể tích máu) giữa các lô không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Điều này có thể được lý giải bởi vì quá trình thay đổi hematocrit có thể chậm hơn hoặc không đồng bộ với các chỉ số khác như hồng cầu và huyết sắc tố trong thời gian thí nghiệm. Hoặc cũng có thể là do ảnh hưởng của nhiều yếu tố khác như thể tích huyết tương chưa được cân bằng hoàn toàn, khiến cho chỉ số này không thay đổi rõ ràng.

BTM có biến chứng thiếu máu với các mức độ khác nhau. YHCT cho rằng do tỳ hư không thể hóa sinh khí huyết gây ra, điều trị nên kiện tỳ ích khí dưỡng huyết. Trong cao khô "thăng thanh giáng trọc" có các vị thuốc tác dụng ích khí dưỡng huyết như đan sâm, hoàng kỳ, thổ phục linh, đóng vai trò quan trọng trong việc cải thiện tình trạng thiếu máu trong BTM.

4.2.2.6. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên huyết áp của chuột

Bệnh thận mạn là nguyên nhân thường gặp nhất gây tăng huyết áp thứ phát và là yếu tố nguy cơ độc lập đối với tình trạng bệnh lý và tử vong do nguyên nhân

tim mạch [68]. Khi các động mạch thận bị hẹp, lưu lượng máu đến thận giảm, dẫn đến sự kích hoạt hệ thống renin-angiotensin-aldosteron (RAAS). Sự tăng tiết renin từ thận kích thích sản xuất angiotensin II và aldosteron, gây co mạch và giữ natri, từ đó làm tăng thể tích dịch ngoại bào và huyết áp. Cơ chế này là một trong những nguyên nhân chính dẫn đến tăng huyết áp thứ phát từ bệnh thận mạn, đồng thời cũng tạo ra các biến chứng nặng nề, đặc biệt là suy thận mạn tính. Thận đóng vai trò trung tâm trong điều hòa huyết áp thông qua kiểm soát bài tiết natri và thể tích dịch ngoại bào. Theo Guyton, sự điều hòa này bị suy giảm ở những bệnh nhân mắc bệnh thận mạn, dẫn đến tăng huyết áp bền bỉ. Thí nghiệm trên động vật cho thấy, khi máu đến thận bị cô lập và áp lực tăng lên, thận phản ứng bằng cách tăng bài tiết natri, giúp giảm huyết áp về mức bình thường. Tuy nhiên, khi thận bị tổn thương hoặc bị hạn chế chức năng, khả năng này bị suy giảm, dẫn đến quá tải natri và tăng huyết áp. Đặc biệt, việc sử dụng các chất như angiotensin hoặc aldosteron, hoặc cắt bỏ phần lớn mô thận, sẽ làm suy yếu khả năng bài tiết natri, gây tăng huyết áp mạnh hơn. Trong giai đoạn đầu, tăng huyết áp thường xuất hiện do thể tích dịch ngoại bào tăng, kéo theo tăng cung lượng tim, dẫn đến tăng huyết áp tâm thu. Tuy nhiên, khi cung lượng tim và thể tích dịch ngoại bào được bình thường hóa, sức cản ngoại biên tăng trở thành yếu tố chính gây ra tăng huyết áp tâm trương. Từ những cơ chế này, BTM không chỉ là nguyên nhân gây tăng huyết áp mà còn tạo ra một vòng xoắn bệnh lý, trong đó tăng huyết áp lại góp phần làm tổn thương thận, làm suy giảm thêm chức năng thận, dẫn đến tiến triển nhanh chóng của suy thận mạn và làm nặng thêm tình trạng tăng huyết áp [69].

Ở người, tăng huyết áp được xác định khi huyết áp tâm thu ≥140mmHg và/hoặc huyết áp tâm trương ≥90mmHg. Như vậy, so với mức huyết áp bình thường ở người (110/70mmHg), tăng HA được xác định khi huyết áp tâm thu tăng hơn hoặc bằng mức sinh lý bình thường 30mmHg, huyết áp tâm trương tăng hơn hoặc bằng mức sinh lý bình thường 20mmHg. Goldblatt xác định chuột tăng HA khi huyết áp tâm thu > 140 mmHg [70]. Với sự tương đồng về phương pháp đo huyết áp cánh tay ở người và phương pháp đo huyết áp đuôi chuột, cùng với các trị số huyết áp bình thường đo được ở chuột không khác biệt nhiều so với ở người, tiêu chuẩn để xác định tăng huyết áp trên chuột có thể được suy ra từ tiêu chuẩn ở người.

Tại thời điểm sau 60 ngày uống thuốc, So với ở lô mô hình, huyết áp tâm thu của chuột ở lô tham chiếu và lô TTGT-2 giảm có ý nghĩa thống kê với p <0,01; và ở lô TTGT-1 giảm có ý nghĩa thống kê với p <0,05. So với ở lô mô hình, huyết áp tâm trương của chuột ở lô tham chiếu và lô TTGT-1 giảm có ý nghĩa thống kê với p <0,05 và ở lô TTGT-2 giảm có ý nghĩa thống kê với p <0,01. So với ở lô mô hình, huyết áp trung bình của chuột ở lô tham chiếu và lô TTGT-1 giảm có ý nghĩa thống kê với p <0,05 và ở lô TTGT-2 giảm có ý nghĩa thống kê với p <0,01.

Cao khô "thăng thanh giáng trọc" ở các liều dùng đã thể hiện tác dụng hạ huyết áp tâm thu, tâm trương, huyết áp trung bình trên chuột bị bệnh thận mạn.

4.2.2.7. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên các chỉ số nước tiểu của chuột

Bình thường thận có khả năng cô đặc và pha loãng nước tiểu. Khi uống nhiều nước, thận tăng thải nước dư thừa, giảm tỷ trọng nước tiểu đến mức tối đa. Ngược lại trong điều kiện thiếu nước, thận tăng giữ nước, cô đặc nước tiểu, tăng độ thẩm thấu của nước tiểu lên 1200mOsmol, tỷ trọng tăng lên 1,030. Khi bị bệnh thận mạn tính, thận sẽ mất khả năng cô đặc và pha loãng nước tiểu, độ thẩm thấu của nước tiểu sẽ cố định trong khoảng 350mOsmol/l, tương ứng với tỷ trọng nước tiểu 1,010. Nguyên nhân của hiện tượng này là do trên bệnh nhân CKD, mặc dù nephron còn lại hoạt động đến mức tối đa cũng không thể đảm bảo chức năng thải nước như bình thường [71].

Kết quả nghiên cứu đã cho thấy sự thay đổi rõ rệt về số lượng nước tiểu 24 giờ giữa các lô chuột trong các giai đoạn khác nhau của thí nghiệm. Trước phẫu thuật, số lượng nước tiểu 24 giờ của chuột ở các lô không có sự khác biệt (p >0,05), khẳng định rằng điều kiện sinh lý của chuột trước can thiệp là đồng nhất, tạo nền tảng vững chắc để so sánh các biến đổi sau đó. Tại thời điểm 15 ngày sau phẫu thuật lần 2 (trước khi uống thuốc), số lượng nước tiểu 24 giờ của chuột ở các lô phẫu thuật cắt bỏ thận (lô 2, 3, 4, 5) tăng có ý nghĩa thống kê so với trước phẫu thuật và lô chứng phẫu thuật (p <0,05). Sự gia tăng này có thể là do việc mất chức năng của thận dẫn đến giảm khả năng tái hấp thu nước và chất điện giải, dẫn đến tăng sản xuất nước tiểu. Sau 60 ngày uống thuốc, kết quả cho thấy số lượng nước

tiểu 24 giờ của chuột ở lô chứng phẫu thuật không tăng so với các thời điểm trước đó (p >0,05). Điều này cho thấy rằng, trong điều kiện bình thường, không có sự thay đổi đáng kể nào trong khả năng sản xuất nước tiểu của thận. Tuy nhiên, ở lô mô hình (cắt bỏ thận), số lượng nước tiểu 24 giờ tăng cao rõ rệt so với lô chứng phẫu thuật (p <0,001) và so với các thời điểm trước (p <0,001 so với trước phẫu thuật và p <0,01 so với 15 ngày sau phẫu thuật lần 2). Sự tăng này có thể giải thích bởi sự suy giảm chức năng thận nghiêm trọng do mất thận, dẫn đến việc gia tăng bài tiết nước tiểu để bù đắp sự suy giảm khả năng lọc của thận. Đặc biệt, so với lô mô hình, số lượng nước tiểu 24 giờ của chuột ở lô tham chiếu và các lô điều trị (TTGT-1 và TTGT-2) giảm có ý nghĩa thống kê (p <0,01). Kết quả này cho thấy các biện pháp điều trị đã có tác dụng làm giảm lượng nước tiểu, góp phần cải thiện chức năng thận của chuột bị cắt bỏ thận. So sánh giữa ba lô tham chiếu, TTGT-1 và TTGT-2, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về số lượng nước tiểu 24 giờ (p >0,05). Điều này có thể chỉ ra rằng cả ba phương pháp điều trị đều có hiệu quả tương đương trong việc kiểm soát số lượng nước tiểu, gợi ý rằng các biện pháp này có thể có tác dụng tương đồng trong việc điều chỉnh chức năng thận sau phẫu thuật.

Trước phẫu thuật, protein niệu 24 giờ của chuột ở các lô không có sự khác biệt đáng kể (p >0,05), khẳng định rằng tình trạng ban đầu giữa các lô chuột là đồng nhất, từ đó cho phép đánh giá sự thay đổi sau phẫu thuật và điều trị một cách khách quan. Sau 15 ngày từ khi thực hiện phẫu thuật lần 2 (trước khi chuột được uống thuốc), protein niệu 24 giờ của chuột ở các lô phẫu thuật cắt bỏ thận (lô 2, 3, 4, 5) tăng có ý nghĩa thống kê so với trước phẫu thuật và lô chứng phẫu thuật (p <0,05). Sự gia tăng protein niệu sau khi cắt bỏ thận có thể được giải thích do sự giảm khả năng lọc của thận, dẫn đến rò rỉ protein vào nước tiểu. Kết quả này phù hợp với cơ chế bệnh lý của bệnh thận mạn tính, trong đó tổn thương thận dẫn đến tăng protein niệu, một dấu hiệu chỉ thị sớm của suy giảm chức năng lọc cầu thận. Sau 60 ngày uống thuốc, kết quả cho thấy protein niệu 24 giờ của chuột ở lô chứng phẫu thuật không tăng so với các thời điểm trước (p >0,05), chứng minh rằng ở điều kiện bình thường, thận không có sự rò rỉ protein nhiều hơn so với trước phẫu thuật. Tuy nhiên, ở lô mô hình (chuột cắt bỏ thận), protein niệu 24 giờ tăng cao đáng kể so với

lô chứng phẫu thuật ($p < 0,001$) và tăng so với các thời điểm trước đó ($p < 0,001$ so với trước phẫu thuật và $p < 0,01$ so với thời điểm 15 ngày sau phẫu thuật lần 2). Điều này khẳng định tình trạng suy thận đã trở nên nghiêm trọng, khi thận bị mất chức năng dẫn đến sự rò rỉ protein vào nước tiểu ngày càng trầm trọng. Đáng chú ý, protein niệu 24 giờ ở lô tham chiếu và các lô điều trị (TTGT-1 và TTGT-2) giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p < 0,01$), chứng tỏ rằng các biện pháp điều trị đã có tác dụng làm giảm lượng protein niệu, từ đó cho thấy khả năng cải thiện chức năng lọc của thận. So sánh giữa ba lô tham chiếu, TTGT-1 và TTGT-2, không có sự khác biệt đáng kể về protein niệu ($p > 0,05$), điều này cho thấy rằng cả ba phương pháp điều trị đều có tác dụng tương đương trong việc giảm protein niệu, chỉ ra rằng các biện pháp điều trị đều có thể kiểm soát tình trạng suy thận ở mức độ tương đương.

Cao khô "thăng thanh giáng trọc" sử dụng vị thuốc hoàng kỳ chứa hơn 60 thành phần hoạt tính bao gồm β-sitosterol, glycosides (astragalosides I-VII, soyasaponin, daucosterin), polysacarit (astroglucans A-C), saponin, các axit thực vật, choline, betaine, cùng với các axit amin và nguyên tố vi lượng. Các nghiên cứu dược lý đã xác nhận rằng các hợp chất này có nhiều tác dụng có lợi, như kích thích hệ thống miễn dịch, thúc đẩy lợi tiểu, chống oxy hóa và chống viêm. Những lợi ích này đã khiến hoàng kỳ trở thành một trong các vị thuốc chính trong YHCT để điều trị bệnh thận mạn (CKD) và các bệnh liên quan đến hệ tim mạch. Một phân tích tổng hợp 14 thử nghiệm lâm sàng đối chứng ngẫu nhiên, với 524 bệnh nhân Trung Quốc, cho thấy rằng sử dụng hoàng kỳ trong thời gian 1-3 tháng, dù là dưới dạng thuốc tiêm hay thành phần trong thuốc sắc, đã cải thiện hiệu quả điều trị so với các phương pháp truyền thống. Cụ thể, khi kết hợp với prednisone và thuốc ức chế miễn dịch, hoàng kỳ làm giảm protein niệu và cải thiện nồng độ cholesterol toàn phần và albumin trong máu ở bệnh nhân mắc hội chứng thận hư nguyên phát. Ngoài ra, hoàng kỳ cũng đã được chứng minh có tác dụng bảo vệ thận ở bệnh nhân mắc bệnh thận do tiểu đường. Một nghiên cứu đối chứng ngẫu nhiên trên 62 bệnh nhân cho thấy khi kết hợp với losartan, hoàng kỳ đem lại lợi ích lớn hơn so với việc chỉ sử dụng losartan. Trên mô hình chuột bị cắt bỏ thận (5/6), bệnh thận do tiểu đường gây ra bởi streptozocin và hội chứng thận hư do adriamycin, hoàng kỳ đã làm

giảm protein niệu và tổn thương thận, đồng thời cải thiện chức năng thận. Hoàng kỳ có thể bảo vệ thận thông qua việc khử hoạt tính gốc tự do, ức chế tổng hợp oxit nitric, và giảm sản xuất yếu tố hoại tử khối u α (TNF-α). Trong mô hình chuột mắc hội chứng thận hư do adriamycin, hoàng kỳ đã tác động đến lợi tiểu thông qua việc điều hòa giảm biểu hiện gen của vasopressin ở vùng dưới đồi, thụ thể V2 tại thận, và aquaporin 2 (AQP2). Những kết quả nghiên cứu này cho thấy hoàng kỳ có tác dụng bảo vệ thận nhất định, đặc biệt trong giai đoạn đầu của bệnh thận mạn [72].

4.2.2.8. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên cân nặng thận chuột

Kết quả nghiên cứu cho thấy sự giảm đáng kể về cân nặng thận của chuột trong các lô tham chiếu và các lô điều trị so với lô mô hình. Cụ thể, cân nặng thận của chuột ở các lô tham chiếu, TTGT-1 và TTGT-2 giảm lần lượt là 13,89%, 15,15% và 16,41% so với lô mô hình, và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Kết quả này có thể phản ánh hiệu quả của các biện pháp điều trị trong việc giảm thiểu tổn thương thận, từ đó ngăn chặn tình trạng phì đại thận – một dấu hiệu thường gặp trong bệnh lý thận mạn tính khi thận bị tổn thương và phải bù trừ chức năng lọc. So sánh giữa ba lô tham chiếu, TTGT-1 và TTGT-2, không có sự khác biệt đáng kể về cân nặng thận ($p > 0,05$). Điều này chứng tỏ rằng các phương pháp điều trị trong hai nhóm TTGT đều có hiệu quả tương đương trong việc kiểm soát tình trạng phì đại thận so với lô tham chiếu. Tuy nhiên, mức độ giảm cân nặng thận ở lô TTGT-2 cao hơn so với TTGT-1, mặc dù không khác biệt thống kê, có thể gợi ý rằng TTGT-2 có tiềm năng hiệu quả cao hơn trong việc ngăn chặn sự phát triển thận to. Nhìn chung, kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng các biện pháp điều trị có tác dụng giảm tổn thương thận, ngăn ngừa sự phì đại thận, từ đó góp phần cải thiện chức năng thận ở chuột bị bệnh thận mạn tính.

4.2.2.9. Ảnh hưởng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" lên cấu trúc mô học thận chuột

Kết quả nghiên cứu từ hình ảnh mô học của thận chuột cho thấy sự khác biệt rõ rệt về mức độ tổn thương thận giữa các nhóm thí nghiệm, từ đó cung cấp cái nhìn

sâu sắc về hiệu quả bảo vệ thận của các biện pháp điều trị. Ở nhóm chứng PT (ảnh A), thận chuột cho thấy cấu trúc mô học hoàn toàn bình thường. Các cầu thận, ống thận và mạch máu giữa các ống thận đều giữ được cấu trúc nguyên vẹn, không có dấu hiệu của tổn thương mô học. Điều này khẳng định rằng ở điều kiện không bị tác động bệnh lý, chức năng thận vẫn được bảo toàn. Ngược lại, ở nhóm mô hình (ảnh B), thận chuột xuất hiện những tổn thương nghiêm trọng với các biểu hiện rõ ràng như giãn mô kẽ, phì đại cầu thận và giãn lòng ống thận. Đây là những thay đổi bệnh lý đặc trưng của thận trong trạng thái tổn thương nghiêm trọng, có thể là hậu quả của quá trình viêm, suy giảm chức năng thận và áp lực tăng cao trong các ống thận. Hình ảnh cấu trúc mô học ở các nhóm tham chiếu (ảnh C), TTGT-1 (ảnh D) và TTGT-2 (ảnh E) cho thấy sự cải thiện rõ rệt về cấu trúc thận so với nhóm mô hình (ảnh B). Tổn thương tại thận đã giảm thiểu đáng kể, với sự phục hồi của các thành phần cầu thận và ống thận. Điều này chứng tỏ rằng các biện pháp điều trị trong nghiên cứu không chỉ làm giảm các dấu hiệu lâm sàng mà còn có tác động tích cực đến mức độ phục hồi cấu trúc thận ở cấp độ mô học. Sự cải thiện này được thể hiện rõ rệt ở cả hai nhóm TTGT-1 và TTGT-2, cho thấy các liệu pháp điều trị không chỉ ngăn ngừa tổn thương thêm mà còn thúc đẩy quá trình phục hồi các tổn thương đã hình thành. Các kết quả này đã củng cố vai trò của các liệu pháp điều trị trong việc ngăn ngừa và cải thiện tổn thương mô thận, đặc biệt với bệnh lý thận mạn tính.

4.2.3. Về tác dụng cao khô "thăng thanh giáng trọc"

Cao khô "thăng thanh giáng trọc" được xây dựng từ bài thuốc nghiệm phương, đã được sử dụng trên lâm sàng nhiều năm. Theo tính vị quy kinh và dược lý học hiện đại cho thấy cơ sở lý thuyết và thực tiễn trong tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" trong điều trị bệnh thận mạn.

Kết quả nghiên cứu này của chúng tôi cũng hoàn toàn phù hợp với kết quả nghiên cứu trước đó. Trên lâm sàng, nghiên cứu của Lê Thị Thanh Nhạn sử dụng bài thuốc "thăng thanh giáng trọc" điều trị 30 bệnh nhân được chẩn đoán suy thận mạn. Kết quả có hiệu quả điều trị rõ là 46,7% (14/30 người), có hiệu quả là 33,3% (10/30 người), hiệu quả ổn định là 20% (6/30 người), không hiệu quả chiếm tỷ lệ 0%.

KẾT LUẬN

1. Kết luận về độc tính cấp của cao khô "thăng thanh giáng trọc"

Chưa tìm thấy LD_{50} của cao khô "thăng thanh giáng trọc" theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống là 30,0g/kg cân nặng chuột, cao gấp 23,6 lần liều dự kiến có tác dụng mà không có chuột nào chết cũng như không có biểu hiện của độc tính. Như vậy có thể khẳng định được cao khô "thăng thanh giáng trọc" đạt được tính an toàn trong thử nghiệm độc tính cấp.

2. Kết luận về tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" trên mô hình bệnh thận mạn cắt 5/6 thận ở chuột cống trắng.

Cao khô "thăng thanh giáng trọc" liều 0,735 g/kg/24h và liều 1,47 g/kg/24h sau 60 ngày có tác dụng dự phòng, ngăn chặn tiến triển bệnh thận mạn tính trên mô hình cắt 5/6 thận ở chuột cống trắng. Cụ thể:

- Làm giảm các chỉ số đánh giá tổn thương chức năng thận: ure, creatinin máu, thể tích nước tiểu 24h và protein niệu 24h so với lô mô hình.

- Các chỉ số huyết áp tối đa, huyết áp tối thiểu và huyết áp trung bình ở lô dùng mẫu thử giảm rõ rệt so với ở lô mô hình.

- Các chỉ số ở lô dùng mẫu thử giảm rõ rệt so với ở lô mô hình.

- Giảm sự phì đại thận và biến đổi mô bệnh học thận thông qua các chỉ số: giảm cân nặng thận, cải thiện các hình ảnh tổn thương mô bệnh học thận (như giãn mô kẽ, phì đại cầu thận, giãn lòng ống thận).

KIẾN NGHỊ

Cao khô "thăng thanh giáng trọc" đã được nghiên cứu độc tính cấp (thực hiện trong nghiên cứu này) và độc tính bán trường diễn trên động vật thực nghiệm (thực hiện trong một nghiên cứu khác). Đồng thời, cao khô "thăng thanh giáng trọc" cũng thể hiện rõ tác dụng ngăn chặn tiến triển bệnh thận mạn tính trên mô hình chuột cắt 5/6 thận. Với kết quả đạt được trong nghiên cứu này, chúng tôi kiến nghị nghiên cứu tác dụng của cao khô "thăng thanh giáng trọc" trên bệnh nhân bị bệnh thận mạn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Lê Thanh Hằng, Nguyễn Thị Bay, Mai Chi Công** (2022). Các thể lâm sàng bệnh lý tạng thận y học cổ truyền trong bệnh thận mạn. *Tạp chí y học Việt Nam*, 520 (số chuyên đề), tr271.
2. **Đỗ Gia Tuyển** (2023), *Bệnh học nội khoa tập 1*, Bệnh thận mạn và suy thận mạn tính định nghĩa và chẩn đoán, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr566.
3. **R Lozano MD** et al (2012). Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The lancet*, 380, 2113.
4. **Nguyễn Thị Thu Hiền** và cộng sự (2019). Nghiên cứu một số đặc điểm bệnh nhân mắc bệnh thận mạn tại tỉnh Phú Thọ. *Tạp chí y học Việt Nam*, 478 (2), tr12.
5. **Lê Thị Thanh Nhạn và Vũ Hoàng Long** (2011). *Nghiên cứu tác dụng điều trị bệnh nhân suy thận mạn của bài thuốc "Thăng thanh giáng trọc thang"*, Luận văn Thạc sỹ y học, Học viện Y Dược học Cổ truyền Việt Nam.
6. **Đỗ Trung Đàm** (2014), *Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
7. **Viện dược liệu** (2006), *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo*, Nhà xuất bản khoa học kỹ thuật.
8. **Bộ Y tế** (2012), *Thông tư 03/2012/TT-BYT, Thông tư hướng dẫn về thử thuốc trên lâm sàng*.
9. **Bộ Y tế** (2018), *Thông tư 29/2018/TT-BYT, Thông tư quy định về thử thuốc trên lâm sàng*.
10. **Adamson, R.H.**(2016), "The acute lethal dose 50 (LD50) of caffeine in albino rats", *Regul Toxicol Pharmacol*. 80, tr.274-6.
11. **Puzanov, I**.el al. (2017), "Managing toxicities associated with immune checkpoint inhibitors: consensus recommendations from the Society for Immunotherapy of Cancer (SITC) Toxicity Management Working Group", *J Immunother Cancer*. 5(1), tr95.
12. **Bộ môn Giải phẫu,** Trường Đại học Y Hà Nội. *Giải phẫu người*. Nhà xuất bản Y học, 202.

13. **Bộ Y tế** (2015). *Giải phẫu người*, Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam.
14. **National Kidney Foundation** (2013). *KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease*.
15. **Đỗ Gia Tuyển** (2021), *Bệnh học nội khoa thận - tiết niệu*, Bệnh thận mạn - định nghĩa và thuật ngữ, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr 132.
16. **Csaba P. Kovesdy** (2022). Epidemiology of chronic kidney disease: an update 2022. *Kidney International Supplements*, 12, 7.
17. **Katherine T. Mills** et al (2015). A systematic analysis of world-wide population-based data on the global burden of chronic kidney disease in 2010. *HHS Public Access*, 1.
18. **Hill, Nathan R.** (2016). Global Prevalence of Chronic Kidney Disease - A Systematic Review and Meta-Analysis. *Plos one*, 1.
19. **Couser WG** et al (2011). The contribution of chronic kidney disease to the global burden of major noncommunicable diseases. *Kidney Int*, 80(12), 1258-1270.
20. **Kidney disease surveillance system** (2020). *Risk Factors for Kidney Disease*.
21. **Kjeldsen, Sverre E.** (2018). Hypertension and cardiovascular risk: General aspects. *Science Direct*, 129.
22. **Trần Thị Bích Hương** (2014). Chẩn đoán và điều trị bệnh thận mạn từ kdoqi 2002 đến kdigo guidelines 2012. *Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh*, 4, tr13.
23. **Nguyễn Ngọc Lanh** (2012), *Sinh lý bệnh học - Đại học Y Hà Nội,* Sinh lý bệnh chức năng thận, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr433 – 435.
24. **Võ Ngọc Quốc Minh** (2004), *Miễn dịch - Sinh lý bệnh - Đại học Y dược TP Hồ Chí Minh*, Sinh lý bệnh đại cương chức năng thận, Nhà xuất bản Y học, TP Hồ Chí Minh, tr315.
25. **Bệnh viện Bạch Mai** (2022), *Chẩn đoán và điều trị bệnh nội khoa*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
26. **Bộ Y tế** (2015), *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị một số bệnh về thận – tiết niệu.*
27. **Bệnh viện Chợ Rẫy** (2013), *Phác đồ điều trị phần nội khoa*, Nhà xuất bản Y học, TP. Hồ Chí Minh.

28. **Zhang Farong, Li Zhang** (2014), *Research on the Mechanism of Black Dihuang Pill Inhibiting 5/6 Nephrectomy in the Rat Model with Chronic Renal Failure*, Jining Medical College.
29. **Lê Thị Thanh Nhạn và Trần Thị Thuý Phương** (2011). *Nghiên cứu tác dụng của bài thuốc "Thăng thanh giáng trọc thang" trên một số chỉ tiêu lâm sàng trong điều trị bệnh nhân suy thận mạn*, Khoá luận tốt nghiệp, Học viện Y Dược học Cổ truyền Việt Nam.
30. **张晓东** (2023). **金**匮肾气丸加减联合隔药灸治疗慢性肾衰 **竭的**临床观**察**, 硕士学位论**文**, **黑**龙**江中医**药**大学**.

Zhang Xiaodong (2023). *Quan sát lâm sàng điều trị suy thận mạn tính bằng thuốc Jingui Shenqi cải tiến kết hợp với phương pháp đốt ngải cứu bằng thảo dược*, Luận văn Thạc sĩ, Đại học Y học Cổ truyền Hắc Long Giang Trung Quốc.
31. **Nguyễn Vĩnh Hưng, Ngô Quỳnh Hoa, Hoàng Thị Tuyết** (2018). *Khảo sát các chứng trạng y học cổ truyền trên bệnh thận mạn tính tại bệnh viện E từ tháng 9/2017 – 8/2018*, Luận văn Thạc sỹ y học, Đại học Y Hà Nội.
32. **Trần Thuý, Vũ Nam** (2001), *Kim quỹ yếu lược*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
33. **童延清, 任继** (2004). 学教授对慢性肾功能衰竭病因病机的认识. **上海中医**药大学学报, 18(1):21-23

Tong Yanqing, Ren Jixue (2004). Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh của bệnh suy thận mạn tính. *Tạp chí Đại học Y học Cổ truyền Trung Quốc Thượng Hải*, 18(1):21-23.
34. **何立群**，**沈烨渠**·**黄迪** (2011). **中医**药对在慢性肾衰竭辨证治疗中的应用与研究. **中国 中西医**结合肾病杂志, 12(8):659

He Liqun, Shen Yequ, Huang Di (2011). Ứng dụng và nghiên cứu y học cổ truyền Trung Quốc trong phân biệt hội chứng và điều trị suy thận mãn tính. *Tạp chí Thận học Trung Quốc và Tây y tổng hợp*, 12(8):659.

35. **Bộ môn Nội khoa Đông y** (2024), Trường Đại học Y dược thành phố Hồ Chí Minh. *Bệnh học và điều trị lão khoa kết hợp Đông tây y*. Nhà xuất bản Đại học quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.
36. **Fang YQ, Lu Y, Wang YJ**. [Efficiency of benazepril combined with wind dispelling and dampness removing chinese herbs on stage 3 chronic kidney disease with wind-dampness syndrome: a prospective study]. Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi. 2012 Mar;32(3):311-6. Chinese. PMID: 22686073.
37. **马进, 高咏晨** (2022). 虚慢湿性浊肾血衰瘀竭证脾临肾床研气究虚湿浊血瘀证临床研**究**, 硕士学位论**文**, 辽**宁中医**药**大学**.

    Ma Jin, Gao Yongchen (2022). *Nghiên cứu lâm sàng suy thận mạn tính thể tỳ thận khí suy và thấp trọc huyết ứ*, Luận văn thạc sĩ, Đại học Y học cổ truyền Liêu Ninh Trung Quốc.
38. **于文霞, 戴恩来, 田文选** (2022). **戴恩来教授运用**补肾排毒胶囊治疗慢性肾脏病的经验举**隅**. Clinical Journal of Chinese Medicine, Vol.(14) No.25, 97.

    Yu Wenxia, Dai Enlai, Tian Wenxuan (2022). Kinh nghiệm của Giáo sư Dai Enlai trong việc sử dụng Viên nang Bushen Paidu để điều trị bệnh thận mãn tính. *Tạp chí Lâm sàng Y học Trung Quốc*, Tập (14) Số 25, 97.
39. **李松主任, 谭洪华副教授, 封丽丽** (2022). **益**肾泄浊方治疗脾肾气虚型慢性肾衰竭的 临床观**察**, 硕士学位论**文**, **北河大学**.

    Li Song, Tan Honghua, Feng Lili (2022). *Quan sát lâm sàng bài thuốc Yishen Xiezhuo trong điều trị suy thận mãn tính do tỳ thận khí hư*, Luận văn Thạc sĩ, Đại học Bắc Hà.
40. **王 圣 治, 谭 明 月** (2022). **刘明教授治**疗慢性肾衰竭的用药规律分**析**, 硕士学位论**文**, 辽**宁中医**药**大学**.

    Wang Shengzhi, Tan Mingyue (2022). *Phân tích các quy tắc dùng thuốc của Giáo sư Liu Ming trong điều trị suy thận mãn tính*, Luận văn Thạc sĩ, Đại học Y học Cổ truyền Liêu Ninh Trung Quốc.

41. **杜玉君, 龙孟团** (2022). 镁补充对 5/6 肾切除大鼠慢性肾脏病矿物质及骨异常的影响, 硕士学位论文, **吉林大学**.

Du Yujun, Long Mengtuan (2022).*Tác dụng của việc bổ sung magiê đối với các bất thường về khoáng chất và xương trong bệnh thận mãn tính ở chuột bị cắt 5/6 thận*, Luận văn Thạc sĩ, Đại học Cát Lâm.

42. **Nao Nishijo**, et al (2017). Mechanism Underlying Linezolid-induced Thrombocytopenia in a Chronic Kidney Failure Mouse Model. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 8(1), 10.

43. **Homma K, Enoki Y, Uchida S, et al**. A combination of 5/6-nephrectomy and unilateral ureteral obstruction model accelerates progression of remote organ fibrosis in chronic kidney disease. FASEB BioAdvances. 2023;5:377-394. doi:10.1096/fba.2023- 0004.

44. **Yin-Wu Bao** et al (2018). "Kidney disease models: tools to identify mechanisms and potential therapeutic targets". *Zoological Research* 39(2): 72-86.

45. **Quách Kế Quang, Bạch Dương, Chu Quảng Tân** (2014). Tiến trình nghiên cứu trên mô hình động vật mắc bệnh thận mạn do doxorubicin. *Tạp chí đại học Giang Tô*, 24 (2).

46. **李新建, 刘晓城** (2005). 小鼠进展性肾病模型建立的探讨及相关研究, 山西医科大学学报, 173-177.

Li Xinjian, Liu Xiaochen (2005). Thảo luận và nghiên cứu liên quan về việc thành lập mô hình bệnh thận tiến triển ở chuột, *Tạp chí Đại học Y Sơn Tây*, 173-177.

47. **Yan L- J** (2021). Folic acid- induced animal model of kidney disease. Anim Models Exp Med. 4 : 329 – 342 . doi: 10.1002/ame2.12194.

48. **Zhang J, Zhang L, Wang W, Wang H;** China National Survey of Chronic Kidney Disease Working Group. Association between aristolochic acid and CKD: a cross-sectional survey in China. *Am J Kidney Dis.* 2013 Jun;61(6):918-22. doi: 10.1053/j.ajkd.2012.12.027. Epub 2013 Mar 5. PMID: 23466214.

49. **Bộ Y tế** (2018). *Dược lý học*, Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam.
50. **Bộ Y tế** (2017). *Dược điển Việt Nam 5*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
51. **Đỗ Tất Lợi** (2015). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
52. **Đỗ Trung Đàm** (2001). "Phương pháp ngoại suy liều có hiệu quả tương đương giữa người và động vật thí nghiệm", *Tạp chí Dược học*, 2, tr. 29 – 35
53. **Lê Thị Thanh Nhạn và Lý Vĩnh Nam** (2023). *Nghiên cứu tác dụng hạ huyết áp, giảm tổn thương cầu thận trên chuột cống trắng của viên nang "Bảo thận khang"*, Luận văn Thạc sỹ y học, Học viện Y Dược học Cổ truyền Việt Nam.
54. **E. Meaney, F. Alva, R. Moguel, et al** (2000), "Formula and nomogram for the sphygmomanometric calculation of the mean arterial pressure" *Heart*, vol. 84, no. 1, p. 64.
55. **Lu J. R., Han H. Y., Chen J., et al.** (2014). Protective Effects of Bu-Shen-Huo-Xue Formula against 5/6 Nephrectomy-Induced Chronic Renal Failure in Rats. Evid. Based Complement. Altern. Med. 2014, 589846. 10.1155/2014/589846.
56. **Bộ Y tế** (2015), *Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu*, Quyết định số 141/QĐ-K2ĐT ngày 27/10/2015, tr. 13-17.
57. **Nakagawa T., Tashiro I., Fujimoto M., et al.** (2011). Keishibukuryogan reduces renal injury in the early stage of renal failure in the remnant kidney model. Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM, 2011, 914249.
58. **Hayashi K, Shimokawa T, Yamagata M, Yoneda K** (2021). Inhibition of α_2-adrenoceptor is renoprotective in 5/6 nephrectomy-induced chronic kidney injury rats. J Pharmacol Sci. Jan;145(1):79-87. doi: 10.1016/j.jphs.2020.11.001. Epub 2020 Nov 17. PMID: 33357783.
59. **Benner BM** (2012). Brenner and Rector's The Kidney. 9th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia, 987.

60. **Bộ môn Miễn dịch-Sinh ý bệnh**, Trường Đại học Y Hà Nội. *Sinh lý bệnh học*. Nhà xuất bản Y học, 2021.

61. **Xu WA, Yin L, Pan HY,** et al. (2013). Study on the correlation between constituents detected in serum from *Rhizoma Smilacis Glabrae* and the reduction of uric acid levels in hyperuricemia. *Journal of ethnopharmacology*, 150(2), 747-54.

62. **Wang SW, Xu Y, Weng YY**, et al. (2018). Astilbin ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity through reducing oxidative stress and inflammation. *Food and chemical toxicology*, 114, 227-36

63. **Hà Hoàng Kiệm** (2010). Suy thận và điều trị thay thế thận. *Thận học lâm sàng,* Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 732-749.

64. **Xiaomei Li, Haiyan Wang**, Chinese Herbal Medicine in the Treatment of Chronic Kidney Disease, Advances in Chronic Kidney Disease, Volume 12, Issue 3, 2005, Pages 276-281, ISSN 1548-5595, https://doi.org/10.1016/j. ackd.2005.03.007.

65. **Huang KC, Su YC, Sun MF, Huang ST**. Chinese Herbal Medicine Improves the Long-Term Survival Rate of Patients With Chronic Kidney Disease in Taiwan: A Nationwide Retrospective Population-Based Cohort Study. Front Pharmacol. 2018 Oct 1;9:1117. doi: 10.3389/fphar.2018.01117. PMID: 30327604; PMCID: PMC6174207.

66. **Nguyễn Thái Quý** (2006), *Bài giảng huyết học – truyền máu sau đại học - Đại học Y Hà Nội*, Phân loại thiếu máu, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr17-181.

67. **Eckardt, Ian C. Macdougal and Kai-Uwe** (1998), Haematological disorders, Oxford textbook of clinical nephrology-2nd ed. Vol.3, p.1935-49.

68. **F.M. Tadla, A.Brar, R.Browne** (2011), Hypertesion in chronic kidney disease: Navigating the evidence, International Journal of hypertension 2011.

69. **Egan BM, Zhao Y, Axon RN** (2010), US trends in prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension, 1988–2008, Journal of the American Medical Association. 2010;303(20).

70. **Goldblatt H, Lynch J, Hangal R.F, Summerville W.W** (1934). Studies on experimental hypertension: I. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia, *Journal of Experimental Medicine*, 59, pp.347-379.

71. **Kwakernaak AJ, Zelle DM, Bakker SJL et al** (2013). Central body fat distribution associates with unfavorable renal hemodynamics independent of body mass index. *J Am Soc Nephrol*, 24(6), 897-994.

72. **Xiaomei Li, Haiyan Wang** (2005). Chinese herbal medicine in the treatment of chronic kidney disease. *ScienceDirect*, Vol(12), 276-281.

Phụ lục 1
TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

CÔNG TY CỔ PHẦN NHÀ MÁY BÁCH THẢO DƯỢC

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

CAO KHÔ HỖN HỢP DƯỢC LIỆU

Số tiêu chuẩn: TCCS NC01

CÔNG TY CỔ PHẦN NHÀ MÁY BÁCH THẢO DƯỢC	TIÊU CHUẨN CƠ SỞ CAO KHÔ HỖN HỢP DƯỢC LIỆU	Số tiêu chuẩn: TCCS NC01
		Có hiệu lực kể từ ngày ký

1. YÊU CẦU KỸ THUẬT

1.1. Công thức sản xuất: Cho 21 g Cao khô hỗn hợp dược liệu:

Thành phần	Hàm lượng
Thổ phục linh (*Rhizoma Smilacis glabrae)*	20 g
Đan sâm (*Radix et Rhizoma Salviae miltiorrhizae)*	20 g
Đỗ trọng (*Cortex Eucommiae)*	20 g
Hoa hòe (*Flos Styphnolobii japonici imaturi)*	20 g
Hoàng kỳ (*Radix Astragali membranacei)*	20 g
Rau má (*Herba Centellae asiaticae)*	20 g
Cốt khí (*Radix Polygoni cuspidati)*	20 g
Bán hạ (chế) (*Rhizoma Pinelliae)*	10 g
Trần bì (*Pericarpium Citri reticulatae perenne)*	10 g
Trúc nhự (*Caulis bambusae in Taeniam)*	10 g
Chỉ xác (*Fructus Aurantii)*	10 g
Tàm sa (*Faeces bombycum)*	10 g
Đại hoàng (*Rhizoma Rhei)*	10 g
Ngưu tất (*Radix Achyranthis bidentatae)*	10 g
Tá dược:	
Methylparaben	0,038 g
Propylparaben	0,004 g
Phụ liệu khác bao gồm:	
Nước sinh hoạt, Ethanol 96%	

1.2. Nguyên liệu, phụ liệu:

Thổ phục linh (*Rhizoma Smilacis glabrae)*	Đạt DĐVN V
Đan sâm (*Radix et Rhizoma Salviae miltiorrhizae)*	Đạt DĐVN V
Đỗ trọng (*Cortex Eucommiae)*	Đạt DĐVN V
Hoa hòe (*Flos Styphnolobii japonici imaturi)*	Đạt DĐVN V
Hoàng kỳ (*Radix Astragali membranacei)*	Đạt DĐVN V
Rau má (*Herba Centellae asiaticae)*	Đạt DĐVN V
Cốt khí (*Radix Polygoni cuspidati)*	Đạt DĐVN V
Bán hạ (chế) (*Rhizoma Pinelliae)*	Đạt TCCS
Trần bì (*Pericarpium Citri reticulatae perenne)*	Đạt DĐVN V
Trúc nhự (*Caulis bambusae in Taeniam)*	Đạt TC NSX
Chỉ xác (*Fructus Aurantii)*	Đạt DĐVN V
Tàm sa (*Faeces bombycum)*	Đạt TC NSX
Đại hoàng (*Rhizoma Rhei)*	Đạt DĐVN V
Ngưu tất (*Radix Achyranthis bidentatae)*	Đạt DĐVN V
Methylparaben *(Methylis parahydroxybenzoas*	Đạt USP 2023
Propylparaben *(Propylis parahydroxybenzoas)*	Đạt USP 2022

Ethanol 96% (*Ethanolum 96%)* (*)	Đạt DĐVN V
Nước sinh hoạt	Đạt QCVN01-1:2018/BYT

1.3. Yêu cầu chất lượng

1.3.1. Tính chất: Chế phẩm là dạng bột, màu nâu đen, có mùi thơm của dược liệu.

1.3.2. Định tính: Chế phẩm phải cho các phép thử định tính của Thổ phục linh, Đan sâm, Đỗ trọng, Hoa hòe, Hoàng kỳ, Trần bì, Chỉ xác, Đại hoàng.

1.3.3. Độ mịn: Rây qua rây số 180 (cỡ mắt rây 0,180mm). Không dưới 97% khối lượng bột qua rây số 180.

1.3.4. Mất khối lượng do làm khô: Không quá 5,0%.

1.3.5. Tro toàn phần: Không quá 20,0%.

***1.3.6. Kim loại nặng*:** Không được quá 20 phần triệu.

***1.3.7. Cắn không tan trong nước*:** Không được quá 12,0% tính theo chế phẩm khô kiệt.

***1.3.8. Chất chiết được*:** Hàm lượng chất chiết được trong ethanol 70% của chế phẩm không được ít hơn 30,0%.

1.3.9. Độ nhiễm khuẩn

- Tổng số vi sinh vật hiếu khí: Không quá 10^4 CFU/g.
- Tổng số nấm: Không quá 10^2 CFU/g.
- Tổng số vi khuẩn Gram âm dung nạp mật: Không quá 10^2 CFU/g.
- Không được có *Salmonella* trong 10g.
- Không được có *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* trong 1g.

2. PHƯƠNG PHÁP THỬ

2.1. Tính chất: Bằng cảm quan, chế phẩm phải đạt các yêu cầu đã nêu.

2.2. Định tính:

2.2.1. Định tính Thổ phục linh: Phương pháp sắc ký lớp mỏng (DĐVN V, phụ lục 5.4).

* *Thuốc thử, dụng cụ:*

- Bản mỏng Silica gel GF_{254}, tráng sẵn của Merck, hoạt hoá ở 100^0C trong 30 phút.

- *Methanol*

- Hệ dung môi triển khai sắc ký: *Toluen – Ethyl acetate – Acid formic (13:32:9).*

- Thuốc thử hiện vết: Dung dịch nhôm clorid 1% trong ethanol.

* *Cách thử:*

- *Dung dịch thử*: Cân một lượng cao tương đương 2,0 g Thổ phục linh, cho vào bình nón 100 ml, thêm 50ml methanol, đun sôi trong 30 phút (bổ sung thêm methanol nếu cần), để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến còn khoảng 2 ml, được dung dịch chấm sắc ký.

- *Dung dịch đối chiếu*: Lấy 2,0 g dược liệu Thổ phục linh, cắt nhỏ, cho vào bình nón 100 ml, thêm 50ml methanol, đun sôi trong 30 phút (bổ sung thêm methanol nếu cần), để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến còn khoảng 2 ml, được dung dịch chấm sắc ký.

- *Cách tiến hành:* Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Tiến hành sắc ký theo DĐVN V, phụ lục 5.4. Sau khi triển khai được khoảng 10 -

12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, sau đó phun *dung dịch nhôm clorid 1% trong ethanol*, để khô bản mỏng và quan sát ở ánh sáng tử ngoại 365 nm.

- *Kết quả:* Sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu sắc, cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

2.2.2. *Định tính Đan sâm:* Phương pháp sắc ký lớp mỏng (DĐVN V, phụ lục 5.4)

** Thuốc thử, dụng cụ:*

- Bản mỏng silica gel GF_{254}, tráng sẵn của Merck, đã hoạt hoá ở 100^0C trong 30 phút.
- *Ether ethylic, methanol.*
- Dung môi triển khai sắc ký: *Toluen – ethyl aceat – aceton – acid formic (5:2:2: 1).*
- Thuốc thử hiện vết: *Dung dịch vanilin 1% trong acid sulfuric đặc.*

** Cách thử:*

- *Dung dịch thử:* Cân một lượng cao tương đương 2,0 g Đan sâm, thêm 50 ml nước, đun sôi nhẹ 30 phút, để nguội, lọc. Chuyển dịch lọc vào bình gạn, lắc kỹ với 30 ml *Ether ethylic*. Gạn lấy dịch chiết *Ether ethylic*, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cắn trong 2 ml *methanol* được dung dịch chấm sắc ký.

- *Dung dịch đối chiếu:* Lấy 2,0 g dược liệu Đan sâm, thêm 50 ml nước, đun sôi nhẹ 30 phút, để nguội, lọc. Chuyển dịch lọc vào bình gạn, lắc kỹ với 30 ml *Ether ethylic*. Gạn lấy dịch chiết *Ether ethylic*, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cắn trong 2 ml *methanol* được dung dịch chấm sắc ký.

- *Cách tiến hành:* Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Tiến hành sắc ký theo DĐVN V, phụ lục 5.4. Sau khi triển khai được khoảng 10 - 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun thuốc thử hiện màu, sấy bản mỏng ở 105^0C trong cho đến khi hiện rõ vết, soi dưới ánh sáng thường.

- *Kết quả*: Dung dịch thử phải có các vết cùng màu, cùng R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

2.2.3. Định tính Đỗ trọng: Phương pháp sắc ký lớp mỏng (DĐVN V, phụ lục 5.4)

** Thuốc thử, dụng cụ*:

- Bản mỏng Silica gel GF_{254}, tráng sẵn của Merck, hoạt hóa ở 100^0C trong 30 phút.
- *Ether, cloroform, ethanol.*
- Dung môi triển khai sắc ký: *Cyclohexan – ethyl acetate – aceton (8 : 2 : 0,5).*
- Thuốc thử hiện vết: *Dung dịch vanilin 1% trong dung dịch acid sulfuric 10% trong ethanol.*

**Cách thử:*

- *Dung dịch thử:* Cân lượng cao tương đương 2,0 g Đỗ trọng, thêm 10 ml ether, ngâm qua đêm, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy tới khô, hòa tan cắn trong 2 ml cloroform, được dung dịch chấm sắc ký.

- *Dung dịch đối chiếu:* Lấy 2,0 g dược liệu Đỗ trọng, thêm 10 ml ether, ngâm qua đêm, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy tới khô, hòa tan cắn trong 2 ml cloroform, được dung dịch chấm sắc ký.

- *Cách tiến hành*: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 30 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Tiến hành sắc ký theo DĐVN V, phụ lục 5.4. Sau khi triển khai được khoảng 10 - 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun thuốc thử hiện vết, sấy bản mỏng ở 120^0C trong 5 phút. Quan sát bản mỏng dưới ánh thường.

Kết quả: Dung dịch thử phải có các vết cùng màu, cùng R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

2.2.4. Định tính Hoa hòe: Phương pháp sắc ký lớp mỏng (DĐVN V, phụ lục 5.4)

** Thuốc thử, dụng cụ:*

- Bản mỏng silica gel GF_{254}, tráng sẵn của Merck, đã hoạt hoá ở 100^0C trong 30 phút.
- *Ethanol*
- Dung môi triển khai sắc ký: *n-Butanol – acid acetic – nước (4: 1 : 5).*
- Thuốc thử hiện vết: *Hơi amoniac đậm đặc.*

** Cách thử:*

- *Dung dịch thử:* Cân lượng cao tương đương 2,0 g dược liệu, thêm 30 ml *ethanol 90%.* Đun sôi trong 10 min, để nguội, lọc, được dung dịch chấm sắc ký lớp mỏng.

- *Dung dịch đối chiếu:* Hòa tan rutin chuẩn trong *ethanol 90%* để được dung dịch có chứa 1 mg/ml.

- *Cách tiến hành:* Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Tiến hành sắc ký theo DĐVN V, phụ lục 5.4. Sau khi triển khai được khoảng 10 - 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại 365 nm; tiếp tục phun thuốc thử hiện vết. Sấy bản mỏng ở 120^0C trong 5 phút. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng thường.

- *Kết quả*: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng phát quang màu nâu và cùng giá trị R_f với vết rutin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Hiện màu bằng *hơi amoniac đậm đặc* , trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu vàng có cùng giá trị R_f với vết rutin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

2.2.5. Định tính Hoàng kỳ: Phương pháp sắc ký lớp mỏng (DĐVN V, phụ lục 5.4)

** Thuốc thử, dụng cụ:*

- Bản mỏng silica gel GF_{254}, tráng sẵn của Merck, đã hoạt hoá ở 100^0C trong 30 phút.
- *Ethyl acetate, Ethanol.*
- Dung môi triển khai sắc ký: *Cloroform – methanol (10 : 1).*
- Thuốc thử hiện vết: *Hơi amoniac.*

** Cách thử:*

- *Dung dịch thử:* Cân lượng cao tương đương 2,0 g Hoàng kỳ, cho vào bình nón 100ml,

thêm 50ml *nước,* đun sôi trong 30 phút, để nguội, ly tâm lấy dịch trong. Điều chỉnh dịch ly tâm đến pH 5-6. Cô dịch ly tâm trên cách thủy đến còn khoảng 20 ml, để nguội rồi chuyển sang bình gạn, thêm 20 ml *ethyl acetate*, lắc kỹ. Gạn dịch chiết *ethyl acetate*, cô trên cách thủy đến cạn, hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol* được dung dịch chấm sắc ký.

- *Dung dịch đối chiếu:* Lấy 2,0 g dược liệu Hoàng kỳ, cho vào bình nón 100ml, thêm 50ml *nước,* đun sôi trong 30 phút, để nguội, ly tâm lấy dịch trong. Điều chỉnh dịch ly tâm đến pH 5-6. Cô dịch ly tâm trên cách thủy đến còn khoảng 20 ml, để nguội rồi chuyển sang bình gạn, thêm 20 ml *ethyl acetate*, lắc kỹ. Gạn dịch chiết *ethyl acetate*, cô trên cách thủy đến cạn, hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol* được dung dịch chấm sắc ký.

- *Cách tiến hành:* Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Tiến hành sắc ký theo DĐVN V, phụ lục 5.4. Sau khi triển khai được khoảng 10 - 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, hơ trên hơi amoniac. Quan sát bản mỏng dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 365nm.

- *Kết quả*: Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng màu, cùng R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

2.2.6. Định tính Trần bì: Phương pháp sắc ký lớp mỏng (DĐVN V, phụ lục 5.4)

* *Thuốc thử, dụng cụ:*

- Bản mỏng silica gel GF_{254}, tráng sẵn của Merck, đã hoạt hoá ở 100^0C trong 30 phút.
- *Ethyl acetat, ethanol.*
- Dung môi triển khai sắc ký: *Toluen-cloroform-aceton (40:25:45)*
- Thuốc thử hiện vết: *Hỗn hợp dung dịch acid boric 10% - acid oxalic 10% (2 :1)*

* *Cách thử:*

- *Dung dịch thử*: Cân lượng cao tương đương 2,0 g Trần bì, thêm 100 ml nước, đun sôi nhẹ 30 phút, để nguội, lọc. Chuyển dịch lọc vào bình gạn, kiềm hóa dịch lọc đến pH=9-10, để yên 10 phút, lắc kỹ với 40 ml *ethyl acetat*. Gạn lấy dịch chiết *ethyl acetat*, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol* tuyệt đối được dung dịch chấm sắc ký.

- *Dung dịch đối chiếu:* Lấy 2,0 g dược liệu Trần bì, thêm 100 ml nước đun sôi nhẹ 30 phút, để nguội, lọc. Chuyển dịch lọc vào bình gạn, kiềm hóa dịch lọc đến pH=9-10, để yên 10 phút, lắc kỹ với 40 ml *ethyl acetat*. Gạn lấy dịch chiết *ethyl acetat*, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol* tuyệt đối được dung dịch chấm sắc ký.

- *Cách tiến hành:* Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Tiến hành sắc ký theo DĐVN V, phụ lục 5.4. Sau khi triển khai được khoảng 10 -12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, soi bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại 365nm; phun thuốc thử hiện màu, sấy bản mỏng ở 105 ^{0}C trong 10 phút, quan sát vết dưới ánh sáng thường.

- *Kết quả*: Dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng màu, cùng R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

2.2.7. Định tính Chỉ xác: Phương pháp sắc ký lớp mỏng (DĐVN V, phụ lục 5.4)

** Thuốc thử, dụng cụ:*

- Bản mỏng silica gel GF_{254}, tráng sẵn của Merck, đã hoạt hoá ở 100^0C trong 30 phút.

- *Ethyl acetat, ethanol.*

- Dung môi triển khai sắc ký: *Toluen-cloroform-aceton (40:25:45)*

- Thuốc thử hiện vết: *Hỗn hợp dung dịch acid boric 10% - acid oxalic 10% (2 :1)*

** Cách thử:*

- *Dung dịch thử*: Cân lượng cao tương đương 2,0 g Chỉ xác, thêm 50 ml nước, đun sôi nhẹ 30 phút, để nguội, lọc. Chuyển dịch lọc vào bình gạn, kiềm hóa dịch lọc đến pH=9-10, để yên 10 phút, lắc kỹ với 40 ml *ethyl acetat*. Gạn lấy dịch chiết *ethyl acetat*, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol* tuyệt đối được dung dịch chấm sắc ký.

- *Dung dịch đối chiếu:* Lấy 2,0 g dược liệu Chỉ xác, thêm 50 ml nước đun sôi nhẹ 30 phút, để nguội, lọc. Chuyển dịch lọc vào bình gạn, kiềm hóa dịch lọc đến pH=9-10, để yên 10 phút, lắc kỹ với 40 ml *ethyl acetat*. Gạn lấy dịch chiết *ethyl acetat*, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol* tuyệt đối được dung dịch chấm sắc ký.

- *Cách tiến hành:* Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Tiến hành sắc ký theo DĐVN V, phụ lục 5.4. Sau khi triển khai được khoảng 10 -12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, soi bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại 365nm; phun thuốc thử hiện màu, sấy bản mỏng ở 105 ^0C trong 10 phút, quan sát vết dưới ánh sáng thường.

- *Kết quả*: Dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng màu, cùng R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

2.2.8. Định tính Đại hoàng: Phương pháp sắc ký lớp mỏng (DĐVN V, phụ lục 5.4)

** Thuốc thử, dụng cụ:*

- Bản mỏng silica gel GF_{254}, tráng sẵn của Merck, đã hoạt hoá ở 100^0C trong 30 phút.

- *Cloroform, ethanol.*

- Dung môi triển khai sắc ký: *Toluen – ethyl acetat – methanol – acid formic – nước (30 : 10 : 2 : 0,5 : 5) (lắc kỹ, để tách lớp, lấy lớp trên).*

- Thuốc thử hiện vết: Hơi amoniac

** Cách thử:*

- *Dung dịch thử*: Cân lượng cao tương đương 2,0 g Đại hoàng, thêm 50 ml nước, đun sôi nhẹ 30 phút, để nguội, lọc. Chuyển dịch lọc vào bình gạn, lắc kỹ với 40 ml *Cloroform*. Gạn lấy dịch chiết *Cloroform*, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cắn trong 2 ml *ethanol* tuyệt đối được dung dịch chấm sắc ký.

- *Dung dịch đối chiếu:* Lấy 2,0 g dược liệu Đại hoàng, thêm 50 ml nước, đun sôi nhẹ 60 phút, để nguội, lọc. Chuyển dịch lọc vào bình gạn, lắc kỹ với 40 ml *Cloroform*. Gạn lấy dịch chiết *Cloroform*, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cắn trong 2 ml *ethanol* tuyệt đối

được dung dịch chấm sắc ký.

- *Cách tiến hành:* Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Tiến hành sắc ký theo DĐVN V, phụ lục 5.4. Sau khi triển khai được khoảng 10 -12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, soi bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại 365nm; Tiếp tục hiện vết bằng hơi amoniac, quan sát vết dưới ánh sáng thường.

- *Kết quả*: Dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng màu, cùng R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

2.3. Độ mịn: Thử theo DĐVN V - Phụ lục 3.5 - Cỡ bột và rây. Cân chính xác khoảng 25g cao, tiến hành rây qua rây số 180 (cỡ mắt rây 0,180mm).

2.4. Mất khối lượng do làm khô: Cân chính xác khoảng 1 g cao, tiến hành theo DĐVN V, phụ lục 9.6 - Xác định mất khối lượng do làm khô, phương pháp sấy trong tủ sấy tĩnh ở 105°C, áp suất thường đến khối lượng không đổi.

2.5. Tro toàn phần: Thử theo DĐVN V, phụ lục 9.8, phương pháp 2.

Cách tiến hành:

- Cân chính xác khoảng 1 g Cao vào chén sứ đã nung ở 600°C đến khối lượng không đổi và đã cân bì. Đốt trên bếp điện cho đến khi hết khói trắng bốc ra.
- Đặt chén có mẫu vào lò nung và tăng dần nhiệt độ đến 600°C. Tiến hành nung khoảng 2 giờ thu được tro màu trắng. Lấy chén nung ra để nguội một lúc sau đó cho vào tủ sấy tĩnh, sấy ở nhiệt độ 105°C trong 30 phút, lấy ra cho vào bình hút ẩm, để nguội rồi cân. Lặp lại quá trình trên cho đến khi trọng lượng không đổi (sai lệch giữa 2 lần cân không quá 0,5 mg).
- Hàm lượng tro toàn phần (T%) tính trên chế phẩm sấy khô được tính theo công thức:

$$T(\%) = \frac{(m2 - m1) \times 100}{m \times \frac{100-H}{100}}$$

Trong đó:

- m_1: khối lượng chén nung (g)
- m_2: khối lượng tro và chén nung (g)
- m: khối lượng mẫu thử (g)
- H: độ ẩm (%)

2.6. Kim loại nặng: Thử theo DĐVN V, phụ lục 9.4.8, phương pháp 3, sử dụng 1g chế phẩm và 2ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

2.7. Cắn không tan trong nước

Cân chính xác khoảng 1,0 g chế phẩm (m_{cp}), cho vào cốc mỏ 100 ml, thêm 30 ml nước sôi, khuấy cho tan hết cao, lọc vào giấy lọc đã xác định bì ($m_{bì}$), rửa giấy lọc nhiều lần bằng nước sôi cho đến khi nước rửa không màu, sấy giấy lọc có cắn ở 105 °C trong 3 giờ, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm, cân nhanh để xác định khối lượng ($m_{bì+cắn}$).

Hàm lượng cắn trong chế phẩm được tính theo công thức sau:

$$X\ \% = \frac{(m_{bì+cắn} - m_{bì}) \times 100}{m_{cp} \times (100\% - \%\ ẩm)}$$

2.8 Chất chiết được:

a. Hóa chất, thuốc thử:

- *Ethanol 70 % (TT).*

b. Tiến hành:

- Cân chính xác khoảng 2 g chế phẩm cho vào bình nón nút mài 100 ml. Thêm chính xác 50,0 ml *ethanol 70 % (TT)*, đậy kín, cân xác định khối lượng, lắc đều, để yên 1 giờ, sau đó đun sôi hồi lưu 1 giờ, để nguội, lấy bình nón ra, đậy kín, cân để xác định lại khối lượng, dùng *ethanol 70 % (TT)* để bổ sung phần khối lượng bị giảm, lắc đều. Lọc qua phễu lọc và giấy lọc khô, bỏ 5 ml dịch lọc đầu. Hút chính xác 25,0 ml dịch lọc vào cốc thủy tinh đã cân bì trước, cô trong cách thủy đến cắn, cắn thu được sấy ở 105 ^{0}C trong 3 giờ. Để nguội trong bình hút ẩm đến nhiệt độ phòng, đem cân nhanh để xác định khối lượng cắn.
- *Chất chiết được trong ethanol 70 % (TT) được tính theo công thức:*

$$X(\%) = \frac{a \times 50}{m_T \times 25} \times 100$$

Trong đó:

a : Khối lượng cắn cân được tính bằng (g).

m_T : Khối lượng mẫu thử được tính bằng (g).

2.9 Độ nhiễm khuẩn: Tiến hành thử theo DĐVN V, phụ lục 13.6 - Thử giới hạn nhiễm khuẩn

2.9.1. Tổng số vi khuẩn hiếu khí, tổng số nấm: *Phương pháp đĩa thạch - Cấy trộn*

- *Chuẩn bị mẫu thử:* Lấy khoảng 20 gam cao chế phẩm, nghiền mịn và trộn đều bằng cối vô khuẩn. Cân chính xác 10g bột chế phẩm vào chai thủy tinh trung tính 250ml vô trùng. Thêm dung dịch đệm phosphat pH 7,2 hoặc dung dịch đệm natri clorid-pepton pH 7,0, để có nồng độ 10^{-1}, lắc kỹ. Pha loãng tiếp bằng cùng dung dịch pha loãng để được các nồng độ 10^{-2}, 10^{-3}.
- *Tiến hành:* Sử dụng đĩa Petri đường kính 9cm, thêm vào mỗi đĩa 1ml mẫu thử đã được xử lý theo phần Chuẩn bị mẫu thử, thêm 15ml đến 20ml môi trường Tryptic soy agar (TSA) vô trùng để nuôi cấy vi khuẩn, 15ml đến 20ml môi trường thạch Sabouraud-dextrose agar (SDA) vô trùng để nuôi cấy nấm. Chuẩn bị 2 đĩa môi trường cho mỗi nồng độ pha loãng. Ủ các đĩa đếm vi khuẩn ở nhiệt độ 30°C - 35°C trong 3-5 ngày và ủ các đĩa vi nấm ở nhiệt độ 20°C - 25°C trong 5-7 ngày. Thực hiện kiểm soát chứng âm tính bằng cách sử dụng chất pha loãng thay cho mẫu thử.
- *Đánh giá kết quả*: Theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 13.6 - Thử giới hạn nhiễm khuẩn - Xác định tổng số vi sinh vật.

2.9.2. Vi khuẩn Gram âm dung nạp mật:

- *Chuẩn bị mẫu thử:* Chuẩn bị mẫu thử có nồng độ pha loãng 10^{-1} như mô tả trong phần Chuẩn bị mẫu thử mục 2.9.1 nhưng sử dụng môi trường lỏng casein đậu tương là dung dịch pha loãng, trộn đều và ủ ở 20°C - 25°C trong một thời gian thích hợp để phục hồi lại vi khuẩn mà không làm tăng số lượng vi khuẩn (thường từ 2h đến không quá 5h) (Hỗn hợp A).
- *Phát hiện vi khuẩn:* Chuyển một thể tích tương đương với 1g hoặc 1ml Hỗn hợp A vào 100ml môi trường lỏng tăng sinh Enterobacteria-Mossel. Ủ ở 30°C - 35°C trong 24h - 48h. Cấy chuyển lên môi trường thạch muối mật tím đỏ. Ủ ở 30°C - 35°C trong 18h -24h. Mẫu thử không có *Enterobacteria* nếu không thấy khuẩn lạc mọc trên môi trường.
- *Phân lập và cấy chuyển:* Cấy lượng mẫu thử đã được chuẩn bị theo phần Chuẩn bị mẫu thử và tiền ủ tương ứng chứa 0,1g; 0,01g và 0,001g vào 100ml môi trường lỏng tăng sinh Enterobacteria-Mossel. Ủ ở 30°C - 35°C trong 24h - 48h. Cấy chuyển từ mỗi ống môi trường trên sang môi trường thạch muối mật tím đỏ. Ủ ở 30°C đến 35°C trong 18h đến 24h.
- *Đánh giá kết quả:* Khuẩn lạc mọc trên môi trường chứng tỏ kết quả dương tính. Ghi lượng nhỏ nhất của chế phẩm mà ở đó cho kết quả dương tính và lượng lớn nhất của chế phẩm mà ở đó cho kết quả âm tính. Xác định số lượng vi khuẩn theo Bảng 13.6.5. - Phụ lục 13.6 - Thử giới hạn nhiễm khuẩn.

2.9.3. Escherichia coli:

- *Chuẩn bị mẫu thử:* Sử dụng 10ml mẫu thử có nồng độ 10^{-1} trong phần Chuẩn bị mẫu thử mục 2.9.1 cấy vào 100ml môi trường Triptic soy broth (TSB), trộn đều và ủ ở 30°C - 35°C trong 18h - 24h.
- *Phân lập và cấy chuyển:* Lắc chai môi trường TSB. Cấy chuyển 1ml môi trường TSB sang 100ml môi trường lỏng MacConkey và ủ ở 42°C - 44°C trong 24h - 48h. Tiếp tục cấy chuyển sang đĩa môi trường thạch MacConkey và ủ ở 30°C - 35°C trong 18h - 72h.
- *Đánh giá kết quả:* Khuẩn lạc mọc trên môi trường cho thấy mẫu thử có thể có *E. coli*. Mẫu thử không có *E. coli* nếu không có khuẩn lạc mọc trên môi trường. Nếu nghi ngờ, tiếp tục xác định bằng các phản ứng sinh hóa khác.

2.9.4. Salmonella:

- *Chuẩn bị mẫu thử:* Lấy lượng mẫu thử đã xử lý như mô tả trong phần Chuẩn bị mẫu thử mục 2.9.1 tương ứng với 10g mẫu thử và cấy vào một thể tích phù hợp môi trường lỏng casein đậu tương, trộn đều và ủ ở 30°C - 35°C trong 18h - 24h.
- *Phân lập và cấy chuyển:* Cấy chuyển 0,1ml môi trường lỏng casein đậu tương sang 10ml môi trường tăng sinh *Salmonella* Rappaport Vassiliadis và ủ ở 30°C - 35°C trong 18h - 24h. Tiếp tục cấy chuyển sang đĩa môi trường thạch Xylose lysin deoxycholat và ủ ở 30°C - 35°C trong 18h - 48h.
- *Đánh giá kết quả:* Khuẩn lạc màu đỏ, có hoặc không có trung tâm màu đen mọc trên môi trường cho thấy mẫu thử có thể có *Salmonella*. Mẫu thử không có *Salmonella* nếu không có khuẩn lạc có đặc điểm mô tả ở trên mọc trên môi trường. Nếu nghi ngờ, tiếp tục xác định bằng các phản ứng sinh hóa khác.

2.9.5. Staphylococcus aureus:

- Sử dụng 10ml mẫu thử có nồng độ 10^{-1} trong phần Chuẩn bị mẫu thử mục 2.9.1 cấy vào 100ml môi trường lỏng casein đậu tương, trộn đều và ủ ở 30°C - 35°C trong 18h - 24h. Cấy chuyển sang đĩa môi trường thạch muối manitol và ủ ở 30°C - 35°C trong 18h - 72h.
- *Đánh giá kết quả:* Khuẩn lạc màu vàng hoặc trắng có vòng màu vàng bao quanh mọc trên môi trường cho thấy mẫu thử có thể có *S. aureus*. Mẫu thử không có *S. aureus* nếu không có khuẩn lạc có đặc điểm mô tả ở trên mọc trên môi trường. Nếu nghi ngờ, tiếp tục xác định bằng các phản ứng sinh hóa khác.

3. ĐÓNG GÓI – GHI NHÃN – BẢO QUẢN – HẠN DÙNG

- **Đóng gói:** 10kg trong 2 lần túi PE (thêm túi nhôm hàn kín).
- **Ghi nhãn:** Nhãn in rõ ràng, đúng quy chế.
- **Bảo quản:** Trong bao bì kín, nơi khô, nhiệt độ dưới 30°C.
- **Hạn dùng:** 6 tháng kể từ ngày sản xuất.

Hải Phòng, ngày 28 tháng 11 năm 2024

CÔNG TY CỔ PHẦN NHÀ MÁY BÁCH THẢO DƯỢC

P. TỔNG GIÁM ĐỐC

M.S.D.N: 0201880676 CÔNG TY CỔ PHẦN NHÀ MÁY BÁCH THẢO DƯỢC THÀNH PHỐ HẢI PHÒNG

Ds. Phùng Văn Thảo

CÔNG TY CỔ PHẦN NHÀ MÁY BÁCH THẢO DƯỢC		
Mã số: TCKT-NC10	TIÊU CHUẨN KỸ THUẬT TRÚC NHỰ	Trang: 1 / 2
Ngày ban hành: Ngày 28/11/2024		Lần sửa đổi: 0

THEO DÕI SỬA ĐỔI

TT	Trang	Nội dung sửa đổi	Ngày hiệu lực	Duyệt sửa đổi

CÔNG TY CỔ PHẦN NHÀ MÁY BÁCH THẢO DƯỢC		
Mã số: TCKT-NC10	**TIÊU CHUẨN KỸ THUẬT TRÚC NHỰ**	Trang: 2 / 2
Ngày ban hành: Ngày 28/11/2024		Lần sửa đổi: 0

Chỉ tiêu	Yêu cầu kỹ thuật	Phương pháp thử
1. Mô tả	Dược liệu là những mảnh vụn không đều, hoặc là những thanh dài có chiều rộng và độ dày khác nhau, màu vàng nhạt hoặc xanh lục. Mùi thơm nhẹ, vị nhạt.	Cảm quan
2. Độ ẩm	Không quá 7,0%	Theo CP 2020
3. Chất chiết được trong nước	Không ít hơn 4,0%	Theo CP 2020

Ngày 28/11/2024

ĐẠI DIỆN CÔNG TY

PHÓ TỔNG GIÁM ĐỐC

Phùng Văn Thảo

CÔNG TY CỔ PHẦN NHÀ MÁY BÁCH THẢO DƯỢC		
Mã số: TCKT-NC08	**TIÊU CHUẨN KỸ THUẬT BÁN HẠ CHẾ**	Trang: 1 / 2
Ngày ban hành: Ngày 28/11/2024		Lần sửa đổi: 0

THEO DÕI SỬA ĐỔI

TT	Trang	Nội dung sửa đổi	Ngày hiệu lực	Duyệt sửa đổi

CÔNG TY CỔ PHẦN NHÀ MÁY BÁCH THẢO DƯỢC		
Mã số: TCKT-NC08	**TIÊU CHUẨN KỸ THUẬT BÁN HẠ CHẾ**	Trang: 2 / 2
Ngày ban hành: Ngày 28/11/2024		Lần sửa đổi: 0

Chỉ tiêu	Yêu cầu kỹ thuật		Phương pháp thử
1. Mô tả	Dạng hình cầu hay hình cầu dẹt, đường kính 1cm đến 1,5cm. Mặt ngoài trắng hay vàng nhạt. Đỉnh có chỗ lõm là vết sẹo của thân cây, xung quanh có nhiều vết sẹo rễ là các chấm nhỏ. Phía đáy tù và tròn, hơi nhẵn. Chất cứng chắc, mặt cắt trắng và có nhiều bột. Mùi nhẹ, vị hơi tê và kích ứng.		Cảm quan
2. Bột	Bột màu trắng ngà. Nhiều hạt tinh bột, hình tròn, hình bán nguyệt, hay hình nhiều cạnh, rốn hình khe, hình chữ V hoặc hình sao, vân không rõ. Hạt tinh bột đơn hay kép từ 2 đến 6 hạt. Tinh thể calci oxalat hình kim, tập trung hoặc rải rác khắp nơi. Mạch xoắn.		Cảm quan và soi dưới kính hiển vi
3. Định tính	Dược liệu phải thể hiện được phép định tính của Bán hạ chế.	**Phương pháp sắc ký lớp mỏng (phụ lục 5.4)** - *Bản mỏng*: Silicagel GF_{254} - *Dung môi triển khai*: n-Butanol - acid acetic - nước = 8: 3: 1. - *Dung dịch thử:* Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 50 ml methanol, lắc đều, đun hồi lưu trong 60 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy còn khoảng 5 ml. Lấy dịch cô chấm sắc ký. - *Dung dịch dược liệu đối chiếu*: Lấy 5g bột Bán hạ chế (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử. - *Cách tiến hành:* Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Phun thuốc thử ninhydrin, sấy bản mỏng ở 105°C. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.	
4. Độ ẩm	Không quá 13%	DĐVN V, phụ lục 9.6, 1g, 105°C, 4h.	

Ngày 28/11/2024

ĐẠI DIỆN CÔNG TY

PHÓ TỔNG GIÁM ĐỐC

Phùng Văn Thảo

Phụ lục 2

QUY TRÌNH SẢN XUẤT

CÔNG TY CỔ PHẦN NHÀ MÁY BÁCH THẢO DƯỢC

QUY TRÌNH SẢN XUẤT
CAO KHÔ HỖN HỢP DƯỢC LIỆU

Mục lục:

1	Tiêu chuẩn nguyên phụ liệu	6	Kiểm soát trong quá trình sản xuất
2	Thành phần công thức	7	An toàn lao động
3	Sơ đồ quy trình sản xuất	8	Dư phẩm – phế phẩm
4	Mô tả quy trình sản xuất	9	Những hồ sơ cần thiết
5	Danh mục trang thiết bị sản xuất		

***

MỞ ĐẦU

Quy trình này áp dụng cho bán thành phẩm **Cao khô hỗn hợp dược liệu**, thực hiện sản xuất tại nhà máy **CÔNG TY CỔ PHẦN NHÀ MÁY BÁCH THẢO DƯỢC**, địa chỉ: Lô Q – 6, Khu công nghiệp Tràng Duệ, thuộc khu kinh tế Đình Vũ – Cát Hải, xã An Hoà, huyện An Dương, thành phố Hải Phòng, Việt Nam.

THEO DÕI SỬA ĐỔI

STT	Ngày ban hành	Nội dung
1	28/11/2024	Ban hành lần đầu

1. TIÊU CHUẨN NGUYÊN PHỤ LIỆU

STT	Tên nguyên liệu, phụ liệu	Tên khoa học	Tiêu chuẩn
1	Thổ phục linh	*Rhizoma Smilacis glabrae*	DĐVN V
2	Đan sâm	*Radix et Rhizoma Salviae miltiorrhizae*	DĐVN V
3	Đỗ trọng	*Cortex Eucommiae*	DĐVN V
4	Hoa hòe	*Flos Styphnolobii japonici imaturi*	DĐVN V
5	Hoàng kỳ	*Radix Astragali membranacei*	DĐVN V
6	Rau má	*Herba Centellae asiaticae*	DĐVN V
7	Cốt khí	*Radix Polygoni cuspidati*	DĐVN V
8	Bán hạ (chế)	*Rhizoma Pinelliae*	TCCS
9	Trần bì	*Pericarpium Citri reticulatae perenne*	DĐVN V
10	Trúc nhự	*Caulis bambusae in Taeniam*	NSX
11	Chỉ xác	*Fructus Aurantii*	DĐVN V
12	Tàm sa	*Faeces bombycum*	NSX
13	Đại hoàng	*Rhizoma Rhei*	DĐVN V
14	Ngưu tất	*Radix Achyranthis bidentatae*	DĐVN V
15	Methylparaben	*Methylis parahydroxybenzoas*	USP 2023
16	Propylparaben	*Propylis parahydroxybenzoas*	USP 2022
17	Ethanol 96%	*Ethanolum 96%*	DĐVN V
18	Nước sinh hoạt (*)		QCVN 01-1:2018/BYT

(: Phụ liệu bay hơi trong quá trình sản xuất)*

2. THÀNH PHẦN CÔNG THỨC:

Công thức cho một đơn vị nhỏ nhất (21g cao khô hỗn hợp dược liệu)

STT	Thành phần	Hàm lượng (g)	Tiêu chuẩn
	Cao khô hỗn hợp dược liệu tương đương		TCCS
1	Thổ phục linh (*Rhizoma Smilacis glabrae)*	20	DĐVN V
2	Đan sâm (*Radix et Rhizoma Salviae miltiorrhizae)*	20	DĐVN V
3	Đỗ trọng (*Cortex Eucommiae)*	20	DĐVN V
4	Hoa hòe (*Flos Styphnolobii japonici imaturi)*	20	DĐVN V
5	Hoàng kỳ (*Radix Astragali membranacei)*	20	DĐVN V
6	Rau má (*Herba Centellae asiaticae)*	20	DĐVN V
7	Cốt khí (*Radix Polygoni cuspidati)*	20	DĐVN V

8	Bán hạ (chế) (*Rhizoma Pinelliae)*	10	TCCS
9	Trần bì (*Pericarpium Citri reticulatae perenne)*	10	DĐVN V
10	Trúc nhự (*Caulis bambusae in Taeniam)*	10	NSX
11	Chỉ xác (*Fructus Aurantii)*	10	DĐVN V
12	Tàm sa (*Faeces bombycum)*	10	NSX
13	Đại hoàng (*Rhizoma Rhei)*	10	DĐVN V
14	Ngưu tất (*Radix Achyranthis bidentatae)*	10	DĐVN V
15	Methylparaben *(Methylis parahydroxybenzoas)*	0,038	USP 2023
16	Propylparaben *(Propylis parahydroxybenzoas)*	0,004	USP 2022
17	Ethanol 96% *(Ethanolum 96%)* (*)	0,126	DĐVN V
18	Nước sinh hoạt	Vừa đủ	QCVN 01-1:2018/BYT

(: Phụ liệu bay hơi trong quá trình sản xuất)*

3. SƠ ĐỒ QUY TRÌNH SẢN XUẤT

Nguyên liệu	Giai đoạn sản xuất	Kiểm soát trong sản xuất
	Chuẩn bị trước khi sản xuất	- Phòng sản xuất. - Máy móc, dụng cụ. - Công nhân sản xuất.
Thổ phục linh, Đan sâm, Đỗ trọng, Hoa hòe, Hoàng kỳ, Rau má, Cốt khí, Bán hạ (chế), Trần bì, Trúc nhự, Chỉ xác, Tàm sa, Đại hoàng, Ngưu tất →	**Cân nguyên liệu**	- Tên dược liệu, phụ liệu - Số lượng cân.
	Sơ chế, chế biến dược liệu	- Các bước sơ chế, chế biến dược liệu. - Tạp chất còn sót lại.
Nước sinh hoạt →	**Chiết xuất dược liệu**	- Số lần chiết: 1 lần - Thời gian chiết: 6 giờ - Hình thức dịch chiết thu được.

Methylparaben, Propylparaben, Ethanol 96% →	**Cô cao**	- Nhiệt độ cô: 70^0C - 90^0C - Áp suất cô: -0,06→ -0,08 Mpa - Độ ẩm: 20,0% - 25,0%.
	Sấy cao	- Nhiệt độ sấy: 80^0C - Thời gian sấy: Khoảng 24 giờ. - Độ ẩm: Không quá 5,0%.
	Nghiền, rây	- Cỡ rây: 4mm, 0,18mm. - Phải đạt theo TCCS.
	Đóng gói	- Hình thức, độ kín, sai số khối lượng. - Số lô, ngày sản xuất, hạn dùng in trên nhãn. - Kiểm nghiệm thành phẩm

4. MÔ TẢ QUY TRÌNH SẢN XUẤT

4.1. Công thức pha chế Cao khô hỗn hợp dược liệu: Cho 1 lô, mẻ sản xuất 1 lô = 1 mẻ = 9,5 kg cao khô:

STT	Thành phần	ĐVT	Khối lượng theo công thức (1 lô)	Khối lượng thực dùng (1 lô)	Tỷ lệ hư hao
1	Thổ phục linh	Kg	9,05	9,5	5%
2	Đan sâm	Kg	9,05	9,5	5%
3	Đỗ trọng	Kg	9,05	9,5	5%
4	Hoa hòe	Kg	9,05	9,5	5%
5	Hoàng kỳ	Kg	9,05	9,5	5%
6	Rau má	Kg	9,05	9,5	5%
7	Cốt khí	Kg	9,05	9,5	5%

8	Bán hạ (chế)	Kg	4,52	4,75	5%
9	Trần bì	Kg	4,52	4,75	5%
10	Trúc nhự	Kg	4,52	4,75	5%
11	Chỉ xác	Kg	4,52	4,75	5%
12	Tàm sa	Kg	4,52	4,75	5%
13	Đại hoàng	Kg	4,52	4,75	5%
14	Ngưu tất	Kg	4,52	4,75	5%
Tổng khối lượng dược liệu:		Kg	**95,0**	**99,75**	
15	Methylparaben	Gam	17,19	17,19	0%
16	Propylparaben	Gam	1,81	1,81	0%
17	Ethanol 96%	Gam	57	57	0%
19	Nước sinh hoạt	Lít	Vừa đủ	Vừa đủ	Vừa đủ

4.2. Mô tả quy trình sản xuất

4.2.1. Chuẩn bị trước khi sản xuất:

- Phòng sản xuất phải được làm vệ sinh theo đúng quy định và kiểm tra đạt yêu cầu.
- Máy móc, dụng cụ sử dụng trong quá trình sản xuất phải đủ về số lượng và đã được vệ sinh theo đúng quy định, sẵn sàng cho sử dụng.
- Công nhân sản xuất phải được trang bị đầy đủ bảo hộ lao động cần thiết.

4.2.2. Sơ chế, chế biến dược liệu:

- Loại bỏ tạp chất: Trải đều dược liệu ra khay inox rồi nhặt loại bỏ các tạp chất còn sót lại.
- Rửa dược liệu:

  + Cho dược liệu vào bể rửa dược liệu. Bơm nước ngập dược liệu, rửa dược liệu, rồi rút nước rửa lần 1. Tiếp tục bơm nước ngập dược liệu và tiến hành rửa lần 2, rút nước rửa lần 2, để ráo.
- Thái dược liệu: Sử dụng dao cầu thái dược liệu, thái thành các lát dày.

4.2.3. Chiết xuất dược liệu:

- Mỗi lô gồm 01 mẻ chiết xuất dược liệu.
- Cho dược liệu vào nồi chiết xuất theo đúng số lượng đã cân chia mẻ.
- Cho lượng nước cho vào ngập dược liệu: khoảng 700 lít.

+ Thời gian chiết: khoảng 6 giờ, tính từ khi nhiệt độ đạt 100^0C hoặc nhìn cảm quan thấy nước sôi.

+ Sau khi sôi 1 giờ 30 phút bật bơm tuần hoàn dịch trong 10-15 phút.
+ Đủ thời gian chiết, rút dịch chiết và lọc, thu được khoảng 500 lít.
- Chuyển dịch chiết vào nồi trung gian chứa dịch chiết.

4.2.4. Cô cao:

- Chuyển 1/3 lượng dịch chiết dược liệu (khoảng 170 lít) vào nồi cô chân không, tiến hành cô dưới áp suất giảm -0,06→-0,08 Mpa, nhiệt độ 70^0C - 90^0C.
  Lưu ý: thể tích dịch chiết không vượt quá 1/3 của thiết bị cô (dưới 200 lít)
- Tiến hành cô tương tự với phần còn lại của dịch chiết, cho đến khi thu được cao lỏng có tỷ trọng 1,10 - 1,15.
- Hoà tan 17,19 gam Methylparaben và 1,81 gam Propylparaben trong 57 gam Ethanol 96%, thu được dung dịch chất bảo quản đồng nhất. Phối từ từ dung dịch chất bảo quản vào cao nóng, tiếp tục khuấy 15 – 20 phút sau khi thêm chất bảo quản đến khi hỗn hợp đồng nhất.
- Tiếp tục cô dưới áp suất giảm -0,06→-0,08 Mpa, nhiệt độ 70^0C - 90^0C, cho đến khi thu được cao có hàm ẩm khoảng 20,0% – 25,0%.

4.2.5. Sấy cao:

- Chuyển lượng cao thu được vào các khay của tủ sấy tĩnh, mỗi khay khoảng 3kg, sấy ở nhiệt độ 80^0C.
- Trong quá trình sấy, cứ mỗi 30-40 phút đảo khay sấy hàng trên bên phải đổi sang bên trái và ngược lại, hàng bên dưới bên phải đổi sang bên trái và ngược lại.
- Thời gian sấy khoảng 24 giờ để thu được cao khô có hàm ẩm không quá 5,0%.

4.2.6. Nghiền:

- Thiết bị sử dụng: Máy nghiền búa văng.
- Tiến hành xay phá qua cỡ rây 4mm.
- Tiến hành xay mịn qua cỡ rây 0,18mm.
- Rây lại qua rây 0,18mm.
- Đựng cao khô trong thùng inox có lót sẵn túi PE, ghi nhãn bán thành phẩm.
- Lấy mẫu kiểm nghiệm bán thành phẩm tất cả các chỉ tiêu theo TCCS của cao khô hỗn hợp.
- Khi có kết quả kiểm nghiệm bán thành phẩm đạt yêu cầu, chuyển sang giai đoạn đóng gói.

4.2.7. Đóng gói:

- Đóng cao khô thu được trong 2 lần túi PE, mỗi túi tối đa 10 kg, đựng 2 lần túi PE trong túi nhôm trung gian hàn kín, có nhãn ghi rõ ngày sản xuất, khối lượng, tên người đóng gói.
- Bảo quản trong thùng kín, ở nơi khô, nhiệt độ dưới 30^0C.
- Hạn dùng: 6 tháng kể từ ngày sản xuất

5. DANH MỤC THIẾT BỊ SẢN XUẤT

STT	Tên thiết bị	Thông số kỹ thuật chính	Xuất xứ	Mục dích sử dụng	Tình trạng sử dụng
1	Cân đồng hồ 100kg	- Max: 100kg	Việt Nam	Cân nguyên liệu	Hoạt động tốt

2	Cân kỹ thuật 200g	- Max: 210g - Độ chính xác: 0,001g	Trung Quốc	Cân nguyên liệu	Hoạt động tốt
3	Cân sấy ẩm	- Trọng lượng mẫu sấy lớn nhất: 110 gam	Trung Quốc	Kiểm tra hàm ẩm	Hoạt động tốt
4	Nồi chiết tuần hoàn dung môi	- Dung tích 1000 lít - Công suất: 50-100kg/mẻ	Việt Nam	Chiết xuất dược liệu	Hoạt động tốt
5	Nồi trung gian chứa dịch chiết	- Dung tích 1000 lít		Chứa dịch chiết	Hoạt động tốt
6	Nồi cô chân không	- Dung tích 600 lít		Cô dịch chiết	Hoạt động tốt
7	Tủ sấy tĩnh	- 24 khay x 2-3kg/khay	Việt Nam	Sấy dược liệu, sấy cao	Hoạt động tốt
8	Máy nghiền búa văng	- Công suất: 100-300kg/h - Tốc độ 4000 vòng/phút	Trung Quốc	Nghiền dược liệu, cao khô thành bột mịn	Hoạt động tốt
9	Bể rửa dược liệu	- Dài 5m x rộng 2m	Việt Nam	Rửa dược liệu	Hoạt động tốt
10	Dao cầu thái dược liệu	- Kích thước: 40 x 10 cm		Thái dược liệu	Hoạt động tốt
11	Rây 0,18mm	- Mắt rây: 0,18mm		Rây dược liệu	Hoạt động tốt

6. KIỂM SOÁT TRONG QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT

STT	Giai đoạn	Nội dung kiểm soát	Yêu cầu	Phương pháp	Người thực hiện
1	Chuẩn bị trước khi sản xuất	- Phòng sản xuất. - Máy móc, dụng cụ. - Công nhân sản xuất.	- Đúng theo quy trình.	- Đối chiếu với quy trình	- Công nhân sản xuất. - Kiểm soát viên.
2	Cân dược liệu	- Tên dược liệu, phụ liệu. - Số lượng cân.	- Đúng dược liệu, phụ liệu - Đủ số lượng.	- Đối chiếu giữa nhãn và công thức sản xuất. - Đối chiếu số lượng cân với công thức sản xuất	- Công nhân sản xuất. - Kiểm soát viên.
3	Sơ chế, chế biến dược liệu	- Các bước sơ chế, chế biến dược liệu. - Tạp chất còn sót lại.	- Đúng theo quy trình. - Không còn tạp chất.	- Đối chiếu với quy trình. - Cảm quan.	- Công nhân sản xuất. - Kiểm soát viên.
4	Chiết xuất dược liệu	- Số lần chiết. - Thời gian chiết. - Độ trong dịch chiết thu được	- Số lần chiết: 1 lần. - Thời gian chiết: 6 giờ - Dịch chiết thu được phải trong	- Cảm quan. - Kiểm tra bằng đồng hồ.	- Công nhân sản xuất. - Kiểm soát viên.
5	Cô	- Nhiệt độ cô. - Áp suất cô. - Hàm ẩm cao.	- Nhiệt độ cô: 70^0C - 90^0C - Áp suất cô: -0,06→-0,08 Mpa - Hàm ẩm cao: 20,0% -25,0%.	- Kiểm tra bằng nhiệt kế. - Cảm quan. - Cân hàm ẩm.	- Công nhân sản xuất. - Kiểm soát viên.
6	Sấy	- Nhiệt độ sấy. - Thời gian sấy. - Hàm ẩm.	- Nhiệt độ sấy: 80^0C - Thời gian sấy: Khoảng 24 giờ. - Không quá 5,0%.	- Kiểm tra bằng nhiệt kế. - Kiểm tra bằng đồng hồ. - Cân hàm ẩm.	- Công nhân sản xuất. - Kiểm soát viên.
7	Nghiền	- Cỡ rây. - Kiểm nghiệm bán thành phẩm	- Cỡ rây: 4mm, 0,18mm. - Phải đạt theo TCCS.	- Cảm quan. - Theo TCCS.	- Công nhân sản xuất. - Kiểm soát viên.

					- Phòng kiểm nghiệm.
8	Đóng gói	- Quy cách đóng gói. - Số lô, ngày sản xuất, tên người đóng gói.	- Đúng quy cách. - Đúng số lô, ngày sản xuất, người đóng gói.	- Cảm quan. - Đối chiếu với hồ sơ lô.	- Công nhân sản xuất. - Kiểm soát viên.

7. AN TOÀN LAO ĐỘNG

7.1. Kỹ thuật an toàn

- Máy móc, thiết bị phải có hướng dẫn sử dụng, phải được làm vệ sinh theo đúng quy trình và được dán tem xác nhận.
- Công nhân đứng máy phải được hướng dẫn sử dụng thiết bị một cách an toàn, đúng kỹ thuật. Công nhân sản xuất phải nắm vững và thao tác thành thạo công việc như được mô tả trong quy trình sản xuất.
- Công nhân trực tiếp sản xuất và cán bộ kỹ thuật phải ghi chép chi tiết các diễn biến trong toàn bộ quá trình sản xuất vào hồ sơ lô một cách đầy đủ, chính xác và kịp thời.
- Thường xuyên kiểm tra việc thực hiện quy trình sản xuất của công nhân.

7.2. Vệ sinh công nghiệp

- Công nhân sản xuất phải được trang bị đầy đủ bảo hộ lao động cần thiết.
- Máy móc, dụng cụ sử dụng trong sản xuất phải đủ về số lượng, được vệ sinh sạch sẽ và sẵn sàng cho sử dụng.
- Phòng sản xuất phải được vệ sinh sạch sẽ, gọn gàng, ngăn lắp, tránh nhiễm chéo.

8. DƯ PHẨM VÀ PHẾ PHẨM

8.1. Dư phẩm

Phần cao khô loại ra do không đạt độ mịn, độ ẩm được thu hồi và chuyển sang phế phẩm.

8.2. Phế phẩm

Thu gom và huỷ các phần cao khô bị nhiễm bẩn theo đúng quy trình xử lý phế phẩm của nhà máy.

9. NHỮNG HỒ SƠ CẦN THIẾT

9.1. Quy trình sử dụng các máy

- Cân điện tử 100kg
- Cân kỹ thuật 200g
- Cân sấy ẩm
- Nồi chiết tuần hoàn dung môi
- Nồi trung gian chứa dịch chiết
- Nồi cô chân không
- Tủ sấy tĩnh
- Máy nghiền búa văng
- Bể rửa dược liệu
- Dao cầu thái dược liệu
- Rây 0,18mm

9.2. Chế độ làm việc của các tổ: Chiết xuất, đóng gói.

9.3. Chế độ vệ sinh cho từng khu vực sản xuất.

9.4. Tiêu chuẩn thành phẩm.

9.5. Nội quy an toàn và vệ sinh công nghiệp nơi sản xuất dược phẩm.

9.6. Hồ sơ tài liệu quản lý chất lượng của nhà máy.

Ngày 28 tháng 11 năm 2024

CÔNG TY CỔ PHẦN NHÀ MÁY BÁCH THẢO DƯỢC

CÔNG TY CỔ PHẦN NHÀ MÁY BÁCH THẢO DƯỢC

PHÓ TỔNG GIÁM ĐỐC

Phùng Văn Thảo

Phụ lục 3

ĐẶC ĐIỂM CÁC VỊ THUỐC TRONG THÀNH PHẦN CAO KHÔ "THĂNG THANH GIÁNG TRỌC"

1. Bán hạ chế

Thân rễ già được chế biến thành phiến khô của cây Chóc chuột.

Tính vị, quy kinh, công năng, chủ trị: cay, ôn. Vào kinh tỳ, vị, phế. Công năng hoá đàm táo thấp, giáng nghịch chỉ nôn, giáng khí chỉ ho. Chủ trị nôn, buồn nôn, đầy chướng bụng; ho đờm nhiều; trừ thấp trệ ở người béo bệu.

Thành phần hoá học: chưa thấy có tài liệu nghiên cứu.

Tác dụng dược lý: chữa ho, chống nôn.

Liều dùng: ngày dùng từ 4g đến 12g.

2. Trần bì

Vỏ quả chín đã phơi hoặc sấy khô và để lâu năm của cây Quýt.

Tính vị, quy kinh, công năng, chủ trị: khổ, tân, ôn. Vào kinh phế, tỳ. Công năng lý khí kiện tỳ, hoá đờm ráo thấp. Chủ trị bụng đau, đầy chướng, kém ăn, nôn mửa, ỉa lỏng, ho đờm nhiều.

Thành phần hoá học: vỏ quả quýt còn tươi chứa tinh dầu 3,8% (2000 đến 2500 quả cho 1 lít tinh dầu), nước và thành phần bốc hơi được 61,25%, hesperidin $C_{50}H_{60}O_{27}$, vitamin A, B và chừng 0,8% tro. Nước quýt có đường 11,6%, axit xitric 25, vitamin C (25-40mg trong 100g), caroten. Hạt quýt định lượng độ tro chừng 0,2%. Lá quýt chứa 0,5% tinh dầu.

Tác dụng dược lý: vỏ và lá quýt để chế tinh dầu.

Liều dùng: ngày dùng từ 3g đến 9g.

3. Thổ phục linh

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Thổ phục linh.

Tính vị, quy kinh, công năng, chủ trị: cam, đạm, bình. Vào kinh can, vị. Công năng trừ thấp, giải độc, lợi niệu, thông lợi các khớp. Chủ trị tràng nhạc, lở ngứa, giang mai, tiểu đục, xích bạch đới, đau nhức xương khớp, trúng độc thuỷ ngân.

Thành phần hoá học: saponin, tanin, chất nhựa.

Tác dụng dược lý: dùng làm thuốc tẩy máu, làm ra mồ hôi, chữa giang mai.

Liều dùng: ngày dùng từ 12g đến 30g.

4. Trúc nhự

Là vị thuốc chế bằng cách cạo vỏ xanh của cây tre, cây vầu và nhiều loại tre bương khác, thuộc họ Lúa, sau đó cạo lớp thân thành từng mảnh mỏng hay sợi mỏng rồi phơi hay sấy khô.

Tính vị, quy kinh, công năng, chủ trị: ngọt, hơi lạnh. Vào kinh phế, vị can. Công năng thanh nhiệt, lương huyết, trừ phiền, hết nôn, an thai. Chủ trị sốt, buồn bực, nôn mửa, nôn ra máu, chảy máu cam, băng huyết.

Thành phần hoá học: chưa được nghiên cứu, chưa rõ hoạt chất là gì.

Liều dùng: ngày dùng 10g đến 20g.

5. Chỉ xác

Quả chưa chín đã bổ đôi, phơi hay sấy khô của cây Cam chua hoặc cây Cam ngọt.

Tính vị, quy kinh, công năng, chủ trị: khổ, tân, lương. Vào các kinh tỳ, vị. Công năng phá khí hoá đờm tiêu tích. Chủ trị ngực sườn chướng đau do khí trệ, khó tiêu do đờm trệ.

Thành phần hoá học: 9, 89% glucozit, các hoạt chất khác chưa rõ.

Tác dụng dược lý: tác dụng trên tử cung, dạ dày, ruột, mạch máu, bộ máy tiết niệu và hô hấp.

Liều dùng: ngày dùng từ 3g đến 9g.

6. Đan sâm

Rễ và thân rễ phơi hoặc sấy khô của cây Đan sâm.

Tính vị, quy kinh, công năng, chủ trị: khổ, vi hàn. Vào các kinh tâm, can. Công năng hoạt huyết thông kinh, giảm đau, thanh tâm lương huyết. Chủ trị kinh nguyệt không đều, kinh nguyệt bế tắc, hành kinh đau bụng, huyết tích hòn cục, đau thắt ngực, mất ngủ, tâm phiền.

Thành phần hoá học: trong đan sâm có 3 chất xeton có tinh thể bao gồm Tansinon I ($C_{18}H_{12}O_3$), Tansinon II ($C_{19}H_{18}O_3$), Tansinon III ($C_{19}H_{20}O_3$).

Tác dụng dược lý: chưa thấy có tài liệu nghiên cứu, nhìn công thức cấu tạo thấy có tính chất của vitamin K.

Liều dùng: ngày dùng từ 9g đến 15g.

7. Hoàng kỳ

Rễ phơi hay sấy khô của cây Hoàng Kỳ Mông Cổ hoặc cây Hoàng Kỳ Mạc Giáp.

Tính vị, quy kinh, công năng, chủ trị: cam, ôn. Vào các kinh phế, tỳ. Công năng bổ khí cố biểu, lợi tiểu, trừ mủ, sinh cơ. Chủ trị khí hư mệt mỏi, kém ăn; trung khí hạ hãm, tiêu chảy lâu ngày, sa tạng phủ, tiện huyết, rong huyết, ra mồ hôi, nhọt độc khó vỡ, nội nhiệt tiêu khát, viêm thận mạn.

Thành phần hoá học: theo sự nghiên cứu của Sở dược thuộc Viện nghiên cứu y học Bắc Kinh, trong hoàng kỳ có cholin betain, nhiều loại axit amin và sacaroza. Theo Lý Thừa Cố (*Sinh dược học*, 1952) trong hoàng kỳ có sacaroza, glucoza, tinh bột, chất nhầy, gôm, hơi có phản ứng ancaloit. Mới đây người ta phát hiện trong hoàng kỳ có chất sele-nium.

Tác dụng dược lý: tác dụng lợi tiểu, kháng sinh.

Liều dùng: ngày dùng từ 9g đến 30g.

8. Tầm sa

Là phân tằm phơi khô.

Tính vị, quy kinh, công năng, chủ trị: ngọt, cay, ôn. Vào các kinh can, tỳ, vị. Công năng trừ phong thấp, hoá huyết ứ. Chủ trị đau khớp, chân tay tê dại.

Thành phần hoá học: trong tầm sa có vitamin A và B (theo Dược tài học – Bắc Kinh, 1960).

Liều dùng: ngày dùng từ 6g đến 12g.

9. Rau má

Toàn cây tươi hoặc phơi khô của cây Rau má.

Tính vị, quy kinh, công năng, chủ trị: khổ, tân, hàn. Vào các kinh can, tỳ, thận. Công năng thanh nhiệt trừ thấp, giải độc, tiêu sưng. Chủ trị hoàn đản thấp nhiệt, tiêu chảy, thổ huyết, chảy máu cam, nhọt độc sưng, tiểu tiện rắt buốt.

Thành phần hoá học: rau má được nhiều người nghiên cứu, nhưng kết quả chưa thống nhất. Theo Basu và Lamsal (1947), trong rau má có một ancaloit gọi là hydrocotylin $C_{22}H_{33}O_8N$. Theo Bửu Hội, Rakoto Ratsimamanga và Boiteau, trong cây rau má thu hái ở đảo Mangat có chứa một glucozit gọi là asiaticozit với công thức $C_{54}H_{88}O_{23}$.

Liều dùng: ngày dùng từ 30g đến 40g.

10. Đại hoàng

Thân rễ đã cạo bỏ vỏ phơi hay sấy khô của các loài Đại hoàng.

Tính vị, quy kinh, công năng, chủ trị: khổ hàn. Vào các kinh tỳ, vị, đại trường, can, tâm bào. Công năng thanh trường thông tiện, tả hoả giải độc, trục ứ thông kinh. Chủ trị táo bón do thực nhiệt, đau bụng, hoàng đản, bế kinh, chấn thương tụ máu, chảy máu cam, nhọt độc sưng đau.

Thành phần hoá học: trong đại hoàng có 2 loại hoạt chất tác dụng trái ngược nhau. Loại hoạt chất có tính chất thu liễm – là hợp chất có tanin (rheotannoglucozit). Loại hoạt chất có tác dụng tẩy là Rheoanthraglucozit.

Tác dụng dược lý: kích thích sự co bóp của ruột, diệt khuẩn.

Liều dùng: ngày dùng từ 3g đến 12g.

11. Cốt khí

Rễ củ phơi hay sấy khô của cây Cốt khí.

Tính vị, quy kinh, công năng, chủ trị: vi khổ, vi hàn. Vào các kinh can, đởm, phế. Công năng trừ thấp, chỉ ho, hoá đờm. Chủ trị xương khớp đau nhức, hoàng đản, phế nhiệt gây ho, ho nhiều đờm, mụn nhọt lở loét.

Thành phần hoá học: trong rễ cây này có antraglucozit chủ yếu là emodin hay rheum emodin $C_{15}H_{10}O_5$, emodin monometyl ete $C_{16}H_{12}O_5$ dưới dạng tự do và kết hợp. Ngoài ra còn có chất polygonon $C_{21}H_{20}O_{10}$ và tanin.

Liều dùng: ngày dùng từ 9g đến 15g.

12. Ngưu tất

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Ngưu tất.

Tính vị, quy kinh, công năng, chủ trị: khổ, toan, bình. Vào các kinh can, thận. Công năng hoạt huyết thông kinh, mạnh gân cốt, bổ can thận. Chủ trị đau lưng gối, mỏi gân xương, bế kinh, kinh nguyệt không đều, tăng huyết áp.

Thành phần hoá học: saponin, ecdysteron, inokosteron và muối kali.

Tác dụng dược lý: chất saponin của ngưu tất có tác dụng phá huyết và làm cho vón anbumin. Ecdysteron và inokosteron có tác dụng làm kìm hãm sự phát triển của một số sâu bọ.

Liều dùng: ngày dùng từ 8g đến 12g.

13. Đỗ trọng

Vỏ thân đã phơi hay sấy khô của cây Đỗ trọng.

Tính vị, quy kinh, công năng, chủ trị: cam, ôn. Vào các kinh can, thận. Công năng bổ can thận, mạnh gân cốt, an thai, hạ áp. Chủ trị can thận bất túc, đau nhức lưng gối, xương khớp, gân cốt vô lực, di tinh, liệt dương, động thai ra máu, lưu thai chóng mặt, hoa mắt, tăng huyết áp.

Thành phần hóa học: gutta pecka, albumin, chất béo, tinh dầu và muối vô cơ.

Tác dụng dược lý: với liều vừa phải, có tác dụng kích thích. Với liều cao có tác dụng ức chế hệ thống thần kinh trung ương, nhất là vùng vỏ não. Tác dụng hạ huyết áp do tác dụng trên trung tâm vận mạch ở hành tủy và trên mẻ tẩu thần kinh (nerf vague). Đỗ trọng còn có tác dụng làm mạnh sự co bóp của cơ tim.

Liều dùng: ngày dùng từ 6g đến 9g.

14. Hoa hòe

Nụ hoa đã phơi hay sấy nhẹ đến khô của cây Hòe.

Tính vị, quy kinh, công năng, chủ trị: khổ, hơi hàn. Vào các kinh can, đại tràng. Công năng lương huyết chỉ huyết, thanh can tả hỏa. Chủ trị các chứng chảy máu, chảy máu cam, ho ra máu, băng huyết, đại tiểu tiện ra máu, đau đầu, chóng mặt, mắt đỏ.

Thành phần hóa học: rutin.

Tác dụng dược lý: Rutin là một loại vitamin P, có tác dụng tăng cường sức chịu đựng của mao mạch. Thiếu chất vitamin này tính chất chịu đựng của mao mạch có thể bị giảm, mao mạch dễ bị đứt vỡ, hiện tượng này trước đây người ta chỉ cho rằng do thiếu vitamin C mà có, gần đây mới phát hiện sự liên quan đối với vitamin P.

Liều dùng: ngày dùng từ 6g đến 12g [50], [51].

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

GIẤY XÁC NHẬN

Bộ môn Dược lý, Viện Đào tạo Dược, Học viện Quân y xác nhận học viên Nguyễn Thị Diệu Linh thực hiện nội dung nghiên cứu thực nghiệm của đề tài luận văn "*Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng của cao khô "Thăng thanh giáng trọc" trên mô hình bệnh thận mạn cắt 5/6 thận chuột*" tại Bộ môn từ 01/2024 đến 10/2024.

Các nội dung nghiên cứu:

- Đánh giá độc tính cấp của cao khô "Thăng thanh giáng trọc".
- Đánh giá tác dụng của cao khô "Thăng thanh giáng trọc" trên mô hình bệnh thận mạn cắt 5/6 thận chuột.

Học viện Quân y xác nhận chữ ký của Đại tá PGS.TS Nguyễn Hoàng Ngân, Chủ nhiệm Bộ môn Dược lý là đúng

TL. GIÁM ĐỐC
KT. CHÁNH VĂN PHÒNG
PHÓ CHÁNH VĂN PHÒNG

BỘ QUỐC PHÒNG * HỌC VIỆN QUÂN Y *

Đại tá
Trần Ngọc Dũng

Hà Nội, ngày 10 tháng 12 năm 2024
Chủ nhiệm Bộ môn

Đại tá PGS. TS. Nguyễn Hoàng Ngân

HỌC VIỆN QUÂN Y

BỘ MÔN DƯỢC LÝ

SỐ LIỆU NGHIÊN CỨU

Đề tài: **NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG CỦA CAO KHÔ THĂNG THANH GIÁNG TRỌC TRÊN MÔ HÌNH BỆNH THẬN MẠN CẮT 5/6 THẬN CHUỘT**

Nội dung:

1. Đánh giá độc tính cấp của cao khô "Thăng thanh giáng trọc".
2. Đánh giá tác dụng của cao khô "Thăng thanh giáng trọc" trên mô hình bệnh thận mạn cắt 5/6 thận chuột.

Hà Nội - 2024

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP CỦA CAO KHÔ "THĂNG THANH GIÁNG TRỌC"

Kết quả đánh giá thử nghiệm sơ bộ

Chuột thí nghiệm	Liều dùng (g/kg thể trọng)	Kết quả theo dõi trong 72 giờ đầu	Kết quả theo dõi từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 7
Chuột 1	3,0	Sau uống thuốc chuột giảm vận động, ăn uống, sau khoảng 6-8h chuột nhanh chóng trở về trạng thái bình thường, đi ngoài phân bình thường, không có chuột nào chết cũng như có biểu hiện độc tính.	Các chuột hoạt dộng, vận động bình thường, đi ngoài phân bình thường, không có chuột nào chết cũng như có biểu hiện độc tính.
Chuột 2	6,0		
Chuột 3	12,0		

Kết quả đánh giá số chuột chết ở mỗi lô sau khi uống mẫu thử

Lô chuột	Số chuột thí nghiệm	Liều dùng (g/kg thể trọng)	Thể tích cho uống	Số chuột sống/ chết sau 72 giờ	Số chuột sống/ chết sau 7 ngày
Lô 1	10	6,0	0,20 mL/10g x 3lần	10/0	10/0
Lô 2	10	12,0	0,20 mL/10g x 3lần	10/0	10/0
Lô 3	10	18,0	0,20 mL/10g x 3lần	10/0	10/0
Lô 4	10	24,0	0,20 mL/10g x 3lần	10/0	10/0
Lô 5	10	30,0	0,20 mL/10g x 3lần	10/0	10/0

KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG CỦA CAO KHÔ "THĂNG THANH GIÁNG TRỌC" TRÊN MÔ HÌNH BỆNH THẬN MẠN CẮT 5/6 THẬN CHUỘT

Kết qủa đánh giá cân nặng chuột ***($\overline{X} \pm SD$, n = 10 ở mỗi lô)***

Lô nghiên cứu	Cân nặng chuột (g)		
	Ngay sau PT lần 2 (a)	15 ngày sau PT lần 2 (b)	Sau uống thuốc 60 ngày (c)
Chứng PT (1)	198,08 ± 18,92	208,21 ± 20,69	236,18 ± 19,54
Mô hình (2)	196,36 ± 19,05	195,62 ± 19,55	193,95 ± 19,28
Tham chiếu (3)	191,82 ± 18,62	189,82 ± 18,62	218,32 ± 20,14
TTGT-1 (4)	195,16 ± 17,63	194,95 ± 19,26	215,91 ± 21,06
TTGT-2 (5)	193,95 ± 20,06	193,08 ± 18,98	224,06 ± 21,65

Kết qủa đánh giá nồng độ ure huyết thanh của chuột ***($\overline{X} \pm SD$, n = 10 ở mỗi lô)***

Lô nghiên cứu	Nồng độ ure huyết thanh (mmol/l)		
	Ngay sau PT lần 2 (a)	15 ngày sau PT lần 2 (b)	Sau uống thuốc 60 ngày (c)
Chứng PT (1)	5,72 ± 0,71	5,88 ± 0,84	6,01 ± 0,98
Mô hình (2)	5,68 ± 0,74	8,96 ± 0,98	10,56 ± 1,12
Tham chiếu (3)	5,81 ± 0,88	8,81± 1,01	8,24 ± 0,96
TTGT-1 (4)	5,48 ± 0,69	8,68 ± 0,92	8,59 ± 0,91
TTGT-2 (5)	5,92 ± 0,85	8,75 ± 0,93	7,90 ± 0,85

Kết qủa đánh giá nồng độ creatinin huyết thanh của chuột *($\overline{X}$ ± SD, n = 10 ở mỗi lô)*

Lô nghiên cứu	Nồng độ creatinin huyết thanh (µmol/l)		
	Ngay sau PT lần 2 (a)	15 ngày sau PT lần 2 (b)	Sau uống thuốc 60 ngày (c)
Chứng PT (1)	89,20 ± 9,85	90,10 ± 9,92	91,10 ± 10,21
Mô hình (2)	88,90 ± 9,54	139,60 ± 14,26	241,38 ± 26,52
Tham chiếu (3)	86,90 ± 9,65	140,80 ± 15,06	131,60 ± 14,96
TTGT-1 (4)	86,10 ± 9,52	138,80 ± 14,16	133,99 ± 14,73
TTGT-2 (5)	85,90 ± 9,46	141,50 ± 13,96	130,60 ± 13,65

Kết qủa đánh giá một số chỉ số huyết học của chuột *($\overline{X}$ ± SD, n = 10 ở mỗi lô)*

Lô nghiên cứu	Số lượng hồng cầu máu chuột (T/l)	Hàm lượng huyết sắc tố máu chuột (g/l)	Hematocrit máu chuột (%)
Chứng PT (1)	7,46 ± 0,95	138,82 ± 11,08	32,85 ± 3,19
Mô hình (2)	5,32 ± 0,64	117,32 ± 12,05	31,96 ± 3,05
Tham chiếu (3)	6,41 ± 0,79	126,16 ± 12,46	32,14 ± 3,12
TTGT-1 (4)	6,38 ± 0,81	124,95 ± 11,84	32,09 ± 3,26
TTGT-2 (5)	6,69 ± 0,75	130,27 ± 12,35	32,98 ± 3,29

Kết quả đo huyết áp chuột tại các thời điểm nghiên cứu

Kết quả đo huyết áp thời điểm trước PT

STT	Huyết áp tâm thu					Huyết áp tâm trương					Huyết áp trung bình				
	Chứng	Mô hình	Tham chiếu	TTGT-1	TTGT-2	Chứng	Mô hình	Tham chiếu	TTGT-1	TTGT-2	Chứng	Mô hình	Tham chiếu	TTGT-1	TTGT-2
1	104,91	129,14	131,91	129,86	128,61	86,41	107,6	99,91	108,2	107,16	94,03	116,47	113,09	117,12	116,00
2	125,25	101,29	119,27	112,73	114,02	104,36	97,72	99,37	93,92	90,25	112,97	99,19	107,57	101,67	100,04
3	133,83	110,71	101,35	99,12	124,72	111,51	92,24	84,44	82,58	103,91	120,71	99,85	91,41	89,39	112,48
4	128,58	132,57	128,12	110,36	136,93	107,16	110,49	106,78	91,98	114,12	115,99	119,59	115,57	99,55	123,52
5	95,25	136,98	99,76	138,98	125,19	79,39	114,16	83,14	115,83	92,36	85,92	123,56	89,99	125,37	105,89
6	137,08	96,14	136,83	95,18	99,28	114,25	80,14	114,05	79,34	82,75	123,66	86,73	123,44	85,87	89,56
7	131,92	119,14	129,86	141,03	112,26	109,95	99,3	108,24	118,13	93,57	119,00	107,47	117,15	127,56	101,27
8	115,25	126,57	123,15	136,18	139,65	96,03	105,47	102,62	113,47	116,37	103,95	114,16	111,08	122,83	125,96
9	98,91	103,43	109,76	122,91	125,08	82,42	86,18	96,46	102,42	104,22	89,21	93,29	101,94	110,86	112,81
10	104,25	129,57	118,92	111,64	101,89	86,16	107,96	99,08	93,01	84,89	93,61	116,86	107,25	100,69	91,89

Kết quả đo huyết áp thời điểm 15 ngày sau PT lần 2

STT	Huyết áp tâm thu					Huyết áp tâm trương					Huyết áp trung bình				
	Chứng	Mô hình	Tham chiếu	TTGT-1	TTGT-2	Chứng	Mô hình	Tham chiếu	TTGT-1	TTGT-2	Chứng	Mô hình	Tham chiếu	TTGT-1	TTGT-2
1	146,5	123,44	119,76	146,35	134,94	122,06	127,85	89,98	121,56	123,93	132,13	126,03	102,25	131,77	128,47
2	109,86	129,38	136,41	119,69	153,61	91,53	101,13	123,66	99,9	127,99	99,08	112,77	128,91	108,05	138,55
3	91,57	167,65	168,98	135,25	145,14	76,29	139,56	140,8	137,9	112,93	82,59	151,13	152,41	136,81	126,20
4	128,21	111,56	117,48	129,42	130,86	106,85	92,98	97,91	104,34	110,03	115,65	100,63	105,97	114,67	118,61
5	119,98	144,38	122,46	133,54	118,69	91,56	120,33	107,06	111,18	118,12	103,27	130,24	113,40	120,39	118,35
6	109,86	127,53	119,76	132,27	104,43	91,57	106,3	99,82	132,27	97,05	99,11	115,05	108,04	132,27	100,09
7	92,29	115,63	136,2	109,19	119,91	76,93	96,38	113,52	90,94	81,43	83,26	104,31	122,86	98,46	97,28
8	134,86	143,44	137,52	132,03	117,69	117,37	119,52	111,26	86,68	91,74	124,58	129,38	122,08	105,36	102,43
9	115,64	105,63	118,52	135,11	123,58	91,36	88,02	98,36	112,57	102,97	101,36	95,28	106,67	121,86	111,46
10	109,65	133,44	135,17	118,74	152,45	90,81	111,18	112,62	98,96	127,02	98,57	120,35	121,91	107,11	137,50

Kết quả đo huyết áp thời điểm sau 60 ngày uống thuốc

STT	Huyết áp tâm thu					Huyết áp tâm trương					Huyết áp trung bình				
	Chứng	Mô hình	Tham chiếu	TTGT-1	TTGT-2	Chứng	Mô hình	Tham chiếu	TTGT-1	TTGT-2	Chứng	Mô hình	Tham chiếu	TTGT-1	TTGT-2
1	123,85	154,08	142,07	164,82	157,33	103,19	125,26	98,01	133,63	127,39	111,70	137,13	116,16	146,48	139,73
2	91,03	153,73	136,26	126,99	125,38	75,84	149,39	106,83	102,11	97,43	82,10	151,18	118,96	112,36	108,95
3	102,31	174,26	159,49	140,94	140,66	126,91	133,16	138,52	138,73	96,83	116,77	150,09	147,16	139,64	114,89
4	116,67	164,26	129,81	113,72	126,38	97,25	133,2	95,16	91,09	104,97	105,25	146,00	109,44	100,41	113,79
5	131,03	162,68	144,62	142,23	139,72	109,21	165,22	141,32	139,85	112,75	118,20	164,17	142,68	140,83	123,86
6	125,64	134,78	137,71	133,11	126,26	121,39	108,64	127,61	105,25	101,54	123,14	119,41	131,77	116,73	111,72
7	113,89	173,08	147,17	159,44	138,73	119,92	165,54	135,62	129,18	136,92	117,44	168,65	140,38	141,65	137,67
8	126,83	151,73	108,45	146,89	122,49	105,7	156,09	84,69	116,72	98,39	114,41	154,29	94,48	129,15	108,32
9	107,65	137,98	137,53	143,09	137,98	131,26	111,29	110,92	140,55	136,29	121,53	122,29	121,88	141,60	136,99
10	125,88	157,98	147,74	157,23	155,67	104,92	169,64	149,44	127,35	126,05	113,56	164,84	148,74	139,66	138,25

Kết qủa đánh giá số lượng nước tiểu 24h của chuột *($\overline{X} \pm SD$, n = 10 ở mỗi lô)*

Lô nghiên cứu	Số lượng nước tiểu 24h (ml)		
	Ngay sau PT lần 2 (a)	15 ngày sau PT lần 2 (b)	Sau uống thuốc 60 ngày (c)
Chứng PT (1)	14,93 ± 3,12	13,65 ± 2,97	15,01 ± 4,17
Mô hình (2)	14,77 ± 3,63	21,15 ± 2,63	30,28 ± 5,68
Tham chiếu (3)	13,97 ± 3,01	20,89 ± 4,06	21,13 ± 3,07
TTGT-1 (4)	15,09 ± 4,02	21,94 ± 3,97	23,08 ± 3,76
TTGT-2 (5)	15,36 ± 3,84	21,05 ± 2,85	20,97 ± 3,31

Kết qủa đánh giá protein niệu 24h của chuột ($\overline{X} \pm SD$, n = 10 ở mỗi lô)

Lô nghiên cứu	Số lượng nước tiểu 24h (ml)		
	Ngay sau PT lần 2 (a)	15 ngày sau PT lần 2 (b)	Sau uống thuốc 60 ngày (c)
Chứng PT (1)	235,68 ± 42,32	243,27 ± 37,42	252,03 ± 41,27
Mô hình (2)	219,85 ± 39,75	358,31 ± 52,45	482,19 ± 58,66
Tham chiếu (3)	251,12 ± 40,58	364,62 ± 55,12	376,82 ± 51,84
TTGT-1 (4)	208,96 ± 36,83	349,84 ± 43,96	361,96 ± 45,76
TTGT-2 (5)	261,09 ± 32,64	351,86 ± 54,16	358,13 ± 53,26

Kết qủa đánh giá cân nặng thận chuột ($\overline{X} \pm SD$, n = 10 ở mỗi lô)

Lô nghiên cứu	Cân nặng thận chuột (g/100g chuột)	% giảm so với lô mô hình
Mô hình (2)	0,396 ± 0,046	-
Tham chiếu (3)	0,341 ± 0,042	13,89 %
TTGT-1 (4)	0,336 ± 0,051	15,15 %
TTGT-2 (5)	0,331 ± 0,049	16,41 %