

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



ĐẶNG HỒNG QUÂN

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ
TÁC DỤNG CHỐNG ĐÔNG MÁU
CỦA CỎM THARODAS TRÊN
THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2024

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



ĐẶNG HỒNG QUÂN

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ
TÁC DỤNG CHỐNG ĐÔNG MÁU
CỦA CỎM THARODAS TRÊN
THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

Chuyên ngành: Y học cổ truyền

Mã số: 872 0115

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Trần Thái Hà

HÀ NỘI - 2024

LỜI CẢM ƠN

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

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

Tôi cũng xin bày tỏ lòng biết ơn tới PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh, Trưởng bộ môn Dược lý, Đại Học Y Hà Nội cùng toàn thể thầy cô, các anh chị kỹ thuật viên, các em sinh viên đang nghiên cứu khoa học tại bộ môn đã luôn bên tôi, giúp đỡ tôi trong quá trình tôi thực hiện và nghiên cứu

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

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

Xin trân trọng cảm ơn!

Tác giả

Đặng Hồng Quân

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Đặng Hồng Quân, học viên cao học khóa 14 Học viện Y - Dược Học cổ truyền Việt Nam, chuyên ngành Y học cổ truyền, xin cam đoan:

1. Đây là luận văn do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của PGS.TS. Trần Thái Hà.
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam
3. Các số liệu, thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

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

Hà Nội, ngày ... tháng năm 2024

Tác giả

Đặng Hồng Quân

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	2
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN.....	4
1.1. Đông máu theo Y học hiện đại	4
1.1.1. Giai đoạn cầm máu ban đầu.....	4
1.1.2. Giai đoạn đông máu huyết tương.....	6
1.1.3. Quá trình tiêu sợi huyết.....	9
1.1.4. Các yếu tố gây ảnh hưởng đến quá trình đông máu sinh lý	10
1.1.5. Các xét nghiệm đánh giá quá trình đông máu	11
1.2. Một số bệnh lý liên quan đến quá trình đông máu.....	14
1.2.1. Hội chứng đông máu rải rác trong lòng mạch	14
1.2.2. Tăng đông và huyết khối	14
1.2.3. Thuốc chống đông máu theo Y học hiện đại.....	15
1.3. Đông máu theo Y học cổ truyền	18
1.3.1. Chứng huyết ứ.....	18
1.3.2. Các thể bệnh trên lâm sàng của chứng huyết ứ.....	19
1.4. Tổng quan về bài thuốc nghiên cứu.....	24
1.4.1 Nguồn gốc, xuất xứ	24
1.4.2. Thành phần bài thuốc	24
1.4.3. Tác dụng vị thuốc theo Y học cổ truyền.....	24
1.5. Tổng quan về các phương pháp nghiên cứu độc tính và ý nghĩa về việc nghiên cứu tính an toàn của thuốc Y học cổ truyền.....	26
1.5.1. Thuốc y học cổ truyền và nguyên nhân tiến hành thử độc tính.....	26
1.5.2. Các phương pháp thử nghiệm độc tính cấp	27
1.6. Tổng quan về các mô hình chống đông trên thực nghiệm.....	29
1.7. Tổng quan các nghiên cứu điều trị đông máu bằng y học cổ truyền ...	31
1.7.1. Trên thế giới.....	31
1.7.2. Tại Việt Nam	32

CHƯƠNG 2: CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU 33

- 2.1. Chất liệu nghiên cứu 33
 - 2.1.1. Thuốc nghiên cứu..... 33
 - 2.1.2. Dụng cụ, hoá chất và máy móc nghiên cứu 34
- 2.2. Đối tượng nghiên cứu. 35
- 2.3. Phương pháp nghiên cứu. 35
 - 2.3.1. Nghiên cứu độc tính cấp của cốm Tharodas..... 35
 - 2.3.2. Nghiên cứu tác dụng chống đông máu của cốm Tharodas trên mô hình gây đông bằng lipopolysaccharid trên chuột nhắt trắng..... 36
- 2.4. Địa điểm và thời gian nghiên cứu..... 38
- 2.5. Sơ đồ nghiên cứu 38
- 2.6. Xử lý số liệu..... 38
- 2.7. Sai số và cách không chế sai số 39
- 2.8. Đạo đức nghiên cứu 39

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU 41

- 3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cốm Tharodas 41
- 3.2. Kết quả đánh giá tác dụng chống đông máu của cốm Tharodas trên mô hình gây đông bằng lipopolysaccharid trên động vật thực nghiệm 42
 - 3.2.1. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến số lượng tiểu cầu..... 42
 - 3.2.2. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến nồng độ fibrinogen..... 43
 - 3.2.3. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến thời gian prothrombin, tỷ lệ Prothombin và Prothrombin-INR 44
 - 3.2.4. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa (aPTT) và aPTTbệnh-chứng 47
 - 3.2.5. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến mức độ hủy hoại tế bào gan chuột nhắt trắng gây đông máu bằng lipopolysaccharid 48

3.2.6. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến chức năng thận của chuột nhắt trắng gây đông máu bằng lipopolysaccharid	50
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN.....	52
4.1. Bàn luận về độc tính cấp của cốm Tharodas	52
4.2. Bàn luận về tác dụng chống đông máu của cốm Tharodas trên mô hình gây đông máu bằng lipopolysacchrid trên động vật thực nghiệm.	54
4.2.1. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến số lượng tiểu cầu.....	56
4.2.2. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến nồng độ fibrinogen.....	57
4.2.3. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến thời gian prothrombin, tỷ lệ prothrombin và prothrombin-INR.....	58
4.2.4. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa (aPTT) và aPTT _{bệnh-chúng}	61
4.2.5. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến mức độ hủy hoại tế bào gan chuột nhắt trắng gây đông máu bằng lipopolysaccharid	62
4.2.6. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến chức năng thận của chuột nhắt trắng gây đông máu bằng lipopolysaccharid	65
KẾT LUẬN	66
KIẾN NGHỊ	68
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 2.1. Thành phần sản phẩm	33
Bảng 3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cốm Tharodas	41
Bảng 3.2. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến số lượng tiểu cầu	42
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến nồng độ fibrinogen.....	43
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến thời gian prothrombin (PTs) ..	44
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến tỷ lệ prothrombin (PT%).....	45
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của cốm Tharodas prothrombin-INR (PT-INR)	46
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa (aPTTs).....	47
Bảng 3.8. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến thời gian aPTTbệnh-chứng	48
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến hoạt độ AST trong máu chuột....	49
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến hoạt độ ALT trong máu chuột .	49
Bảng 3.11. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến nồng độ creatinin trong máu chuột nhất trắng	50
Bảng 3.12. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến nồng độ ure trong máu chuột nhất trắng	51

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Hình ảnh cục máu đông.....	6
Hình 1.2. Thác đông máu cổ điển	8

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Tiếng Việt	Tiếng Anh
aPTT	Thời gian Thromboplastin từng phần hoạt hóa	Activated partial thromboplastin time
BN	Bệnh nhân	
ĐĐVN V	Dược điển Việt nam V	
DIC	Đông máu rải rác trong lòng mạch	Disseminated Intravascular Coagulation
FDA	Cục quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ	Food and Drug Administration
LD ₅₀	Liều gây chết 50%	Lethal Dose 50%
LMWH	Heparin trọng lượng phân tử thấp	
NC	Nghiên cứu	
PT	Thời gian Prothrombin	Prothrombin time
PT%	Tỷ lệ Prothrombin	
INR		International Normalized Ratio
TBMN	Tai biến mạch não	
TT	Thời gian thrombin	Thrombin time
YHCT	Y học cổ truyền	
YHHĐ	Y học hiện đại	

ĐẶT VẤN ĐỀ

Đông máu là quá trình thay đổi tình trạng vật lý của máu do chuyển fibrinogen là một protein dạng hòa tan thành fibrin dạng gel nhằm hạn chế sự mất máu ở nơi có tổn thương thành mạch [1]. Các sợi fibrin kết lại với nhau thành một mạng lưới giam giữ các tế bào máu và huyết tương tạo ra cục máu đông. Đông máu là một chuỗi các phản ứng hóa học của các yếu tố đông máu có trong huyết tương, các mô tổn thương và tiểu cầu [2], [3]. Tình trạng tăng đông là tình trạng tăng khả năng hình thành cục máu đông trong mạch máu dẫn đến huyết khối [4]. Các nhóm thuốc điều trị bệnh lý huyết khối tắc mạch bao gồm thuốc chống kết tập tiểu cầu, thuốc chống đông và thuốc tiêu fibrin [5].

Hiện nay, chi phí điều trị các bệnh lý liên quan đến huyết khối tắc mạch, như nhồi máu cơ tim, đột quỵ nhồi máu não, thuyên tắc động mạch phổi, hội chứng đông máu rải rác trong lòng mạch... đã và đang là gánh nặng đối với người bệnh, gia đình và xã hội. Bệnh động mạch vành đã chiếm tới 14% tử vong toàn cầu và là nguyên nhân chính làm giảm số năm sống còn và số năm sống trong bệnh tật hiệu chỉnh [6]. Nhồi máu não là bệnh lý thần kinh phổ biến trên thế giới và Việt Nam. Theo báo cáo của Hội nghị Đột quỵ thế giới 2022, tại Việt Nam có khoảng 200.000 ca bệnh đột quỵ mỗi năm, tỷ lệ nhồi máu não chiếm tới 76% [7]. Nhồi máu não có tỷ lệ tử vong cao đứng hàng thứ 3 sau bệnh tim mạch và ung thư ở các nước phát triển [8]. Vì vậy, việc nghiên cứu và phát triển thuốc mới để dự phòng và điều trị huyết khối có hiệu quả và an toàn là việc làm cần thiết.

Thuốc Y học hiện đại được chứng minh có hiệu quả điều trị bệnh lý liên quan đến huyết khối nhưng còn nhiều tác dụng không mong muốn tới người bệnh. Vì thế, xu hướng dùng các chế phẩm thuốc có nguồn gốc dược liệu vừa mang lại hiệu quả, đồng thời hạn chế các tác dụng không mong muốn ngày càng được quan tâm nghiên cứu.

Thuốc Y học cổ truyền có nhiều chế phẩm mới với các dạng bào chế cải tiến giúp tăng hiệu quả điều trị và thuận tiện trong quá trình sử dụng. Dạng cốm hoà tan là dạng thuốc rắn, được điều chế từ bột thuốc và tá dược dính có nhiều ưu điểm như dễ sử dụng, phù hợp với nhiều đối tượng bệnh, dễ hấp thụ thuốc qua đường uống.

Cốm Tharodas là chế phẩm Y học cổ truyền có nguồn gốc từ bài thuốc “Bổ dương hoàn ngũ thang” trong “Y Lâm cải thác” của danh y Vương Thanh Nhậm đời nhà Thanh, Trung Quốc có công dụng bổ khí, hoạt huyết, khử ứ, thông lạc. Bài thuốc gồm 7 vị thuốc gồm Sinh hoàng kỳ, Xích thược, Đương quy, Xuyên khung, Đào nhân, Hồng hoa, Địa long [9]. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu về độc tính cấp và tác dụng chống đông máu của cốm Tharodas trên thực nghiệm. Do vậy, để cung cấp bằng chứng khoa học về tính an toàn và hiệu quả của cốm Tharodas chúng tôi tiến hành đề tài “**Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng chống đông máu của cốm Tharodas trên thực nghiệm**” với hai mục tiêu:

1. *Đánh giá độc tính cấp của cốm Tharodas trên thực nghiệm.*
2. *Đánh giá tác dụng chống đông máu của cốm Tharodas trên mô hình gây đông bằng lipopolysaccharid trên thực nghiệm.*

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Đông máu theo Y học hiện đại

Cầm máu và đông máu là quá trình sinh lý, sinh hóa làm thay đổi tình trạng vật lý của máu do chuyển fibrinogen (là một protein ở dạng hòa tan) thành fibrin (dạng gel) nhằm hạn chế sự mất máu ở nơi có tổn thương thành mạch. Quá trình đông – cầm máu còn tham gia giữ toàn vẹn của mạch máu và tình trạng lỏng của máu [1].

Đầu thế kỷ XX, các nhà khoa học cho rằng, tham gia vào quá trình cầm – đông máu có ba thành phần cơ bản là thành mạch, tiểu cầu và yếu tố đông máu huyết tương. Cục máu đông được hình thành có tác dụng làm ngừng chảy máu, nhưng lại cản trở dòng máu lưu thông. Do đó cơ thể cần có cơ chế làm tiêu cục máu đông. Hiện tượng tiêu cục máu đông xảy ra song song với quá trình hàn gắn và phục hồi thành mạch và khi mạch máu đã được sửa chữa xong thì cục máu đông cũng bị tiêu. Quá trình này gọi là tiêu fibrin. Trên cơ sở này, các nhà khoa học đã đưa ra học thuyết hoàn chỉnh về quá trình đông cầm máu được chia thành 3 giai đoạn: cầm máu ban đầu (bao gồm phản xạ co mạch và hình thành nút cầm máu tiểu cầu), đông máu huyết tương và tiêu fibrin [1].

1.1.1. Giai đoạn cầm máu ban đầu

1.1.1.1. Các yếu tố tham gia trong quá trình cầm máu ban đầu

- Mạch máu: về tổ chức học, nói chung mạch máu được tạo thành bởi 3 lớp vỏ đồng tâm gồm lớp nội mạc mạch máu, lớp dưới nội mạc và lớp ngoại mạc.
- Tiểu cầu: vùng ngoại vi của tiểu cầu gồm màng bào tương, hệ thống ống dẫn bề mặt và hệ thống ống dẫn đậm đặc. Vùng bào tương của tiểu cầu có chứa nhiều protein giúp tiểu cầu thay đổi hình dạng, mọc giả túc, di động và tiết các hạt. Hai protein chính của hệ thống co rút là actin và myosin. Các

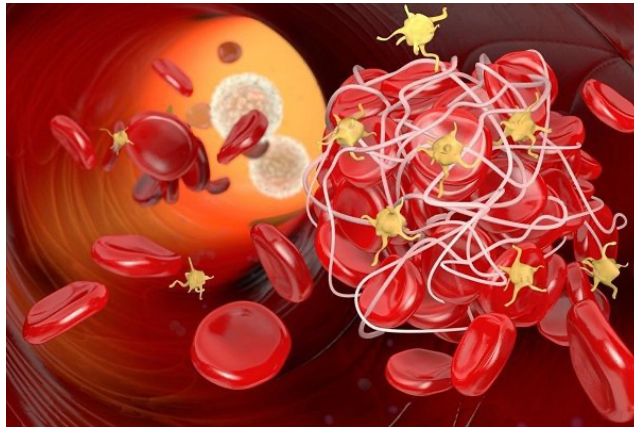
hạt nội tiểu cầu gồm hạt đặc chứa canxi cũng như serotonin và các hạt nucleotid. Các hạt α chứa nhiều protein. Các protein huyết tương được chứa nhiều trong hạt α là protein dính (fibrinogen, yếu tố von Willebrand, fibronectin, thrombospondin), các protein đông máu (fibrinogen, yếu tố V) và các protein tiêu fibrin (ức chế hoạt hóa plasminogen, PAI-1).

- Các protein bám dính: Yếu tố von Willebrand (vWF) là glycoprotein trọng lượng phân tử cao. Yếu tố này được sinh ra ở tế bào nội mạc (70%) và mẫu tiểu cầu (30%), nó được tích trữ trong các tế bào nội mạc và trong các hạt α của tiểu cầu. vWF tuần hoàn trong huyết tương liên kết với yếu tố VIII. vWF đảm bảo cho tiểu cầu dính với tổ chức dưới nội mạc.
- Fibrinogen: chất trung gian chính cho sự ngưng tụ tiểu cầu, fibrinogen tạo “cầu nối” giữa hai tiểu cầu bằng cách gắn lần lượt trên các glycoprotein IIb/IIIa [10].

1.1.1.2. Cơ chế cầm máu ban đầu

Khi thành mạch bị tổn thương, các kích thích đau từ nơi tổn thương làm co cơ trơn thành mạch để làm giảm lượng máu chảy qua chỗ tổn thương. Tế bào nội mạc còn giải phóng angiotensin II là chất co mạch làm mạch máu co lại, giảm lưu lượng máu thoát ra khỏi lòng mạch. Bên cạnh đó thành mạch bị tổn thương cũng bộc lộ lớp dưới nội mạc (hoặc lớp sâu hơn nữa) rất giàu sợi collagen, vi sợi, chất chun làm cho tiểu cầu bám dính vào các lớp tổ chức vừa được bộc lộ [1]. Tiểu cầu dính vào lớp dưới nội mạc với sự có mặt của vWF và receptor GPIIb trên bề mặt tiểu cầu. Tiểu cầu dính vào tổ chức dưới nội mạc, chúng giải phóng ra các sản phẩm ADP, serotonin, epinephrine và các dẫn suất của prostaglandin, đặc biệt là Thromboxan A₂. Một số sản phẩm này thúc đẩy quá trình ngưng tập tiểu cầu. Các tiểu cầu dính vào nhau, kết quả là hình thành nút tiểu cầu mà bắt đầu là sự kết dính tiểu cầu vào lớp dưới nội mạc. Các phản ứng dính, bài tiết, ngưng tập gắn bó với nhau và thức đẩy nhau tạo thành đám, hình thành nút cầm máu trắng giàu tiểu cầu [1].

Nút tiểu cầu nhanh chóng lớn lên về mặt thể tích và sau một vài phút hoàn thành nút tiểu cầu chỗ mạch máu bị tổn thương. Nút cầm máu này được hình thành nhanh chóng sau khi mạch máu tổn thương, có đặc điểm rất yếu, dễ vỡ, chỉ có tác dụng cầm máu tạm thời. Kết quả ban đầu đó tạo điều kiện để hoạt hóa các yếu tố đông máu huyết tương, tạo cục máu bền vững để bịt chặt chỗ tổn thương [1]. Đây là quá trình phức tạp với phản ứng co mạch, kết dính tiểu cầu, phản ứng giải phóng, ngưng tập tiểu cầu và làm hoạt hóa quá trình đông máu.



Hình 1.1. Hình ảnh cục máu đông

1.1.2. Giai đoạn đông máu huyết tương

1.1.2.1. Các yếu tố tham gia vào quá trình đông máu [10]

- Fibrinogen: là tiền chất để tạo thành các sợi tơ huyết Fibrin.
- Prothrombin: là một loại protein huyết thanh có tác dụng hình thành nên Thrombin xúc tác cho quá trình chuyển Fibrinogen thành Fibrin.
- Phức hợp Prothrombinase xúc tác chuyển Prothrombin thành Thrombin.
- Thromboplastin: được sản xuất bởi mô tổn thương, tham gia vào quá trình đông máu ngoại sinh. Chúng có tác dụng thay thế phospholipid tiểu cầu và protein huyết tương.
- Ca^{++} có vai trò tham gia vào quá trình đông máu. Nếu không có ion này thì quá trình đông máu không xảy ra.
- Các tế bào máu: tiểu cầu giải phóng nhiều chất tham gia vào quá trình đông máu. Hồng cầu, bạch cầu giúp hình thành cục máu đông.

1.1.2.2. Cơ chế đông máu huyết tương:

Quá trình đông máu huyết tương có thể chia thành 3 thời kỳ [1], [10]:

- Hình thành thromboplastin hoạt hóa (phức hợp prothrombinase) bằng 2 con đường nội sinh và ngoại sinh.

- Hình thành thrombin

- Hình thành fibrin

- **Giai đoạn hình thành thromboplastin hoạt hóa**

- Theo con đường nội sinh:

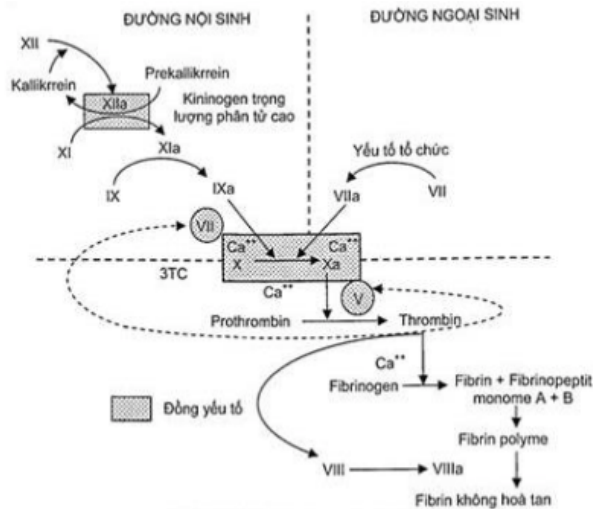
Là con đường có sự tham gia của đa số các yếu tố đông máu và theo quy luật diễn tiến mở rộng, do vậy mà rất cơ bản và bền vững.

Khi thành mạch bị tổn thương các sợi collagen được bộc lộ, bề mặt các sợi cơ này mang điện tích âm sẽ gắn và cố định các yếu tố XII, prekallikrein, HMWK, XI vào. Trong quá trình này, yếu tố XII trải qua một sự thay đổi cấu trúc ở bề mặt, bộc lộ vị trí hoạt hóa và trở thành yếu tố XII hoạt hóa (XIIa). Yếu tố XIIa xúc tác chuyển prekallikrein thành kallikren nhờ vào vai trò trung gian của HMWK. Kallikren được tạo thành lại xúc tác để chuyển XII thành XIIa nhiều hơn. Đồng thời yếu tố XIIa xúc tác để chuyển XI → XIa. Dưới sự xúc tác của XIa và sự có mặt của ion canxi, yếu tố IX → IXa. Yếu tố X được hoạt hóa với sự tham gia của một phức hợp bao gồm yếu tố XIa, đồng yếu tố VIIIa, Ca^{++} và phospholipid của tiểu cầu. Giai đoạn này còn có sự hiệp lực của con đường đông máu ngoại sinh. Yếu tố VIIa không chỉ tác dụng enzym lên yếu tố X mà còn có khả năng hoạt hóa yếu tố XI tạo nên mối liên hệ giữa đường đông máu nội và ngoại sinh [1], [2], [10].

- Theo con đường ngoại sinh:

Khi mạch máu bị tổn thương, yếu tố tổ chức (các lipoprotein từ tổ chức bị tổn thương, TF) được giải phóng. TF có ái tính cao với yếu tố VII, dễ dàng kết hợp và chuyển yếu tố VII thành dạng hoạt hóa. Phức hợp TF-VIIa với sự có mặt của ion canxi có tác dụng hoạt hóa yếu tố X thành Xa.

Tổ chức tổn thương, các chất hoạt hóa của tổ chức hoạt hóa đông máu đi đến hình thành fibrin sẽ thúc đẩy nhanh con đường đông máu nội sinh bằng sự hoạt hóa đồng yếu tố VIII và đồng yếu tố V [1], [2], [10].



Hình 1.2. Thác đông máu cổ điển

- **Hình thành thrombin**

Thromboplastin nội và ngoại sinh hoạt hóa tác động chuyển prothrombin thành thrombin. Thrombin đóng vai trò quan trọng trong các phản ứng của quá trình đông máu. Thrombin hoạt hoá nhiều cơ chất, tác động vào nhiều khâu của quá trình đông máu với mục đích chủ yếu là tạo thành fibrin như:

- Chuyển fibrinogen thành fibrin.
- Hoạt hoá nhằm làm tăng tốc độ hình thành chính nó.
- Hoạt hóa yếu tố XIII để ổn định sợi huyết.
- Hoạt hóa yếu tố VIII, V nhằm làm gia tăng sự hình thành yếu tố Xa bằng cả 2 con đường nội và ngoại sinh.

- Thêm nữa, thrombin tác động lên tế bào bằng cách cố định lên tế bào và hoạt hóa chúng như hoạt hóa tiểu cầu, kích thích tế bào nội mạc sản xuất ra prostacyclin ức chế chất hoạt hóa plasminogen do nội mạch sản xuất và tăng sự phát triển tế bào do nội tiết tố sinh trưởng đặc hiệu, nó kích thích tăng sinh tế bào non (fibroblast) [1], [2], [10].

- **Hình thành mạng lưới fibrin**

Thrombin được tạo ra có tác dụng thủy phân fibrinogen thành fibrin monomer và các fibrinopeptid A và B. Sau đó xuất hiện lực hút tĩnh điện giữa các fibrin monomer để tạo thành fibrin polymer.

Yếu tố XIII được hoạt hóa bởi thrombin và có ion Ca^{++} đã làm ổn định fibrin polymer nhờ các liên kết đồng hóa trị giữa các sợi fibrin. Fibrin được ổn định có đặc tính cầm máu nghĩa là có khả năng bịt vết thương ở thành mạch làm ngưng chảy máu. Cục sợi huyết là những khối gel hóa được tạo thành bởi lưới fibrin có đường kính khoảng 1 micromet. Mạng lưới này bao bọc hồng cầu, bạch cầu, nhất là tiểu cầu. Một protein tiểu cầu là actomyosin sẽ tác động làm cục máu co lại [1], [2], [10].

1.1.3. Quá trình tiêu sợi huyết

Mục đích cơ bản của giai đoạn này là làm tan fibrin trả lại sự thông thoáng của thành mạch bao gồm hai quá trình: co cục máu đông và tan cục máu đông (tiêu sợi huyết) [1], [2], [10].

- Co cục máu đông: Ít phút sau khi cục đông được hình thành, nó bắt đầu co lại và giải phóng huyết thanh. Tiểu cầu hoạt hóa thrombosthenin làm co các gai tiểu cầu đang gắn vào fibrin khiến cục đông bị ép lại. Sự co cục máu được hoạt hóa bởi thrombin và ion canxi. Hiện tượng co cục máu đông giúp kéo các bề mặt vết thương lại làm lòng mạch được mở rộng trở lại, kích thích sự sửa chữa vết thương và làm tan cục máu đông.

Quá trình tiêu fibrin xảy ra ngay khi hình thành nút cầm máu. Ở giai đoạn này, plasminogen (dạng không hoạt động) được hoạt hoá để trở thành dạng hoạt động (plasmin), nó được phóng thích từ thành mạch (hoạt hóa nội sinh) hoặc tổ chức (hoạt hóa ngoại sinh). Có ba chất hoạt hoá plasminogen chính của hệ thống tiêu sợi huyết, đó là tPA (chất hoạt hoá plasminogen tổ chức), urokinase và yếu tố XIIa.

Plasmin hình thành có khả năng phân hủy fibrinogen, fibrin và một số yếu tố đông máu khác như yếu tố VII, phản ứng tiêu sợi huyết sinh lý được khu trú tại nơi có nút cầm máu và hệ quả là nút cầm máu tạo nên bởi mạng fibrin của quá trình đông máu huyết tương được tiêu hủy để trả lại sự lưu thông của mạch máu tại vị trí mạch máu bị tổn thương. Quá trình tiêu sợi huyết được kiểm soát bởi những chất có tính ức chế các yếu tố hoạt hoá plasminogen và những chất làm bất hoạt plasmin. Nhờ đó mà ngăn ngừa được sự mất fibrinogen và những yếu tố đông máu khác.

1.1.4. Các yếu tố gây ảnh hưởng đến quá trình đông máu sinh lý

Sự tương tác của tiểu cầu và các yếu tố đông máu nhằm mục đích cầm máu ở những vết thương thành mạch nhưng có thể gây ra tắc mạch. Sự đông máu không cần thiết trong tuần hoàn được ngăn ngừa bằng một hệ thống tự vệ: một mặt nếu các yếu tố đông máu được hoạt hóa tại chỗ sẽ bị pha loãng và bị gan đào thải, mặt khác có những chất ức chế huyết tương sẽ cản trở đông máu bằng cách bất hoạt các yếu tố đã được hoạt hóa hoặc làm thoái hóa các đồng yếu tố của phản ứng enzym. Vai trò của gan trong việc chống tắc mạch chưa được rõ ràng nhưng tầm quan trọng của một số chất ức chế sinh lý trong vấn đề này không thể phủ nhận. Nếu thiếu hụt một trong những chất đó có thể gây ra tắc mạch.

Các chất ức chế đông máu:

- Nhóm thứ nhất: gồm các chất ức chế serin protease, những chất này tạo thành phức hợp với các enzym đông máu. Nhóm này gồm anti- thrombin III (AT III), đồng yếu tố II của heparin, α - macroglobulin, α 1- antitrypsin.

- Nhóm thứ hai bao gồm 2 protein huyết tương (Protein C và Protein S) và một protein màng là thrombomodulin. Protein S là đồng yếu tố của Protein C, khi có mặt của Protein S sẽ làm tăng tác dụng của Protein C. Hệ thống protein này can thiệp bằng cách làm bất hoạt hai đồng yếu tố Va, VIIIa. Điều hoà Protein C hoạt hoá qua vai trò của chất PCI (Protein C Inhibitor) và α 1- antitrypsin.

1.1.5. Các xét nghiệm đánh giá quá trình đông máu

1.1.5.1. Đếm số lượng tiểu cầu

Có rất nhiều phương pháp đếm số lượng tiểu cầu với các loại dung dịch và cách tính kết quả khác nhau, tuy nhiên hiện nay phổ biến là đếm bằng máy với các ưu điểm là chính xác hơn, đặc biệt khi số tiểu cầu rất thấp. Tuy nhiên, số lượng tiểu cầu là chỉ số rất dễ bị ảnh hưởng do điện trở, do dung dịch đếm, do sự trục trặc của bộ phận rửa...

Đánh giá kết quả: Số lượng tiểu cầu bình thường là 150 – 400 G/L.

Số lượng tiểu cầu giảm khi kết quả dưới < 150 G/L. Giảm số lượng tiểu cầu gặp trong trường hợp xuất huyết giảm tiểu cầu có nguyên nhân miễn dịch, suy tủy xương, lơ-xe-mi cấp, sốt xuất huyết, sau tia xạ hoặc sau hóa trị liệu, phụ nữ mang thai, đông máu nội mạch lan tỏa...

Số lượng tiểu cầu tăng khi kết quả > 400 G/L. Tăng số lượng tiểu cầu gặp chủ yếu trong hội chứng tăng sinh tủy, tăng tiểu cầu tiên phát, xơ tủy vô căn, đa hồng cầu tiên phát...

1.1.5.2. Thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa (aPTT: Activited Partial Thromboplastin Time)

Nguyên lý: Xét nghiệm aPTT là thời gian phục hồi canxi của một huyết tương nghèo tiểu cầu mà trong đó đã có sẵn cephalin và kaolin. Cephalin có tác dụng như yếu tố 3 tiểu cầu. Kaolin có tác dụng thống nhất hoạt độ của sự tiếp xúc máu với các bề mặt (ống nghiệm, thủy tinh), nhờ đó mà hoạt hóa được huyết tương trong khi thực hiện phép đo, đồng thời cũng giúp cho việc đọc kết quả được dễ hơn. Do hạn chế được những nhược điểm như các xét nghiệm thời gian Howell và thậm chí cả thời gian cephalin nên đây là một xét nghiệm rất tốt, có độ chính xác cao, có khả năng lặp lại, khả năng phát hiện những bất thường đông máu nội sinh kín đáo. aPTT rút ngắn phản ánh tình trạng tăng hoạt hoá đường đông máu nội sinh.

Đánh giá kết quả:

+ $r = \text{aPTT bệnh (giây)}/\text{aPTT chứng (giây)}$. Bình thường: 0,8 - 1,25.

+ aPTT kéo dài gặp trong trường hợp rối loạn đường đông máu nội sinh do thiếu hụt bẩm sinh yếu tố VIII, IX, XI hoặc mắc phải do tăng tiêu thụ các yếu tố đông máu trong đông máu nội mạch rải rác, có chống đông lưu hành, suy tế bào gan, điều trị thuốc chống đông, heparin...

1.1.5.3. Thời gian prothrombin (Prothrombin Time: PT - thời gian Quick)

Nguyên lý: PT là thời gian đông của huyết tương đã được chống đông bằng natri citrat sau khi cho vào một lượng thromboplastin tổ chức và một nồng độ calci tối ưu. Xét nghiệm này đánh giá toàn bộ các yếu tố của quá trình đông máu ngoại sinh (các yếu tố II, V, VII, X). Kết quả có thể phản ánh bằng thời gian, tỷ lệ % so với người bình thường, hay chỉ số INR (là chỉ số giữa PT của bệnh nhân so với PT bình thường – có tính hệ số của từng loại sinh phẩm theo quy định quốc tế). Đánh giá kết quả:

+ PT bình thường 11-13 giây, tỷ lệ PT từ 70 - 140%, INR từ 0,9 - 1,1.

+ Tỷ lệ phức hợp prothrombin giảm trong các trường hợp rối loạn đường đông máu ngoại sinh do giảm nồng độ các yếu tố phức hệ prothrombin. Xét nghiệm này nhạy nhất với sự thiếu hụt prothrombin. Giảm tổng hợp các yếu tố phức hệ prothrombin thường gặp khi suy giảm tế bào gan, thiếu vitamin K, do tiêu thụ trong đông máu nội mạch rải rác, giảm sợi huyết nặng, đang điều trị chống đông dạng dẫn xuất coumarin.

1.1.5.4. Định lượng fibrinogen

Nguyên lý: với một lượng thừa thrombin, thời gian đông của mẫu huyết tương pha loãng sẽ tương quan trực tiếp với nồng độ fibrinogen.

Đánh giá kết quả: đối chiếu với thời gian đông của mẫu đo với hình chuẩn được cung cấp kèm theo lô thuốc thử để tính nồng độ fibrinogen của mẫu đo.

+ Nồng độ fibrinogen bình thường: 2 – 4 g/L.

+ Nồng độ fibrinogen giảm: < 2 g/L.

+ Nồng độ fibrinogen tăng: > 4 g/L.

Fibrinogen là yếu tố đóng vai trò quan trọng trong đông cầm máu. Trong giai đoạn cầm máu ban đầu, fibrinogen cần thiết cho sự dính và ngưng tập tiểu cầu. Các phản ứng trong dòng thác đông máu đều đi đến mục đích cuối cùng là chuyển fibrinogen thành fibrin để tạo nút cầm máu bền vững. Tăng fibrinogen là một bằng chứng tồn tại tình trạng viêm nhiễm, tổn thương mạch máu và chính những tổn thương này làm tăng cường hoạt hoá tiểu cầu, tăng hoạt hoá đường đông máu nội sinh và ngoại sinh.

Các chỉ số nêu trên được gọi là các xét nghiệm đông máu vòng đầu (first line coagulation test) thường được dùng để thăm dò chức năng đông cầm máu, dựa trên thay đổi của các chỉ số này để chỉ định các xét nghiệm thăm dò tiếp theo để xác định vấn đề liên quan đến đông máu của người bệnh.

1.1.5.5. Định lượng hoạt tính các yếu tố đông máu II, V, VII, X

Nguyên lý: dựa trên nguyên lý tiến hành xét nghiệm PT. Làm xét nghiệm PT sau khi cung cấp đầy đủ các thành phần, yếu tố cần thiết, trừ yếu tố cần định lượng. Trong điều kiện như vậy, PT phụ thuộc vào nồng độ yếu tố kiểm tra.

Đánh giá kết quả: bình thường nồng độ các yếu tố đông máu nằm trong khoảng 60 – 140% so với mẫu huyết tương bình thường. Các yếu tố II, V, VII, X là những yếu tố tham gia đông máu theo con đường ngoại sinh và hầu hết được tổng hợp tại gan, trừ yếu tố V được tổng hợp ở gan, mẫu tiểu cầu và nội mạc mạch máu. Tăng hoạt tính các yếu tố này gây nên một tình trạng tăng đông máu do tăng hoạt hoá đông máu theo con đường ngoại sinh.

1.1.5.6. Định lượng hoạt tính các yếu tố đông máu VIII, IX, XI, XII

Nguyên lý: dựa trên tiến hành xét nghiệm aPTT. Làm xét nghiệm aPTT sau khi cung cấp đầy đủ các thành phần, yếu tố cần thiết, trừ yếu tố cần định lượng.

Đánh giá kết quả: bình thường nồng độ các yếu tố VIII, IX nằm trong khoảng 50% đến 180% so với mẫu huyết tương bình thường. Các yếu tố VIII, IX, XI, XII đóng vai trò quan trọng trong đường đông máu nội sinh, thường được

sử dụng để đánh giá tình trạng đông máu của con đường này. Tăng hoạt tính các yếu tố này phản ánh tình trạng tăng hoạt hoá đông máu con đường nội sinh.

1.2. Một số bệnh lý liên quan đến quá trình đông máu

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tập trung tới các bệnh lý gây tăng đông máu [10].

1.2.1. Hội chứng đông máu rải rác trong lòng mạch

Đông máu rải rác trong lòng mạch (Disseminated Intravascular Coagulation - DIC) hay còn gọi là đông máu nội mạch lan toả, là hội chứng rối loạn đông máu khá phổ biến và rất nghiêm trọng trong lâm sàng. DIC đặc trưng bởi sự tăng quá mức các protease, dẫn đến tạo ra các fibrin hòa tan, làm xuất hiện các cục huyết khối nhỏ rải rác trong lòng mạch, đồng thời cũng hoạt hóa một quá trình tiêu fibrin gia tốc. Cả hai quá trình này dẫn đến sự tiêu thụ quá nhiều yếu tố đông máu, hậu quả là xuất huyết và thiếu máu ở các tổ chức với các mức độ khác nhau. DIC liên quan đến sinh quá nhiều bất thường thrombin và fibrin trong máu tuần hoàn. Trong quá trình này, có sự tăng ngưng tập tiểu cầu tăng tiêu thụ các yếu tố đông máu [11].

Nguyên nhân: có thể do rất nhiều nguyên nhân gây nên, tuy nhiên thường gặp tỷ lệ cao ở những tình trạng bệnh lý: nhiễm trùng nặng, bệnh lý ác tính của hệ tạo máu, ung thư tạng đặc, tổn thương các tổ chức, mô (chấn thương, bỏng, tiêu cơ vân, sau phẫu thuật...), bệnh lý liên quan sản khoa, bệnh lý liên quan đến mạch máu... [12]

Lâm sàng: trên nền bệnh chính có thể gây DIC, người bệnh có thể có sốc do bệnh chính hoặc DIC, tình trạng xuất huyết, huyết khối hoặc đồng thời cả xuất huyết và huyết khối, suy đa phủ tạng [12].

Xét nghiệm: giảm số lượng tiểu cầu, kéo dài PT/aPTT, giảm fibrinogen, giảm một số yếu tố đông máu, tăng D-dimer [1], [10].

1.2.2. Tăng đông và huyết khối

Bình thường, máu lưu hành ở trạng thái thể dịch nhờ sự cân bằng giữa hệ thống hoạt hoá và ức chế đông máu. Hệ thống ức chế đông máu bao gồm các chất ức chế hoạt hoá tiểu cầu, các chất ức chế hoạt hoá đông máu, hệ thống tiêu sợi huyết. Cơ thể luôn giữ được cân bằng này nhờ vào một hệ thống kiểm soát các phản ứng đông máu. Bình thường, khi xảy ra một tổn thương mạch máu, các yếu tố đông máu sẽ cùng với nội mạc mạch máu và tiểu cầu phối hợp xảy ra một loạt các phản ứng để tạo nút cầm máu là cục đông tại vị trí tổn thương và chỉ giới hạn tại đó mà thôi, sau đó, cục đông sẽ bị tiêu đi nhờ hệ thống tiêu sợi huyết được hoạt hoá kịp thời và vừa đủ.

Tình trạng tăng đông máu xảy ra khi cân bằng này bị phá vỡ do tăng hoạt hoá đông máu hoặc do giảm ức chế đông máu, tiêu sợi huyết dẫn đến cục máu đông bảo vệ lan rộng quá giới hạn có lợi.

Tình trạng tăng đông máu được chia làm hai nhóm: tăng đông tiên phát và tăng đông thứ phát.

Tăng đông tiên phát thường gây nên bởi những bất thường về số lượng hoặc chất lượng các yếu tố tham gia vào quá trình ức chế đông máu. Hầu hết những bất thường này là do đột biến gen gây nên. Tình trạng tăng đông tiên phát rất dễ gây huyết khối khi còn trẻ tuổi, tái phát nhiều lần, tồn tại suốt đời, có tính chất gia đình và thường gặp huyết khối ở tĩnh mạch.

Tăng đông thứ phát gây nên bởi một nhóm các yếu tố mắc phải, có xu hướng hình thành huyết khối bởi những cơ chế phức tạp và thường là đa yếu tố như tiểu cầu, thành mạch, yếu tố đông máu, hệ thống tiêu sợi huyết... Tình trạng tăng đông thứ phát thường gây nên huyết khối động mạch như động mạch vành tim, động mạch não... [1], [10].

1.2.3. Thuốc chống đông máu theo Y học hiện đại

1.2.3.1. Thuốc chống đông máu đường uống: Dẫn xuất của coumarin và in-dandion

Là thuốc tổng hợp. Dẫn xuất 4-hydroxycoumarin: có wafarin, phenprocoumon, acenocoumarol, dicoumarol, coumetarol, tromexan. Dẫn xuất indandiol có: phenylindandion, clophenindion.

Cơ chế tác dụng: dẫn xuất coumarin và indandion có cấu trúc gần giống vitamin K, do ức chế cạnh tranh enzym epoxid-reductase làm cản trở khử vitamin K-epoxid thành vitamin K cần thiết cho sự carboxyl hoá các tiền chất yếu tố đông máu thành các yếu tố đông máu II, VII, IX, X.

Chỉ định: phòng hoặc chữa bệnh tắc nghẽn mạch như: viêm tĩnh mạch, tắc mạch phổi, nhồi máu cơ tim [5].

1.2.3.2. Các thuốc chống đông máu đường uống khác

- Dabigatran etexilate (Pradaxa, Pradax).

Cơ chế tác dụng: là tiền thuốc sau khi uống, vào cơ thể được chuyển hoá thành dabigatran có tác dụng gắn cản vị trí hoạt động của trombin gây chống đông máu.

Sinh khả dụng là 6%, thời gian bán thải là 12-14 tiếng

Chỉ định: dự phòng huyết khối tĩnh mạch sau phẫu thuật thay khớp gối hoặc khớp háng.

-Rivaroxaban (Xarelto).

Cơ chế tác dụng: ức chế yếu tố X hoạt hoá.

Sinh khả dụng là 80% sau uống. Sau khi uống 3 giờ thì đạt nồng độ tối đa trong máu và có thời gian bán thải là 7-11 giờ.

Chỉ định: phòng huyết khối tĩnh mạch sau phẫu thuật thay khớp háng và khớp gối, dự phòng nhồi máu ở bệnh nhân bị rung nhĩ [5].

1.2.3.3 . Heparin

Cơ chế tác dụng: khi có mặt heparin, heparin tạo phức với antithrombin III. Phức hợp heparin-antithrombin III thúc đẩy nhanh phản ứng giữa antithrombin và thrombin; antithrombin với các yếu tố IX, X, XI và XII gấp

100 lần so với khi không có mặt heparin. Hậu quả là các yếu tố chống đông đã hoạt hoá mất hiệu lực, mất khả năng chuyển fibrinogen thành fibrin.

Dược động học: đường uống không hấp thu và bị phân huỷ. Phải tiêm dưới da, tiêm tĩnh mạch, không tiêm bắp. Heparin sau khi tiêm 1 giờ, 30-50% được thải qua nước tiểu. Thời gian bán thải phụ thuộc liều lượng.

Chỉ định: Phòng, chống huyết khối [5].

1.2.3.4. Fondaparinux

Là một chất tổng hợp có trọng lượng phân tử 1500, có cơ chế tác dụng và chỉ định giống heparin [5].

1.2.3.5. Heparinoid tổng hợp

Là polysaccharid bị ester hoá bởi acid sulfuric, có công thức hoá học gần giống heparin, cơ chế tác dụng giống heparin nhưng tác dụng chống đông yếu hơn [5].

1.2.3.6. Hirudin và các thuốc ức chế trực tiếp thrombin

Hirudin và các thuốc ức chế trực tiếp thrombin làm cho fibrinogen không chuyển thành fibrin làm ngăn cản quá trình đông máu [5].

1.2.3.7. Các thuốc kháng yếu tố X hoạt hoá

Rivaroxaban: đạt được nồng độ tối đa sau khi uống 2-4 giờ. Gắn mạnh vào protein máu và bị chuyển hoá qua các CYP. Thuốc thải trừ qua nước tiểu và qua phân với thời gian bán thải là 5-9 giờ. Thuốc được chỉ định dự phòng đột quỵ, nghẽn tắc mạch máu toàn thân sau phẫu thuật thay khớp gối, khớp háng, rung nhĩ kèm theo các yếu tố nguy cơ như suy tim, tăng huyết áp, người trên 75 tuổi, đái tháo đường và tiền sử đột quỵ hoặc thiếu máu cơ tim thoáng qua. Rivaroxaban còn được chỉ định để điều trị huyết khối tĩnh mạch sâu và thuyên tắc mạch phổi. Liều điều trị trung bình 20mg/ngày.

Apixaban: sinh khả dụng đường uống là 50%, thời gian bán thải 12 giờ.

Endoxaban: thuốc được chỉ định giống rivaroxaban và apixaban [5].

1.3. Đông máu theo Y học cổ truyền

1.3.1. Chứng huyết ứ

Theo YHCT, các triệu chứng của đông máu thường gặp trong phạm vi chứng Huyết ứ. Huyết ứ là tình trạng huyết dịch vận hành không thông hoặc huyết trong cơ thể ra khỏi kinh mà chưa tiêu tán được. Sau khi huyết ứ đã hình thành lại có thể tác động ngược trở lại đến sự vận hành khí huyết, dẫn đến công năng tạng phủ bị rối loạn gây ra nhiều bệnh tật [13].

Sự hình thành của huyết ứ:

Huyết ứ chủ yếu phát sinh do nguyên nhân khí hư, khí ngưng, huyết hàn... khiến huyết hành không thông mà ngưng kết, hoặc là ngoại thương gây nên xuất huyết bên trong nhưng không kịp tiêu tán hay bài xuất mà tạo thành.

“Khí là soái của huyết”, khí hành tất huyết hành, khí ngưng tất huyết ngưng nên ảnh hưởng của khí đối với huyết rất lớn. Nếu như dương khí hư tổn, vận hành của huyết có thể vì đó mà chậm ngưng. Can khí uất kết, sơ tiết bất lợi cũng có thể làm trở tác sự vận hành của huyết. Thiên hàn, thiên nhiệt cũng có thể gây ra tình trạng huyết ứ: Hàn vào kinh mạch hoặc nhiệt vào dinh huyết đều có thể làm huyết dịch ngưng kết. Các loại xuất huyết do ngoại thương khiến máu đi ra ngoài kinh mạch, đình lưu lại bên trong một bộ phận nào đó của cơ thể không kịp tiêu đi hoặc bài xuất ra ngoài cũng là một nguyên nhân hình thành huyết ứ thường gặp [13], [14].

Đặc điểm và bệnh chứng của huyết ứ:

Bệnh chứng của huyết ứ thường tùy theo vị trí mà nó ứ trở mà có bệnh trạng khác nhau. Huyết ứ ở tâm có thể thấy tức ngực, đau vùng tim, miệng môi xanh tím. Huyết ứ ở phế có thể thấy đau ngực, ho ra máu. Huyết ứ ở trường vị có thể gây ra nôn ra máu, đại tiện ra máu. Huyết ứ trở ở can có thể gây đau tức ngực sườn, nổi cục. Huyết ứ ở bào cung có thể gây ra đau hạ vị, kinh nguyệt rối loạn, thống kinh, bế kinh, sắc kinh tím đen, có cục hoặc băng lậu. Tại chỗ nơi có huyết ứ có thể thấy sưng đau hoặc bầm tím cục bộ [13].

Huyết ứ ở kinh mạch, khí huyết vận hành không thông có thể ngưng tích thành khối sưng hoặc đau như: kim châm, dao cắt, chỗ đau không di động mà cự án, mạch tế sáp... Huyết hành trở tắc nên có thể thấy sắc tím thẫm như: môi, móng tay, móng chân xanh tím, sắc lưỡi tím đen hoặc thấy các ban tím... Huyết ứ ở mạch đạo, huyết lưu bất thông tất tràn ra ngoài mạch, gây xuất huyết. Huyết ứ trở lâu ngày làm cho huyết mới không sinh được, bì phu kinh mạch mất sự nhu dưỡng nên da dẻ không nhuận, sắc mặt tím đen, lông tóc không mượt mà, mạch tế sáp hoặc kết đại [13].

1.3.2. Các thể bệnh trên lâm sàng của chứng huyết ứ

Chứng Huyết ứ thường gặp trong các bệnh: Phát nhiệt, Vị quản thống, Phúc thống, Ế cách, Hiệp thống, Hoàng đản, Cổ trướng, Yêu thống, Tâm quý chính xung, Hung thống, Đầu thống, Trúng phong, Kính bệnh, Bế kinh, Thống kinh... Trên lâm sàng thường biểu hiện [15]:

1.3.2.1. Huyết ứ trong bệnh Phát nhiệt

Triệu chứng: phần nhiều thấy nhiệt về buổi chiều hoặc buổi tối, họng ráo, miệng khô, khát nhưng không muốn uống nước, thường có những khối sưng hoặc điểm đau cố định, mạch và chứng thường không nhất trí.

Nguyên nhân: do huyết ứ đọng ở trong, khí huyết ùng tắc không thông dẫn đến uất nhiệt mà sốt.

Pháp điều trị: Hoạt huyết hoá ứ.

Phương: Huyết phủ trục ứ thang (*Y lâm cải thác*) gia vị [15].

Gồm các vị “Đương qui, Đào nhân, Chỉ xác, Sài hồ, Cát cánh, Xuyên Ngưu tất, Sinh Đại hoàng, Hồng hoa, Xích thực, Xuyên khung,...”

1.3.2.2. Vị quản thống do huyết ứ

Triệu chứng: Vị quản đau nhói, nơi đau không di chuyển, cự án, bệnh nặng hơn thì thổ huyết, đại tiện phân đen.

Nguyên nhân: đau lâu lan toả đến đường lạc, huyết ứ ngưng đọng ở vị quản, khí cơ không thông lợi gây nên.

Pháp điều trị: Hoạt huyết hoá ứ, hành khí giảm đau.

Phương: Thất tiểu tán (*Thái bình huệ dân hòa tế cục phương*) hợp với bài Đan sâm ẩm (*Thời phương ca quát*) gia giảm [15].

Gồm các vị “Ngũ linh chi, Bồ hoàng, Đan sâm, Đan hương, Sa nhân,…”

1.3.2.3. Chứng Phúc thống do huyết ứ

Triệu chứng: vùng bụng đau nhói, ấn vào đau tăng, nơi đau cố định hoặc có hòn khối.

Nguyên nhân: do hàn tà ứ máu ở huyết mạch hoặc vấp ngã tổn thương hoặc tình chí phẫn uất, khí huyết uất kết, hai mạch Can kinh và Xung mạch ứ trệ gây nên.

Pháp điều trị: Hoạt huyết hoá ứ, giảm đau.

Phương: Thiếu phúc trục ứ thang (*Y lâm cải thác*) [15].

Gồm các vị “Tiểu hồi hương, Can khương, Huyền hồ, Một dược, Đương quy, Xuyên khung, Quế tâm, Xích thực, Bồ hoàng sống, Ngũ linh chi”

1.3.2.4. Chứng Ế cách có huyết ứ.

Triệu chứng: ăn vào mửa ra ngay, đồ ăn uống không trôi, vật mửa ra đỏ như nước đậu, có thêm các đặc điểm đại tiện như phân dê, thể trạng gầy còm, da dẻ kém tươi, mạch tế sáp.

Nguyên nhân: do ứ huyết kết ở trong, ngăn trở thực đạo, nặng hơn thì đường lạc tổn thương, huyết tràn ra ngoài.

Pháp điều trị: Tư âm dưỡng huyết, phá kết tiêu ứ.

Phương: Thông u thang (*Lang thất bí tàng*) [15].

Gồm các vị “Chính thảo, Đào nhân, Hồng hoa, Đương Quy (thân), Sinh địa, Thăng ma, Thục địa”

1.3.2.5. Hiếp thống có huyết ứ

Triệu chứng: vùng sườn đau nhói, hễ cử động thì đau tăng, nơi đau không di chuyển, càng về đêm càng đau tăng.

Nguyên nhân: do tổn thương vấp ngã, xút lung bị đòn, Can khí uất kết hoặc khí trệ lâu ngày dẫn đến huyết ứ, tê nghẽn mạch lạc.

Pháp điều trị: Hoạt huyết khứ ứ, sơ can thông lạc.

Phương thuốc: Phục nguyên hoạt huyết thang (*Y học phát minh*) [15].
Gồm các vị “Cam thảo, Đại Hoàng, Đương quy, Đào nhân, Hồng hoa, Qua lâu, Sài hồ”

1.3.2.6. Hoàng đản có huyết ứ.

Triệu chứng: hai mắt, da dẻ màu vàng tối, sắc mặt vàng mà tối trệ hoặc dưới sườn có hòn khối và đau, ấn vào khó chịu, ngoài da có thể thấy những vết đỏ như mạng nhện, đại tiện phân đen, chất lưỡi nhạt mà xanh hoặc tía tối hoặc có đám xuất huyết dưới da, mạch huyền sáp hoặc tế sáp.

Nguyên nhân: phần nhiều do Hoàng đản kéo dài không khỏi, bệnh lâu ngày phạm vào huyết phận, huyết lạc ứ kết gây nên.

Pháp điều trị: Hoạt huyết hoá ứ thoái hoàng.

Phương thuốc: Cách hạ trực ứ thang (*Y lâm cải thác*) gia vị [15].
Gồm các vị “Đào nhân, Chỉ xác, Xích thực, Hồng hoa, Ô dược, Ngũ linh chi, Xuyên khung, Đương quy, Cam thảo, Đan bì, Hương phụ, Diện hồ sách”

1.3.2.7. Cổ trướng có huyết ứ

Triệu chứng: bụng sưng to rắn đầy, sườn và bụng trướng đầy có lúc đau thúc, sắc mặt tối xám, lòng bàn tay có màu đỏ, sắc môi tía tối, miệng khát mà không muốn uống, đại tiện phân đen.

Nguyên nhân: do tình chí uất kết, nghiện rượu vô độ, hoặc ngoại tà trùng độc làm tổn thương Can Tỳ, ứ huyết nghẽn trệ mạch lạc, thủy dịch tụ đọng ở trong gây nên.

Pháp điều trị: Hoạt huyết hoá ứ, hành khí lợi thủy.

Phương thuốc: Điều doanh âm (*Chứng trị chuẩn thang*) [15].

Gồm các vị “Đương quy, Cù mạch, Xuyên khung, Đại hoàng, Xích thược, Tân lang, Nga truật, Trần bì, Huyền hồ, Đại phúc bì, Đinh lịch tử, Phục linh, Tang bạch bì, Tế tân, Quế tâm, Chích Cam thảo”

1.3.2.8. Yêu thống do huyết ứ

Triệu chứng: lưng đau như dùi đâm, nơi đau cố định, ấn vào đau tăng, cử động bị hạn chế.

Nguyên nhân: do vấp ngã tổn thương hoặc vị xút lưng, mạch lạc bị hại; ứ huyết lưu trệ ở vùng lưng gây nên.

Pháp điều trị: Hoạt huyết hoá ứ, lý khí giảm đau.

Phương thuốc: hoạt lạc hiệu linh đan (*Y trung trung tham tây lục*) gia vị [15].

Gồm các vị “Đan sâm, Đương quy, Một dược, Nhũ hương”

1.3.2.9. Hung thống do huyết ứ

Triệu chứng: đau nhói vùng ngực, vùng Tâm đau suốt sang lưng, điễm đau cố định, về đêm đau tăng và hồi hộp.

Nguyên nhân: do nội thương về tình chí, khí cơ không lợi, huyết không lưu thông, lạc mạch bị ứ trệ, hoặc ồm lâu bệnh phạm vào đường lạc, tâm mạch ứ nghẽn, tâm dương không mạch hoặc tà khí hàn thấp lưỡng vượng ở đường mạch xâm phạm vào Tâm ở bên trong, Tâm mạch bị tê nghẽn gây nên.

Pháp điều trị: khoan hung thông dương, hoạt huyết hoá ứ, thông lạc chỉ thống.

Phương thuốc: Chỉ thực bạch giới quế chi thang (*Kim quỹ yếu lược*) hợp với Thất tiêu tán (*Thái bình huệ dân hòa tễ cục phương*)

Gồm các vị “Chỉ thực, Giới bạch, Hậu phác, Quế chi, Thiệt lâu thực, Bô Hoàng, Ngũ linh chi”

Hoặc Huyết phủ trực ứ thang (*Y lâm cải thác*).

Gồm các vị “Đương qui, Đào nhân, Chỉ xác, Sài hồ, Cát cánh, Xuyên Ngưu tất, Sinh Đại hoàng, Hồng hoa, Xích thược, Xuyên khung”

Đau ở sườn do huyết lạc của can không thông thì dùng bài Toàn phúc hoa thang (*Kim quỹ yếu lược*) gia vị [15].

Gồm các vị “Tân giáng, Thông bạch, Toàn phúc hoa”

1.3.2.10. Đầu thống do huyết ứ

Triệu chứng: đau đầu như dùi đâm, đau cổ định không di chuyển, bệnh lâu ngày không khỏi.

Nguyên nhân: do vùng đầu sau khi bị ngoại thương, hoặc do ứ lâu bệnh tà phạm vào đường Lạc, ứ huyết đọng ở trong, làm tắc nghẽn mạch lạc gân nên.

Pháp điều trị: Hoạt huyết hoá ứ.

Phương thuốc: Thông khiếu hoạt huyết thang (*Y lâm cải thác*) [15].

Gồm các vị “Xích thước, Xuyên khung, Đào nhân, Hồng hoa, Củ hành già, Sinh khương, Xạ hương”

1.3.2.11. Trúng phong do huyết ứ

Triệu chứng: phần nhiều thuộc di chứng trúng phong, có nhiều triệu chứng đặc điểm như bán thân bất toại, nói năng khó khăn hoặc không nói được, miệng mất méo, lưỡi nhợt ngả màu xanh.

Nguyên nhân: do khí huyết ứ trệ, huyết mạch bị tê nghẽn.

Pháp điều trị: Hoạt huyết ích khí, sơ thông kinh lạc.

Phương thuốc: Bỗ dương hoàn ngũ thang (*Y lâm cải thác*) [15].

Gồm các vị “Sinh Hoàng kỳ, Xích thước, Đương quy, Đào nhân, Hồng hoa, Xuyên khung, Địa long”

1.3.2.12. Điên cuồng do huyết ứ

Triệu chứng: nói năng quàng xiên, mất ngủ, phiền muộn, hay giận, lưỡi đỏ, hoặc tía tối, mạch Xúc.

Nguyên nhân: do huyết ứ ngưng trệ khí huyết không bổ sung cho não gây nên.

Pháp điều trị: Hành khí tiêu ứ.

Phương thuốc: Điên cuồng mộng tỉnh thang (*Y lâm cải thác*) [15].

Gồm các vị “Đào nhân, Xích thước, Sài hồ, Trần bì, Tô tử, Tang bì, Bán hạ, Cam thảo, Mộc thông.”

1.3.2.13. Kinh bệnh do huyết ứ

Triệu chứng: cổ gáy cứng đờ, chân tay co giật, thể trạng gầy còm, nhưc đầu như dùi đâm chất lưỡi tối tía, mạch tế sáp.

Nguyên nhân: do ứ lâu không khỏi, tà khí dai dẳng, từ khí liên lụy đến huyết, đến nổi ứ huyết tụ ở trong, gân mạch không được nuôi dưỡng gây nên.

Pháp điều trị: Hoạt huyết hoá ứ, thông lạc trừ kinh.

Phương thuốc: Thông khiếu hoạt huyết thang (*Y lâm cải thác*) gia giảm [15]. Gồm các vị “Xích thược, Xuyên khung, Đào nhân, Hồng hoa, Củ hành già, Sinh khương, Xạ hương”

1.4. Tổng quan về bài thuốc nghiên cứu

1.4.1 Nguồn gốc, xuất xứ

“Côm Tharodas” là chế phẩm Y học cổ truyền có nguồn gốc phát triển từ bài thuốc “Bổ dương hoàn ngũ thang” trong “Y Lâm cải thác” của danh y Vương Thanh Nhậm đời nhà Thanh, có công dụng bổ khí, hoạt huyết, khứ ứ, thông lạc [9], [16], [17].

1.4.2. Thành phần bài thuốc

Côm Tharodas bao gồm 7 vị thuốc: Sinh hoàng kỳ, Xích thược, Đương quy, Xuyên khung, Đào nhân, Hồng hoa, Địa long. Dược liệu trong côm Tharodas được kiểm định chất lượng theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V và sản xuất theo tiêu chuẩn cơ sở tại công ty Cổ phần Dược phẩm Thành Phát.

1.4.3. Tác dụng vị thuốc theo Y học cổ truyền

Phương này phối ngũ thuốc bổ khí với thuốc hoạt huyết khứ ứ.

- Hoàng kỳ dùng sống liều cao để đại bổ vệ khí có sức mạnh vừa hành vừa bổ toàn thân, có tác dụng bổ khí thông lạc điều trị liệt là quân dược.
- Đương quy vĩ, Xuyên khung, Xích thược: hoạt huyết hòa vinh.
- Đào nhân, Hồng hoa, Địa long: hóa ứ thông lạc, khí huyết được lưu thông, phần cơ thể bị bệnh được hồi phục [9].

Tác dụng của vị thuốc theo YHCT:

Hoàng kỳ [25], [26]

Tính vị, quy kinh: vị ngọt, tính ấm, quy kinh Tỳ, Phế.

Tác dụng: bổ khí, thăng dương của tỳ, lợi niệu, tiêu viêm.

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.

Hoàng kỳ chích mật: kiện tỳ ích khí.

Hoàng kỳ phiến: cố biểu, lợi tiểu, trừ mủ sinh cơ.

Xích Thược [25], [26]

Tính vị, quy kinh: vị chua, đắng, tính hơi hàn; quy kinh Can, Tỳ.

Công năng, chủ trị: lương huyết, tán ú, giảm đau. Chủ trị: ôn độc phát ban, ỉa máu, chảy máu cam, mắt đỏ sưng đau, can uất, sườn đau, kinh bế, hành kinh đau bụng, hòn cục trong bụng, sưng đau do sang chấn, nhọt độc sưng đau.

Đương Quy [25], [26]

Tính vị, quy kinh: vị ngọt, cay, tính ấm; quy vào kinh Tâm, Can, Tỳ.

Tác dụng: bổ huyết, hành huyết.

Công năng, chủ trị: bổ huyết, hoạt huyết, điều kinh, giảm đau, nhuận tràng. Chủ trị: huyết hư, chóng mặt, kinh nguyệt không đều, bế kinh, đau bụng kinh, táo bón do huyết hư. Phong thấp tê đau, sưng đau do sang chấn.

Toàn Quy: Hòa huyết (vừa bổ huyết vừa hoạt huyết).

Quy vĩ: Hoạt huyết hóa ú.

Quy thân: Dưỡng huyết bổ huyết.

Quy đầu: Chỉ huyết.

Xuyên Khung [25], [26]

Tính vị quy kinh: Vị cay, tính ấm; quy vào kinh Can, Đờm, Tâm bào.

Tác dụng: hành khí, hoạt huyết, khu phong chỉ thống.

Công năng, chủ trị: hành khí hoạt huyết, trừ phong, giảm đau. Chủ trị: điều kinh, nhức đầu, hoa mắt, cảm mạo phong hàn, phong thấp nhức mỏi, ngực bụng đau tức, nhọt độc sưng đau.

Đào Nhân [25], [26]

Tính vị quy kinh: vị đắng, ngọt, tính bình; quy kinh Tâm, Can.

Tác dụng: Phá huyết, trục ứ nhuận táo.

Công năng: Hoạt huyết, khử ứ, nhuận tràng. Chủ trị: Vô kinh, mất kinh, trung hà, sưng đau do sang chấn, táo bón.

Hồng hoa [25], [26]

Tính vị, quy kinh: Vị cay, tính ấm, quy kinh Tâm, Can.

Tác dụng: Hoạt huyết thông kinh, tán ứ chi thông.

Công năng, chủ trị: Hoạt huyết thông kinh, tán ứ huyết, giảm đau. Chủ trị: Phụ nữ vô kinh, bế kinh, đau bụng khi hành kinh, hành kinh ra huyết cục, chấn thương gây tụ huyết, sưng đau, mụn nhọt.

Địa Long [25], [26]

Tính vị, quy kinh: vị mặn, tính hàn; quy kinh Can, Phế.

Tác dụng: Thanh nhiệt, trấn kinh, trị co giật, bình suyễn.

Công năng, chủ trị: Thanh nhiệt, trấn kinh, thông kinh lạc, bình suyễn, lợi niệu. Chủ trị: Sốt cao bất tỉnh, kinh giật co quắp, đau khớp, chân tay tê bại, bán thân bất toại, trúng phong, ho suyễn do phế nhiệt, phù thũng, tiểu ít, cao huyết áp.

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

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

Thuốc Y học cổ truyền có nguồn gốc phát triển lâu đời, gắn liền với lịch sử phát triển của dân tộc Việt Nam. Các danh y nổi tiếng như Tuệ Tĩnh, Hải Thượng Lãn Ông đã đặt nền móng vững chắc cho nền y học cổ truyền nước nhà. Để nâng cao chất lượng thuốc y học cổ truyền, việc nghiên cứu tác dụng dược lý và ứng dụng lâm sàng là điều vô cùng quan trọng. Đáp ứng thị hiếu

người tiêu dùng, các nhà sản xuất thuốc cổ truyền của Việt Nam đã cho ra đời hàng loạt các chế phẩm không qua thử nghiệm hoặc thử nghiệm không đầy đủ theo chuẩn từ nhiều dược liệu khác nhau, đa dạng phong phú về tên gọi, chủng loại, thành phần, tác dụng cũng như cách bào chế, giá cả tạo nên một thị trường thuốc từ dược liệu, thuốc đông y khó kiểm soát [27]. Vì vậy, việc nghiên cứu độc tính của các thuốc YHCT nhằm:

- Đánh giá tính xác thực của thuốc (authenticity) với các tiêu chuẩn cảm quan, thực vật, hóa lý và nếu có thể cả tiêu chuẩn sinh học.
- Đánh giá chất lượng thuốc thông qua việc xác định hàm lượng tạp chất, hàm lượng hoạt chất hoặc nhóm hoạt chất của dược liệu.
- Đánh giá hiệu quả của quy trình bào chế thuốc y học cổ truyền.
- Đánh giá độc tính, tác dụng điều trị, hỗ trợ điều trị của thuốc.
- Các đánh giá khác tùy theo mục tiêu nghiên cứu.

1.5.2. Các phương pháp thử nghiệm độc tính cấp

1.5.2.1. Mục tiêu

Thử độc tính cấp nhằm cung cấp thông tin cho việc xếp loại mức độ độc của thuốc; điều trị ngộ độc cấp; thiết lập mức liều cho những thử nghiệm độc tính tiếp theo [27]. Do vậy, các phép thử độc tính cấp cần xác định.

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

1.5.2.2. Mô hình thử

a) Nguyên tắc lựa chọn:

- Tùy theo mục đích của mỗi nghiên cứu và loại mẫu thử và những thông tin sẵn có để lựa chọn mô hình thử thích hợp. Loài động vật gặm nhấm thường được sử dụng là chuột nhắt, chuột cống; loài không gặm nhấm có thể dùng là chó hoặc khỉ. Số nhóm và số lượng cho mỗi nhóm tùy theo mô hình áp dụng [27].
- Thử sơ bộ: Thường được thực hiện trong hầu hết các mô hình thử. Dựa vào kết quả trong thử nghiệm sơ bộ để lựa chọn, bố trí thử nghiệm chính thức. Với những trường hợp thông tin cho thấy mẫu thử hoặc các chất liên quan có thể không độc hoặc ít độc, có thể thử trên một loài động vật (gặm nhấm). Đối với các chế phẩm có độc cao hoặc có yêu cầu đặc biệt về khoa học, cần thiết thử trên hai loài động vật thực nghiệm (gặm nhấm và không gặm nhấm) [27].
- Khuyến cáo: Để bảo vệ động vật, các mô hình sử dụng số ít động vật thí nghiệm được ưu tiên lựa chọn.

b) Mô hình liều cố định

- Nguyên tắc: Mô hình thử liều cố định được các nước thuộc Tổ chức hợp tác và phát triển kinh tế (OECD), áp dụng và ban hành chính thức năm 2001 (OECD 420). Thử nghiệm được thực hiện với các mức liều xác định 5, 50, 300, 2000, 5000mg/kg hay 1,0/kg động vật thực nghiệm.
- Lựa chọn liều thử đầu tiên liều thử trên một nhóm 5 động vật thực nghiệm. Thử nghiệm tiếp tục cho đến khi xác định mức độ độc dựa trên đáp ứng động vật thực nghiệm chết hoặc không và các triệu chứng ngộ độc, khả năng hồi phục quan sát được.
- Xác định giá trị LD₅₀ gần đúng (nếu có). Phép thử phù hợp với tất cả trường hợp cần xác định độc tính cấp [27].

c) Mô hình Tăng - Giảm

- Nguyên tắc: Mô hình thử Tăng - giảm được các nước thuộc Tổ chức hợp tác và phát triển kinh tế áp dụng và ban hành chính thức năm 2001 (OECD 425).

Thử nghiệm được tiến hành trên các mức liều được tính theo hệ số bước nhảy liều, thực hiện lần lượt trên từng động vật thực nghiệm theo tiến trình tăng hoặc giảm liều và tiếp tục cho đến khi đạt điều kiện dừng lại.

- Đánh giá kết quả bằng quan sát các biểu hiện và triệu chứng ngộ độc theo qui định chung và tính giá trị LD₅₀ gần đúng (nếu có) theo qui định riêng của phương pháp. Phương pháp này áp dụng phù hợp cho các chất có thể gây chết nhanh trong 1-2 ngày không phù hợp cho các chất gây chết từ từ trong 5 ngày hoặc hơn. Ngoài ra, có thể áp dụng phương pháp này trong trường hợp cần thử trên loài động vật không gặm nhấm [27].

d) Mô hình thử theo Behrens

- Nguyên tắc: Mô hình được Behrens đề xuất từ năm 1929 với lập luận “Những con vật đã sống ở một mức liều thử nào đó thì sẽ sống với tất cả những mức liều thấp hơn và những con vật đã chết ở một mức liều sẽ chết ở tất cả các mức liều cao hơn” [27].

e) Mô hình theo Litchfield – Wilcoxon

- Nguyên tắc: Mô hình được Litchfield - Wilcoxon đề xuất năm 1949 sau khi xem xét, cải tiến và cố gắng khắc phục những hạn chế của một số phương pháp trước đó. Kết quả được ghi đồ thị trên giấy log- probit và được tính theo phương pháp toán đồ có hiệu chỉnh, do vậy cho kết quả chính xác hơn. Trước đây, phương pháp thường được áp dụng trong tính giá trị LD₅₀ cho những chất có độc tính cao [28], [29].
- Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp Litchfield – Wilcoxon do có tính chính xác cao nhất.

1.6. Tổng quan về các mô hình chống đông trên thực nghiệm

- **Mô hình gây đông máu bệnh lý bằng lipopolysaccharid trên chuột cống**

Lipopolysaccharide (LPS) là một nội độc tố nằm trong lớp màng ngoài của vách vi khuẩn Gram âm, thường được xem là yếu tố chính chịu trách nhiệm trong quá trình gây nên sốc nhiễm trùng huyết. LPS gây đông máu thông qua

con đường đông máu ngoại sinh và nội sinh, tiêu thụ nguyên liệu của cả hai con đường, dẫn đến ảnh hưởng đến cả PTS cũng như aPTT(s).

Quá trình đông máu do LPS gây ra chủ yếu được hình thành bởi Lipid A, thành phần gây độc của phân tử LPS, gây nên sự giải phóng hàng loạt các cytokin gây viêm và hoạt hóa hệ thống bổ thể và con đường đông máu.

Trước khi gây mô hình, chuột được uống nước cất và thuốc tương ứng. Tiêm LPS tĩnh mạch đuôi, liều 3 mg/kg thể trọng với thể tích 0,5 mL/100g trọng lượng chuột để gây đông máu.

Chuột được lấy máu tại các thời điểm trước tiêm LPS 4h, 8h sau tiêm LPS. Tất cả các mẫu được hòa loãng (tỷ lệ 1:9) với 4% natricitrat [30], [31], [32].

- **Mô hình gây đông máu bệnh lý trên thỏ bằng thrombin của Margaretten – MC Kay (1964)**

Tiêm tĩnh mạch rìa tai thỏ 1 lần dung dịch Thrombin, liều 15UI (tiêm chậm trong vòng 3 phút) sau đó cho thỏ uống thuốc chống đông.

Thể tích cho uống ở tất cả các lô là 5ml/kg/24h, chia đều 2 lần vào 8h sáng và 14h chiều. Cho thỏ uống liên tục trong 1 tuần. Tại các thời điểm trước khi tiêm thrombin (T0), sau tiêm 24h (T1), 72h (T2), 5 ngày (T3), 7 ngày (T4). Thỏ được lấy máu tĩnh mạch để xét nghiệm các chỉ tiêu đông máu [33].

- **Mô hình gây huyết khối đuôi chuột bằng k-Carrageenan**

Mô hình này dựa trên cơ sở tăng đông máu, tổn thương nội mô và sự thay đổi lưu lượng máu bình thường. Việc thắt nút đơn giản để thay đổi lưu lượng máu ở chuột đã cải thiện đáng kể tần suất và dấu hiệu huyết khối sau khi tiêm K - carrageenan vào tĩnh mạch. Đặc biệt, tiêm 1 mg/kg K - carrageenan kết hợp với 10 phút thắt ở đuôi làm tăng tần suất huyết khối lên gần như 100% ở chuột cống [34].

- **Mô hình huyết khối tĩnh mạch sâu ở khỉ đầu chó**

Nghiên cứu này thiết lập một mô hình mới về huyết khối tĩnh mạch bằng cách ức chế hệ thống protein C kết hợp với ứ đọng tĩnh mạch và tổn thương tĩnh mạch tinh vi. Các con vật được quan sát trong khoảng thời gian 6 giờ vào ngày đầu tiên và sau đó trong khoảng thời gian từ 11 đến 15 ngày [30].

- **Mô hình gây huyết khối động mạch cảnh bằng Ferric Chloride FeCl_3**

Trên thực tế có rất nhiều mô hình huyết khối khác nhau đã được phát triển trên chuột. Trong số đó, tổn thương mạch do clorua sắt (FeCl_3) là một mô hình huyết khối tắc, được sử dụng rộng rãi báo cáo sự hoạt hóa và kết tập tiểu cầu trong bối cảnh hệ thống mạch kín vô trùng.

Mô hình này dựa trên tổn thương tế bào nội mô do oxy hóa khử, đơn giản và nhạy cảm với cả thuốc chống đông máu và thuốc chống tiểu cầu [35].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng mô hình gây đông máu bằng tiêm Lipopolysaccharid đuôi chuột của Wang B và cộng sự [30], là mô hình được sử dụng rộng rãi trên thế giới.

1.7. Tổng quan các nghiên cứu điều trị đông máu bằng y học cổ truyền

1.7.1. Trên thế giới

Năm 2013, Sien Hung Yang và cộng sự nghiên cứu ảnh hưởng của nước sắc Shu-Jing-Hwo-Shiee-Tang lên hoạt tính chống đông máu của Warfarin trên mô hình thực nghiệm trên thỏ. Kết quả: nước sắc Shu-Jing-Hwo-Shiee-Tang có xu hướng tăng cường tác dụng chống đông máu của warfarin, tuy nhiên sự khác biệt với nhóm chứng chưa có ý nghĩa thống kê [36].

Năm 2015, Xuan Dang và cộng sự nghiên cứu hiệu quả chống đông của viên nang RSNK trên mô hình ứ đọng máu ở chuột bị ngâm trong nước đá kết hợp tiêm norepinephrine dưới da và albumin huyết thanh bò. Kết quả cho thấy RSNK sở hữu đặc tính chống huyết khối đáng chú ý ở chuột thí nghiệm. Đặc tính này có thể liên quan đến hoạt động chống đông máu bằng cách điều hòa hoạt chất trong nội mạc mạch máu và duy trì sự cân bằng của TXA2 và PGI2 [37].

Năm 2015, Yan Zhao và cộng sự nghiên cứu Tác dụng chống huyết khối của công thức Xiaoshuantongluo (XECG) in vivo và in vitro. Mô hình huyết khối động mạch gây ra bởi quá trình oxy hóa sắt clorua ($FeCl_3$) và mô hình huyết khối tĩnh mạch gây ra bằng cách thắt tĩnh mạch chủ dưới. Kết quả chỉ ra rằng XECG đóng một vai trò quan trọng trong việc ngăn ngừa huyết khối thông qua tương tác với nhiều mục tiêu, bao gồm ức chế kết tập tiểu cầu và ức chế stress oxy hóa [38].

1.7.2. Tại Việt Nam

Nghiên cứu của Trần Quốc Bình và cộng sự (2014) được thực hiện nhằm đánh giá độc tính cấp và tác dụng chống đông máu của viên nang Hoạt huyết an não trên thực nghiệm, Kết quả nghiên cứu Viên nang Hoạt huyết an não không gây độc tính cấp ở liều 64,66gam/kg (gấp 44,66 lần liều sử dụng trên lâm sàng). Chưa xác định được LD_{50} . Viên nang Hoạt huyết an não không gây độc tính bán trường diễn liều 0,36gam/kg/ngày (liều tương đương sử dụng trên lâm sàng) và liều 1,08gam /kg/ngày (liều gấp 3 lần sử dụng trên lâm sàng) trong 8 tuần liên tục [39].

Nghiên cứu của Phạm Thị Vân Anh và cộng sự (2018) được thực hiện nhằm đánh giá tác dụng trên quá trình đông máu và tiêu fibrin của chế phẩm TD.HK01 trên mô hình gây đông máu thực nghiệm. Tiêm tĩnh mạch đuôi chuột công trắng lipopolysaccharid và tiêm tĩnh mạch tai thỏ thrombin để gây đông máu thực nghiệm. Kết quả nghiên cứu cho thấy TD.HK01 liều 0,8 g/kg/ngày và liều 2,4 g/kg/ngày trên thỏ có tác dụng tiêu fibrin trên mô hình gây đông máu bằng thrombin. TD.HK01 không có tác dụng chống đông trên mô hình gây đông máu bằng lipopolysaccharid trên chuột công trắng [40].

Năm 2022, Đặng Công Thái nghiên cứu đánh giá tác dụng chống đông của viên hoàn mềm Huyết phủ trực ứ hoàn trên mô hình gây đông máu bằng lipopolysaccharid ở chuột công trắng chủng *Wistar*. Kết quả của nghiên cứu cho thấy Huyết phủ trực ứ hoàn liều 0,72 viên/kg/ngày thể hiện tác dụng chống

đông thông qua việc tăng số lượng tiểu cầu và nồng độ fibrinogen, đồng thời kéo dài PT và aPTT so với lô mô hình [41].

Nghiên cứu của Trần Thái Hà, Đào Xuân Tinh và cộng sự năm 2022 nhằm đánh giá tác dụng chống đông của viên hoàn Trân châu ngư hoàng hoàn trên mô hình gây đông máu bằng lipopolysaccharid ở chuột cống trắng. Kết quả của nghiên cứu cho thấy tác dụng chống đông phụ thuộc liều của Trân châu ngư hoàng hoàn thể hiện thông qua việc tăng số lượng tiểu cầu và nồng độ fibrinogen, đồng thời kéo dài PT và aPTT. Trân châu ngư hoàng hoàn có tác dụng chống đông trên mô hình gây đông máu bằng lipopolysaccharid ở chuột cống trắng [42].

CHƯƠNG 2

CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu nghiên cứu

2.1.1. Thuốc nghiên cứu

Thuốc nghiên cứu: Cốm Tharodas do Công ty cổ phần dược phẩm Thành Phát sản xuất, được Công ty TNHH thương mại NTB Pharma New phân phối, đạt tiêu chuẩn cơ sở.

Dạng chế phẩm: Cốm hoàn tan

Lô sản xuất: 010822

Ngày sản xuất: 02/08/2022

Hạn sử dụng đến: 02/08/2025

Bảng 2.1. Thành phần sản phẩm

Thành phần	Gói 3g	Tiêu chuẩn dược liệu
Cao đặc hỗn hợp dược liệu (<i>Extractum</i>) Tương đương với:	300mg	DĐVN V

Hoàng kỳ (<i>Radix Astragali membranacei</i>)	1,06g	DĐVN V
Đương quy (<i>Radix Angelicae sinensis</i>)	0,53g	DĐVN V
Xích thược (<i>Radix Paeoniae</i>)	0,35g	DĐVN V
Địa long (<i>Pheretima</i>)	0,26g	DĐVN V
Xuyên khung (<i>Rhizoma Ligustici wallichii</i>)	0,26g	DĐVN V
Đào nhân (<i>Semen Pruni</i>)	0,26g	DĐVN V
Hồng hoa (<i>Flos Carthami tinctorii</i>)	0,26g	DĐVN V
*Thành phần tá dược: Natri saccharin (Saccharin sodium), Bột hương dâu, PVP K30, Lactose monohydrate.....vừa đủ 1 gói.		

Chỉ định:

- Dự phòng và điều trị chứng bán thân bất toại (liệt nửa người) do trúng phong thể khí hư huyết ứ
- Dự phòng và điều trị liệt dây VII ngoại biên (khẩu nhãn oa tà) do trúng phong thể khí hư huyết ứ
- Tiểu nhiều lần hoặc tiểu không tự chủ do khí hư huyết ứ
- Thiếu năng tuần hoàn não, đau đầu, mất ngủ, suy giảm trí nhớ, tê mỏi chân tay do khí hư huyết ứ.

Chống chỉ định: phụ nữ có thai

Cách dùng và liều dùng:

- Liều điều trị: ngày uống 2-3 lần, mỗi lần 2 gói 3g và nếu bệnh nặng có thể tăng lên ngày uống 3 lần.
- Liều duy trì (dự phòng): ngày uống 2 lần, mỗi lần 2 gói 3g

2.1.2. Dụng cụ, hoá chất và máy móc nghiên cứu

- Cân điện tử của Nhật, độ chính xác 0,001 gam.
- Kim đầu tù cho chuột uống
- Cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1ml.

- Rivaroxaban 20 mg, biệt dược Xarelto[®] của Công ty Bayer Health Care Pharmaceuticals.
- Lipopolysaccharides from *Escherichia coli* O55:B5 L2880-25MG của Sigma-Aldrich.
- Thromborel[®] S (bao gồm thromboplastin và canxi) của hãng Siemens, Đức được nhập khẩu bởi Công ty TNHH Sysmex Việt Nam;
- Dade[®] Actin[®] FSL Activated PTT Reagent (bao gồm phospholipid) của hãng Siemens, Đức được nhập khẩu bởi Công ty TNHH Sysmex Việt Nam;
- Dung dịch canxi clorid nồng độ 0,025 mol/L của hãng Siemens, Đức được nhập khẩu bởi Công ty TNHH Sysmex Việt Nam.
- Các dung dịch xét nghiệm máu của hãng Horiba Medical, định lượng trên máy phân tích huyết học ABX Micros 60 ES của hãng Horiba Medical (Pháp).
- Kit định lượng các enzym và chất chuyển hoá trong máu: ALT (alanin aminotransferase); AST (aspartat aminotransferase); ure; và creatinin của hãng Erba, định lượng trên máy sinh hóa bán tự động Erba của Ấn Độ.
- Máy phân tích đông máu bán tự động SYSMEX CA 50 (Nhật Bản).

2.2. Đối tượng nghiên cứu.

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss*, cả 2 giống, khoẻ mạnh, trọng lượng 30g - 35g được cung cấp bởi Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung Ương.

Động vật được nuôi 5 - 10 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn riêng cho từng loài và uống nước tự do tại phòng thí nghiệm của Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội.

2.3. Phương pháp nghiên cứu.

Thiết kế nghiên cứu:

Nghiên cứu thực nghiệm, có đối chiếu với nhóm chứng.

2.3.1. Nghiên cứu độc tính cấp của cốm *Tharodas*

Nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD₅₀ của cốm Tharodas trên chuột nhắt trắng theo đường uống [29], [43], [44].

Chuẩn bị mẫu làm nghiên cứu:

Lấy 40 gói, nghiền trong cối sứ, thêm nước cất thu được 80 ml vừa đủ. Đây là dung dịch đậm đặc có thể cho chuột nhắt trắng uống bằng kim đầu tù chuyên dụng. Dung dịch đậm đặc này dùng để nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD₅₀ của cốm Tharodas.

Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhịn ăn qua đêm. Chuột được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống cốm Tharodas với liều tăng dần trong cùng một thể tích để xác định liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột (gây chết 0% chuột). Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết...) và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc. Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó xây dựng đồ thị để xác định LD₅₀ của thuốc thử. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống cốm Tharodas.

2.3.2. Nghiên cứu tác dụng chống đông máu của cốm Tharodas trên mô hình gây đông bằng lipopolysaccharid trên chuột nhắt trắng.

Nghiên cứu sử dụng mô hình gây đông máu bằng lipopolysaccharid của Wang B và cộng sự [30], tình trạng đông máu của chuột được gây ra bằng cách tiêm tĩnh mạch đuôi chuột dung dịch lipopolysaccharid với liều 4 mg/kg, tiêm chậm trong 3 phút.

Chuột nhắt trắng được chia thành 5 lô, mỗi lô 8 con:

- Lô 1 (chứng sinh học): uống nước cất + tiêm tĩnh mạch đuôi chuột nước muối sinh lý.
- Lô 2 (mô hình): uống nước cất + tiêm tĩnh mạch đuôi chuột lipopolysaccharid liều 4 mg/kg.

- Lô 3 (chứng dương): uống rivaroxaban liều 10 mg/kg trong 7 ngày + tiêm tĩnh mạch đuôi chuột lipopolysaccharid liều 4 mg/kg.

- Lô 4: uống cốm Tharodas 4,32g/kg/ngày (*liều tương đương với liều dự kiến dùng trên lâm sàng*) trong 7 ngày + tiêm tĩnh mạch đuôi chuột lipopolysaccharid liều 4 mg/kg.

- Lô 5: uống cốm Tharodas 12,96g/kg/ngày (*gấp 3 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng*) trong 7 ngày + tiêm tĩnh mạch đuôi chuột lipopolysaccharid liều 4 mg/kg.

Cách tính liều trên chuột : Tính bình quân một người 50kg thì liều dự kiến có tác dụng trên lâm sàng là 0,36g/kg cân nặng. Tính liều trên chuột nhất với hệ số ngoại suy là 12 thì liều thử là 4,32g/kg/ngày (*liều tương đương với liều dự kiến dùng trên lâm sàng*), liều gấp 3 là 12,96g/kg/ngày [43].

Chuột nhất trắng được uống thuốc thử/rivaroxaban/nước cất 1 lần/ngày, liên tục trong 7 ngày trước khi tiêm lipopolysaccharid để gây tình trạng đông máu.

Tại ngày thứ 7 của nghiên cứu:

- Lô 1: một giờ sau khi uống nước cất lần cuối, chuột nhất được tiêm tĩnh mạch đuôi nước muối sinh lý.

- Lô 2-5: một giờ sau khi uống thuốc thử/rivaroxaban/nước cất lần cuối, chuột nhất được tiêm tĩnh mạch đuôi lipopolysaccharid với liều 4 mg/kg, tiêm chậm để gây đông máu.

Chuột nhất ở tất cả các lô nghiên cứu được lấy máu vào thời điểm 4 giờ sau khi tiêm lipopolysaccharid để đánh giá các chỉ số nghiên cứu gồm:

- Số lượng tiểu cầu;
- Thời gian prothrombin (PT), tỷ lệ prothrombin (PT%), PT-INR;
- Thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa (aPTT), aPTT_{bệnh-chứng};
- Nồng độ fibrinogen;

- Đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan thông qua hoạt độ AST, ALT trong máu chuột;

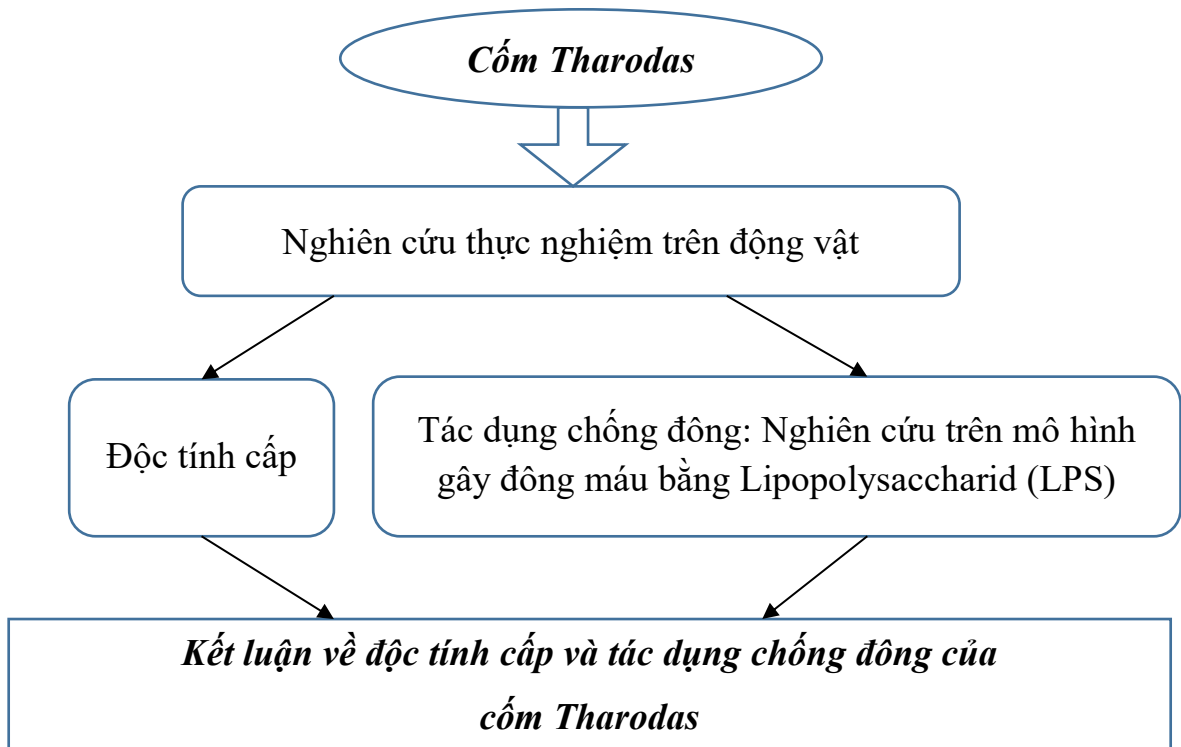
- Đánh giá chức năng thận thông qua định lượng nồng độ creatinin và ure trong máu chuột.

Các chỉ số nghiên cứu được so sánh giữa các lô.

2.4. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

- Địa điểm: Bộ môn Dược lý – Trường Đại học Y Hà Nội.
- Thời gian: Từ tháng 06 đến tháng 09 năm 2023.

2.5. Sơ đồ nghiên cứu



Sơ đồ 2.1. Mô hình nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng chống đông máu trên mô hình thực nghiệm của côm Tharodas

2.6. Xử lý số liệu

* **Độc tính cấp:** Các số liệu được xử lý thống kê theo thuật toán thống kê T-test Student bằng phần mềm Microsoft Excel.

* Tác dụng chống đông:

Phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng SigmaPlot 12.0 (SYSTAT Software Inc, Richmond, CA, USA). Kết quả được biểu thị dưới dạng giá trị trung bình dạng $\bar{X} \pm SD$. Sự khác biệt giữa các nhóm được đánh giá bằng phương pháp phân tích phương sai một yếu tố (ONE WAY ANOVA) sau đó sử dụng test hậu kiểm Student - Newman - Keuls để so sánh từng cặp. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

Khác biệt so với lô chứng sinh học: $^{\Delta} p < 0,05$; $^{\Delta\Delta} p < 0,01$; $^{\Delta\Delta\Delta} p < 0,001$

Khác biệt so với lô mô hình: $ p < 0,05$; $** p < 0,01$; $*** p < 0,001$*

* Ảnh hưởng lên chức năng gan, thận

Các số liệu nghiên cứu được thu thập và xử lý bằng phương pháp thống kê y sinh học theo T-test-Student và test trước sau (Avant-après). Biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.7. Sai số và cách khống chế sai số

Các phương pháp được áp dụng để hạn chế tối đa các sai số có thể xảy ra trong quá trình thu thập, phân tích và xử lý số liệu: Động vật nghiên cứu được lựa chọn tương đối đồng đều, khỏe mạnh không có dị tật hay dấu hiệu bất thường. Thời gian thực hiện các bước thí nghiệm giữa các lô chuột là thống nhất cùng một thời điểm. Số liệu được đo đạc cẩn thận và chính xác bằng các dụng cụ, máy móc tại phòng thí nghiệm. Lưu trữ số liệu, thông tin bằng sổ ghi chép, chụp ảnh. Xử lý số liệu bằng phần mềm chuyên dụng trên máy tính.

2.8. Đạo đức nghiên cứu

- Nghiên cứu được thực hiện trên chuột thí nghiệm, 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.
- 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 [27].

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cốm Tharodas

Chuột nhắt trắng được uống cốm Tharodas từ liều thấp nhất đến liều cao nhất. Lô chuột đã uống đến liều 0,25 ml/10g, 4 lần trong 24 giờ dung dịch đậm đặc, theo dõi thấy các liều cốm Tharodas không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau khi uống.

Bảng 3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cốm Tharodas

Lô chuột	n	Liều (ml/kg)	Liều (g/kg)	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	50	100	0	không
Lô 2	10	75	150	0	không
Lô 3	10	100	200	0	không

***Nhận xét:**

Kết quả bảng 3.1 cho thấy: Các lô chuột uống cốm Tharodas liều từ 100g/kg đến liều tối đa 200g/kg không có biểu hiện độc tính cấp.

Từ bảng 3.1 tính được liều dung nạp tối đa (Luôn nhỏ hơn liều chết 50%) của cốm Tharodas là 200g/kg.

3.2. Kết quả đánh giá tác dụng chống đông máu của côm Tharodas trên mô hình gây đông bằng lipopolysaccharid trên động vật thực nghiệm

3.2.1. Ảnh hưởng của côm Tharodas đến số lượng tiểu cầu

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của côm Tharodas đến số lượng tiểu cầu

Lô nghiên cứu	n	Số lượng tiểu cầu (G/L) ($\bar{X} \pm SD$)
Lô 1: Chứng sinh học	8	1155,50 \pm 235,97
Lô 2: Mô hình	8	800,75 \pm 185,90 ^{△△}
Lô 3: Chuột được uống rivaroxaban	8	1093,25 \pm 277,45*
Lô 4: Côm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày	8	975,13 \pm 189,25
Lô 5: Côm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày	8	1122,25 \pm 140,06**

Khác biệt so với lô chứng sinh học: [△] $p < 0,05$; ^{△△} $p < 0,01$; ^{△△△} $p < 0,001$

Khác biệt so với lô mô hình: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

***Nhận xét:** Kết quả ở bảng 3.2 cho thấy:

- Số lượng tiểu cầu của chuột lô mô hình giảm rõ rệt so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.
- Số lượng tiểu cầu của chuột lô uống rivaroxaban liều 10 mg/kg tăng rõ rệt so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Không có sự khác biệt về số lượng tiểu cầu của chuột lô uống rivaroxaban liều 10 mg/kg và lô chứng sinh học ($p > 0,05$).
- Số lượng tiểu cầu của chuột lô uống côm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p > 0,05$).
- Số lượng tiểu cầu của chuột lô uống côm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày tăng so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Không có sự khác biệt về số lượng tiểu cầu của chuột lô uống côm Tharodas liều 12,96 g/kg/ngày và lô chứng sinh học ($p > 0,05$)

3.2.2. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến nồng độ fibrinogen

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến nồng độ fibrinogen

Lô nghiên cứu	n	Fibrinogen (g/L) ($\bar{X} \pm SD$)
Lô 1: Chứng sinh học	8	2,197 \pm 0,665
Lô 2: Mô hình	8	1,984 \pm 0,620
Lô 3: Chuột được uống rivaroxaban	8	1,928 \pm 0,374
Lô 4: Cốm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày	8	1,901 \pm 0,590
Lô 5: Cốm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày	8	1,972 \pm 0,523

Khác biệt so với lô chứng sinh học: $^{\Delta} p < 0,05$; $^{\Delta\Delta} p < 0,01$; $^{\Delta\Delta\Delta} p < 0,001$

Khác biệt so với lô mô hình: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

***Nhận xét:** Kết quả ở bảng 3.3 cho thấy:

- Nồng độ fibrinogen của chuột lô mô hình không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p > 0,05$).
- Nồng độ fibrinogen của chuột ở các lô uống rivaroxaban liều 10 mg/kg/ngày và cốm Tharodas cả 2 mức liều đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p > 0,05$).

3.2.3. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến thời gian prothrombin, tỷ lệ Prothombin và Prothrombin-INR

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến thời gian prothrombin (PTs)

Lô nghiên cứu	n	PTs ($\bar{X} \pm SD$)
Lô 1: Chứng sinh học	8	10,47 \pm 2,83
Lô 2: Mô hình	8	10,73 \pm 2,37
<i>p so với lô 1</i>		> 0,05
Lô 3: Rivaroxaban liều 10 mg/kg/ngày	8	13,67 \pm 1,57
<i>p so với lô 1</i>		< 0,05
<i>p so với lô 2</i>		< 0,05
Lô 4: Cốm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày	8	12,32 \pm 1,72
<i>p so với lô 1</i>		> 0,05
<i>p so với lô 2</i>		> 0,05
Lô 5: Cốm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày	8	13,43 \pm 1,49
<i>p so với lô 1</i>		< 0,05
<i>p so với lô 2</i>		< 0,05

***Nhận xét:**

- Thời gian prothrombin (PT) của chuột lô mô hình không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p > 0,05$).

- Rivaroxaban liều 10 mg/kg làm kéo dài PT so với lô chứng sinh học và lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- PT của chuột lô uống cốm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p > 0,05$).

- Cốm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày làm kéo dài PT so với lô chứng sinh học và lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến tỷ lệ prothrombin (PT%)

Lô nghiên cứu	n	PT% ($\bar{X} \pm SD$)
Lô 1: Chứng sinh học	8	118,00 ± 43,54
Lô 2: Mô hình	8	114,06 ± 36,52
<i>p so với lô 1</i>		<i>> 0,05</i>
Lô 3: Rivaroxaban liều 10 mg/kg/ngày	8	68,78 ± 24,15
<i>p so với lô 1</i>		<i>< 0,05</i>
<i>p so với lô 2</i>		<i>< 0,05</i>
Lô 4: Cốm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày	8	89,51 ± 26,39
<i>p so với lô 1</i>		<i>> 0,05</i>
<i>p so với lô 2</i>		<i>> 0,05</i>
Lô 5: Cốm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày	8	72,53 ± 22,90
<i>p so với lô 1</i>		<i>< 0,05</i>
<i>p so với lô 2</i>		<i>< 0,05</i>

***Nhận xét:**

- Tỷ lệ prothrombin (PT%) của chuột lô mô hình không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p > 0,05$).

- Rivaroxaban liều 10 mg/kg làm giảm PT% so với lô chứng sinh học và lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- PT% của chuột lô uống cốm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p > 0,05$).

- Cốm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày làm giảm PT% so với lô chứng sinh học và lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Bảng 3.6. Ảnh hưởng của cốm Tharodas prothrombin-INR (PT-INR)

Lô nghiên cứu	n	PT-INR ($\bar{X} \pm SD$)
Lô 1: Chứng sinh học	8	0,90 \pm 0,24
Lô 2: Mô hình	8	0,92 \pm 0,20
<i>p so với lô 1</i>		<i>> 0,05</i>
Lô 3: Rivaroxaban liều 10 mg/kg/ngày	8	1,18 \pm 0,14
<i>p so với lô 1</i>		<i>< 0,05</i>
<i>p so với lô 2</i>		<i>< 0,05</i>
Lô 4: Cốm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày	8	1,06 \pm 0,15
<i>p so với lô 1</i>		<i>> 0,05</i>
<i>p so với lô 2</i>		<i>> 0,05</i>
Lô 5: Cốm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày	8	1,16 \pm 0,13
<i>p so với lô 1</i>		<i>< 0,05</i>
<i>p so với lô 2</i>		<i>< 0,05</i>

***Nhận xét:**

- Tỷ lệ prothrombin-INR (PT-INR) của chuột lô mô hình không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p > 0,05$).

- Rivaroxaban liều 10 mg/kg làm tăng PT-INR so với lô chứng sinh học và lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Tỷ lệ PT-INR của chuột lô uống cốm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p > 0,05$).

- Cốm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày làm tăng PT-INR so với lô chứng sinh học và lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

3.2.4. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa (aPTT) và aPTTbệnh-chứng

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa (aPTTs)

Lô nghiên cứu	n	aPTTs ($\bar{X} \pm SD$)
Lô 1: Chứng sinh học	8	51,28 ± 16,47
Lô 2: Mô hình	8	77,68 ± 22,82
<i>p so với lô 1</i>		< 0,05
Lô 3: Rivaroxaban liều 10 mg/kg/ngày	8	55,68 ± 15,94
<i>p so với lô 1</i>		> 0,05
<i>p so với lô 2</i>		< 0,05
Lô 4: Cốm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày	8	64,00 ± 22,18
<i>p so với lô 1</i>		> 0,05
<i>p so với lô 2</i>		> 0,05
Lô 5: Cốm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày	8	73,28 ± 24,19
<i>p so với lô 1</i>		> 0,05
<i>p so với lô 2</i>		> 0,05

***Nhận xét:** aPTT của chuột lô mô hình tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p < 0,05$).

- Rivaroxaban liều 10 mg/kg làm giảm aPTT so với lô mô hình, có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về aPTT giữa lô uống rivaroxaban liều 10 mg/kg và lô chứng sinh học ($p > 0,05$).

- aPTT của chuột lô uống cốm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày và 12,96g/kg/ngày không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p > 0,05$).

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến thời gian aPTT_{bệnh-chứng}

Lô nghiên cứu	n	aPTT _{bệnh-chứng} ± SD
Lô 1: Chứng sinh học	8	1,90 ± 0,61
Lô 2: Mô hình	8	2,88 ± 0,85
<i>p so với lô 1</i>		< 0,05
Lô 3: Rivaroxaban liều 10 mg/kg/ngày	8	2,06 ± 0,59
<i>p so với lô 1</i>		> 0,05
<i>p so với lô 2</i>		< 0,05
Lô 4: Cốm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày	8	2,37 ± 0,82
<i>p so với lô 1</i>		> 0,05
<i>p so với lô 2</i>		> 0,05
Lô 5: Cốm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày	8	2,71 ± 0,90
<i>p so với lô 1</i>		> 0,05
<i>p so với lô 2</i>		> 0,05

***Nhận xét:**

- aPTT_{bệnh-chứng} của chuột lô mô hình tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p < 0,05$).

- Rivaroxaban liều 10 mg/kg làm giảm aPTT_{bệnh-chứng} so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về aPTT_{bệnh-chứng} giữa lô uống rivaroxaban liều 10 mg/kg và lô chứng sinh học ($p > 0,05$).

- aPTT_{bệnh-chứng} của chuột lô uống cốm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày và 12,96g/kg/ngày không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p > 0,05$).

3.2.5. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến mức độ hủy hoại tế bào gan chuột nhắt trắng gây đông máu bằng lipopolysaccharid

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến hoạt độ AST trong máu chuột

Khác biệt so với lô chứng sinh học: $\Delta p < 0,05$; $\Delta\Delta p < 0,01$; $\Delta\Delta\Delta p < 0,001$

Lô nghiên cứu	n	Hoạt độ AST (UI/L) ($\bar{X} \pm SD$)
Lô 1: Chứng sinh học	8	147,63 \pm 20,49
Lô 2: Mô hình	8	162,75 \pm 44,10
Lô 3: Rivaroxaban liều 10 mg/kg/ngày	8	154,25 \pm 33,60
Lô 4: Cốm Tharodas liều 4,32 g/kg/ngày	8	152,50 \pm 33,11
Lô 5: Cốm Tharodas liều 12.96 g/kg/ngày	8	176,25 \pm 35,92

Khác biệt so với lô mô hình: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

***Nhận xét:** Hoạt độ AST trong máu chuột nhất trắng ở lô uống rivaroxaban liều 10 mg/kg/ngày và cốm Tharodas cả hai mức liều đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và lô mô hình ($p > 0,05$).

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến hoạt độ ALT trong máu chuột

Lô nghiên cứu	n	Hoạt độ ALT (UI/L) ($\bar{X} \pm SD$)
Lô 1: Chứng sinh học	8	51,88 \pm 10,51
Lô 2: Mô hình	8	65,88 \pm 9,20 ^{Δ}
Lô 3: Rivaroxaban liều 10 mg/kg/ngày	8	56,00 \pm 14,10
Lô 4: Cốm Tharodas liều 4,32 g/kg/ngày	8	70,38 \pm 15,09 ^{Δ}
Lô 5: Cốm Tharodas liều 12.96 g/kg/ngày	8	71,13 \pm 14,51 ^{$\Delta\Delta$}

Khác biệt so với lô chứng sinh học: $\Delta p < 0,05$; $\Delta\Delta p < 0,01$; $\Delta\Delta\Delta p < 0,001$

Khác biệt so với lô mô hình: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

***Nhận xét:** Hoạt độ ALT trong máu chuột lô mô hình tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p < 0,05$).

- Hoạt độ ALT trong máu chuột lô uống Rivaroxaban liều 10 mg/kg không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và lô mô hình ($p > 0,05$).

- Hoạt độ ALT trong máu chuột lô uống cỏm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hoạt độ ALT trong máu chuột lô uống Cỏm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày so với lô mô hình ($p > 0,05$).

- Hoạt độ ALT trong máu chuột lô uống cỏm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p < 0,01$). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hoạt độ ALT trong máu chuột lô uống cỏm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày so với lô mô hình ($p > 0,05$).

3.2.6. Ảnh hưởng của cỏm Tharodas đến chức năng thận của chuột nhắt trắng gây đông máu bằng lipopolysaccharid

Bảng 3.11. Ảnh hưởng của cỏm Tharodas đến nồng độ creatinin trong máu chuột nhắt trắng

Lô nghiên cứu	n	Creatinin (mg/dL) ($\bar{X} \pm SD$)
Lô 1: Chứng sinh học	8	65,63 \pm 3,50
Lô 2: Mô hình	8	66,13 \pm 7,34
Lô 3: Rivaroxaban liều 10 mg/kg/ngày	8	66,63 \pm 7,27
Lô 4: Cỏm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày	8	63,25 \pm 5,26
Lô 5: Cỏm Tharodas liều 12,96 g/kg/ngày	8	64,88 \pm 4,19

Khác biệt so với lô chứng sinh học: $\Delta p < 0,05$; $\Delta\Delta p < 0,01$; $\Delta\Delta\Delta p < 0,001$

*Khác biệt so với lô mô hình: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$*

***Nhận xét:**

Nồng độ creatinin trong máu chuột nhắt trắng ở lô uống rivaroxaban liều 10 mg/kg/ngày và cỏm Tharodas cả hai mức liều đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và lô mô hình ($p > 0,05$).

Bảng 3.12. Ảnh hưởng của cỏm Tharodas đến nồng độ ure trong máu chuột nhắt trắng

Lô nghiên cứu	n	Ure (mg/dL) ($\bar{X} \pm SD$)
Lô 1: Chứng sinh học	8	13,01 \pm 3,51
Lô 2: Mô hình	8	11,94 \pm 2,98
Lô 3: Rivaroxaban liều 10 mg/kg/ngày	8	9,95 \pm 2,67
Lô 4: Cỏm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày	8	11,21 \pm 1,94
Lô 5: Cỏm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày	8	10,60 \pm 2,44

Khác biệt so với lô chứng sinh học: $\Delta p < 0,05$; $\Delta\Delta p < 0,01$; $\Delta\Delta\Delta p < 0,001$

Khác biệt so với lô mô hình: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

***Nhận xét:**

Kết quả ở bảng 3.11 cho thấy:

Nồng độ ure trong máu chuột nhắt trắng ở lô uống rivaroxaban liều 10 mg/kg/ngày và cỏm Tharodas cả hai mức liều đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và lô mô hình ($p > 0,05$).

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

4.1. Bàn luận về độc tính cấp của cốm Tharodas

Cốm Tharodas là chế phẩm Y học cổ truyền được bào chế và sản xuất tại công ty Cổ phần Dược phẩm Thành Phát, có nguồn gốc từ bài thuốc “Bổ dương hoàn ngũ thang” trong “Y Lâm cái thác” của danh y Vương Thanh Nhậm đời nhà Thanh[6]. Cốm Tharodas gồm 7 vị thuốc Hoàng kỳ, Đương quy, Xích thực, Địa long, Xuyên khung, Đào nhân, Hồng hoa, các vị thuốc đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V [15]. Để đảm bảo độ an toàn cho việc thử nghiệm giai đoạn tiếp theo, chúng tôi tiến hành thử nghiệm độc tính cấp của cốm Tharodas trên động vật thí nghiệm.

Một loại thuốc mới, dược liệu mới hay phối hợp dược liệu rất cần độc tính cấp, nhằm cung cấp các thông tin về triệu chứng ngộ độc, thời gian ngộ độc, từ đó tính được mức độ gây độc của thuốc thử sau khi uống. Độc tính cấp là những biểu hiện gây ra do dùng thuốc một hay nhiều lần trong vòng 24 giờ. Việc nghiên cứu độc tính cấp của thuốc có ý nghĩa trong việc định hướng và dự kiến liều dùng cho nghiên cứu tác dụng trên thực nghiệm và trên người cũng như cung cấp những thông tin về ảnh hưởng có thể xảy ra khi dùng quá liều trên người. Mục đích của nghiên cứu độc tính cấp là xác định liều LD₅₀ và ghi nhận ảnh hưởng của thuốc trên động vật thí nghiệm. Các thông số này giúp đánh giá độc tính của thuốc. Từ liều LD₅₀ và liều có tác dụng dược lý ở 50% động vật thí nghiệm - ED₅₀ để tính ra chỉ số điều trị IT = LD₅₀/ED₅₀. Nghiên cứu độc tính cấp của cốm Tharodas được tiến hành bằng đường uống theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon [28], [29].

Nghiên cứu độc tính cấp của cốm Tharodas trên chuột được tiến hành tại Bộ môn Dược lý Trường Đại học Y Hà Nội theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon. Kết quả bảng 3.1 cho thấy: chuột nhắt trắng được uống cốm

Tharodas liều từ 100g/kg thể trọng đến liều tối đa 200g/kg thể trọng nhưng không có chuột nào chết, không xuất hiện triệu chứng bất thường trong 72 giờ sau khi uống thuốc lần đầu và trong suốt 7 ngày tiếp theo. Liều 200g/kg thể trọng sử dụng trên chuột nhắt trắng gấp 46,29 lần liều dùng dự kiến trên người (tính người lớn trưởng thành 50kg, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt 12, liều tối đa 18gram/ngày/người) không có bất kỳ biểu hiện độc tính cấp của thuốc và không xác định được LD₅₀.

Như vậy, theo tiêu chuẩn của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), cốm Tharodas có tính an toàn, không gây độc tính cấp, khoảng an toàn điều trị rộng với liều dùng trên lâm sàng [35]. Kết quả này khẳng định thành phần, phối ngũ các vị thuốc trong cốm Tharodas là phù hợp và an toàn, đồng thời cũng nêu vai trò của công tác bào chế và ứng dụng công nghệ hiện đại trong quy trình sản xuất, chế biến đảm bảo tác dụng của hoạt chất cũng như các điều kiện về tiêu chuẩn chất lượng. Cốm Tharodas cũng như các chế phẩm có nguồn gốc dược liệu đã được nghiên cứu ở nước ta trong thời gian gần đây đều được nghiên cứu độc tính trước khi đưa vào sử dụng trong điều trị và nâng cao sức khỏe cho người dân. Một số chế phẩm thuốc YHCT có tác dụng chống đông máu đã nghiên cứu trên thực nghiệm chứng minh có tính an toàn như: nghiên cứu của tác giả Trương Hữu Nhân và cộng sự (2012) cho thấy viên nang Bồ dương hoàn ngũ thang không gây độc tính cấp ở liều tối đa 25,99g/kg, không xác định được LD₅₀ do không có chuột chết [36]. Nghiên cứu của Ngô Quỳnh Hoa (2013) cho thấy Thông mạch sơ lạt hoàn liều tăng dần từ 76g/kg cân nặng đến 229g/kg cân nặng không thấy biểu hiện bất thường nào ở chuột, không có chuột nào chết trong vòng một tuần sau khi uống thuốc, không xác định được liều chết LD₅₀ của thuốc [45]. Trần Minh Hiếu và cộng sự (2017) nghiên cứu độc tính của viên nang Hoạt huyết an não cho kết quả không có biểu hiện độc tính của thuốc và không xác định được LD₅₀ [39]. Năm 2022, Đào Xuân Tinh cho kết quả các lô chuột uống viên hoàn Trân châu ngư hoàng hoàn liều từ 5,0 viên/kg đến

liều tối đa 12,5 viên/kg không có biểu hiện độc tính cấp, không có dấu hiệu bất thường và không xác định được LD₅₀ [46]. Như vậy, cốm Tharodas có tính an toàn và không gây độc tính cấp trên thực nghiệm.

4.2. Bàn luận về tác dụng chống đông máu của cốm Tharodas trên mô hình gây đông máu bằng lipopolysaccharid trên động vật thực nghiệm.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp tiêm lipopolysaccharid tĩnh mạch đuôi chuột để gây mô hình đông máu, là phương pháp có độ tin cậy cao, thường được dùng để gây ra đông máu rải rác trong lòng mạch [19]. Lipopolysaccharid là một nội độc tố nằm trong lớp màng ngoài của vách vi khuẩn Gram âm, thường được xem là yếu tố chính chịu trách nhiệm trong quá trình gây nên sốc nhiễm trùng. Trong các nghiên cứu trên thế giới, lipopolysaccharid thường được dùng để gây tình trạng tăng đông trên động vật thực nghiệm. Lipopolysaccharid gây đông máu thông qua con đường đông máu ngoại sinh và nội sinh, tiêu thụ nguyên liệu của cả hai con đường, dẫn đến kéo dài cả PT cũng như aPTT đồng thời tiêu thụ tiểu cầu và fibrinogen cho quá trình ngưng tập tiểu cầu và tạo cục máu đông. Hơn nữa lipopolysaccharid còn kích hoạt hệ thống tiêu sợi huyết làm tiêu hủy cả fibrinogen. Vì vậy, lipopolysaccharid sẽ gây giảm số lượng tiểu cầu và nồng độ fibrinogen, đồng thời kéo dài PT và aPTT trên chuột cống trắng [30], [47].

Rivaroxaban được chọn là thuốc chứng dương, do rivaroxaban ức chế trực tiếp và chọn lọc cao yếu tố đông máu Xa, qua đó làm gián đoạn các con đường nội sinh và ngoại sinh của quá trình đông máu, từ đó ức chế hình thành thrombin và sự phát triển của huyết khối. Đồng thời, rivaroxaban cũng có tác dụng chống đông ổn định hơn warfarin khi dùng đường uống [37].

Khởi động cho cơ chế đông máu là sự hình thành phức hợp prothrombinase theo hai cơ chế ngoại sinh và nội sinh. Cơ chế ngoại sinh xuất hiện nếu có chấn thương thành mạch hoặc các mô kế cận. Cơ chế nội sinh xuất hiện nếu có chấn thương máu hoặc máu lấy ra ngoài cơ thể từ lòng mạch. Trong

cả hai cơ chế nội sinh và ngoại sinh có một loạt protein huyết tương (đặc biệt là α_2 -globulin) đóng vai trò rất quan trọng. Đó là các yếu tố gây đông máu của huyết tương. Hầu hết các yếu tố này là các enzym ở dạng không hoạt động. Khi chuyển thành hoạt động, chúng gây ra các phản ứng hoá sinh liên tiếp nhau của quá trình đông máu.

Tiếp đó, khi phức hợp prothrombinase hình thành nó sẽ chuyển prothrombin thành thrombin. Thrombin sau khi được hình thành sẽ chuyển fibrinogen thành fibrin đơn phân. Các fibrin đơn phân tự trùng hợp thành fibrin ở dạng sợi. Một mạng lưới fibrin đã hình thành và được ổn định nhờ yếu tố XIII. Giai đoạn này cũng có sự tham gia của các ion Ca^{++} . Các tế bào máu được giữ lại trên lưới fibrin và tạo nên cục máu đông. Chính mạng lưới này dính vào vị trí tổn thương của thành mạch để ngăn cản sự chảy máu.

Cuối cùng, tiểu cầu có tác dụng gắn các sợi fibrin lại với nhau và ổn định vững chắc fibrin. Tiểu cầu bám trên lưới fibrin, khi co rút nó làm cho lưới fibrin co theo, đồng thời với sự giải phóng yếu tố 8 của tiểu cầu làm cho cục máu đông co càng mạnh hơn.

Vì vậy, có thể dùng xét nghiệm định lượng tiểu cầu, nồng độ fibrinogen, thời gian prothrombin (PTs), tỷ lệ prothrombin (PT%) và prothrombin-INR (PT-INR), thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa (aPTTs) là các xét nghiệm kinh điển để đánh giá hiệu quả chống đông máu của Côm Tharodas.

Côm Tharodas là chế phẩm có nguồn gốc từ bài thuốc “Bổ dương hoàn ngũ thang” trong “Y Lâm cải thác” của danh y Vương Thanh Nhậm. Trong đó có Đương quy thông kinh hoạt lạc, Xích thược, Xuyên khung lợi huyết hoạt huyết, Hồng hoa, Đào nhân hoạt huyết khứ ứ, Địa long hóa ứ thông lạc, đích thực là phương dược giúp hóa ứ thông lạc. Lại có “Khí là soái của huyết”, khí hành tất huyết hành, khí ngưng tất huyết ngưng nên ảnh hưởng của khí đối với huyết rất lớn. Nếu như khí hư tổn, vận hành của huyết có thể vì đó mà chậm

ngung. Nên trọng dụng Sinh Hoàng kỳ làm Quân dược, đại bổ vệ khí, khí hành tắc huyết hành, cơ thể có thể hồi phục.

4.2.1. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến số lượng tiểu cầu

Kết quả nghiên cứu qua bảng 3.2 cho thấy: số lượng tiểu cầu của chuột lô mô hình giảm rõ rệt so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Số lượng tiểu cầu ở lô uống uống rivaroxaban liều 10 mg/kg là $1093,25 \pm 277,45$ G/L, tăng rõ rệt so với lô mô hình có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$, kết quả không có sự khác biệt so với lô chứng sinh học ($p > 0,05$). Lô uống cốm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày có số lượng tiểu cầu là $975,13 \pm 189,25$ G/L, không có sự khác biệt so với lô mô hình với $p > 0,05$. Số lượng tiểu cầu của chuột lô uống cốm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày là $1122,25 \pm 140,06$ G/L, tăng so với lô mô hình ($800,75 \pm 185,90$ G/L), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. So sánh số lượng tiểu cầu của chuột lô uống cốm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày và lô chứng sinh học là không có sự khác biệt với $p > 0,05$. Như vậy, cốm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày không có tác dụng làm tăng số lượng tiểu cầu so với lô mô hình; cốm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày có tác dụng tăng số lượng tiểu cầu trên mô hình chuột nhất trắng gây đông máu bằng lipopolysaccharid.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với một số tác giả: Đào Xuân Tinh (2022) nghiên cứu tác dụng chống đông máu của Trân châu ngư hoàng hoàn trên thực nghiệm cho kết quả: Số lượng tiểu cầu của chuột ở lô uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày là $328,10 \pm 94,61$ G/L có xu hướng tăng so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Lô uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày có số lượng tiểu cầu là $407,40 \pm 89,83$ G/L tăng so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ [46]. Nghiên cứu của Đặng Công Thái và cộng sự (2022) đánh giá tác dụng chống đông của viên hoàn Huyết phủ trực ứ hoàn trên thực nghiệm cho thấy: số lượng tiểu cầu của chuột ở lô uống Huyết phủ

trực ú hoàn liều 0,72 viên/kg/ngày tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p < 0,05$) [41]. So sánh với nghiên cứu của Phạm Thị Vân Anh và cộng sự (2018) nghiên cứu tác dụng trên quá trình đông máu và tiêu Fibrin của viên nang TD.HK01 trên thực nghiệm cho kết quả: chuột ở lô uống TD.HK01 liều 1,6g/kg có số lượng tiểu cầu là $181,33 \pm 57,22$ G/L; lô uống TD.HK01 liều 4,8 g/kg là $215,33 \pm 76,64$ G/L không khác biệt so với lô mô hình ($p > 0,05$). TD.HK01 không có tác dụng chống đông trên mô hình gây đông máu bằng lipopolysaccharid trên chuột [40]. Như vậy, một số chế phẩm như Trân châu ngưng hoàn hoàn, Huyết phủ trực ú hoàn hay Côm Tharodas trong nghiên cứu của chúng tôi đều cho kết quả có tác dụng chống đông trên thực nghiệm thông qua tác dụng tăng số lượng tiểu cầu trên mô hình chuột nhất trắng gây đông máu bằng lipopolysaccharid.

Côm Tharodas có nguồn gốc từ bài thuốc cổ phương Bổ dương hoàn ngũ thang, có tác dụng bổ khí, hoạt huyết, khử ú, thông lạc. Trong thành phần côm Tharodas vị thuốc Hoàng kỳ, Đương quy được chứng minh ảnh hưởng đến số lượng tiểu cầu và đông máu trên thực nghiệm. Như nghiên cứu của tác giả Liu C và cộng sự (2010) cho thấy Hoàng kỳ và Đương quy có tác dụng làm tăng số lượng tiểu cầu ở chuột trên mô hình giảm tiểu cầu. Chuột được điều trị bằng Hoàng Kỳ và Đương quy cho kết quả số lượng tiểu cầu cao hơn nhóm chứng, có ý nghĩa thống kê tại thời điểm ngày 14 và 21 với $p < 0,05$ và $< 0,01$ [48].

4.2.2. Ảnh hưởng của côm Tharodas đến nồng độ fibrinogen

Bảng 3.3 cho kết quả: Nồng độ fibrinogen của chuột ở lô mô hình là $1,984 \pm 0,620$ g/L không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p > 0,05$). Nồng độ fibrinogen của lô uống rivaroxaban liều 10 mg/kg/ngày là $1,928 \pm 0,374$ g/L; lô uống côm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày là $1,901 \pm 0,590$ g/L; lô côm Tharodas liều 12,96g/ngày là $1,972 \pm 0,523$ g/L đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p > 0,05$. Một số nghiên cứu thực nghiệm trên thế giới cũng chỉ ra rằng, một số vị thuốc trong

thành phần cốm Tharodas có tác dụng chống đông máu thông qua tác động đến nồng độ fibrinogen như Xích thước và Địa long. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của chúng tôi, tác dụng này chưa thực sự rõ ràng.

Nghiên cứu của Phạm Thị Vân Anh và cộng sự (2018) cho thấy viên nang TD.HK01 cả hai liều 1,6g/kg và 4,8 g/kg có nồng độ fibrinogen không khác biệt so với lô mô hình với $p > 0,05$ [40]. Nghiên cứu của Đào Xuân Tinh (2022) cho thấy nồng độ fibrinogen của chuột ở lô uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày là $1,233 \pm 0,273$ g/L có xu hướng tăng so với lô mô hình ($1,196 \pm 0,294$ g/L), tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Nồng độ fibrinogen của chuột ở lô uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày là $1,476 \pm 0,280$ g/L tăng so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ [46]. Nghiên cứu của Đặng Công Thái và cộng sự (2022) cho thấy nồng độ fibrinogen của chuột ở lô uống Huyết phủ trực ứ hoàn liều 0,72 viên/kg/ngày tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p < 0,05$) [41].

4.2.3. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến thời gian prothrombin, tỷ lệ prothrombin và prothrombin-INR

Kết quả nghiên cứu qua bảng 3.4, 3.5 và 3.6 chỉ ra rằng: Thời gian prothrombin, tỷ lệ prothrombin và prothrombin-INR của chuột lô mô hình không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p > 0,05$). Ở lô rivaroxaban liều 10 mg/kg thời gian prothrombin là $13,67 \pm 1,57$ giây, PT% $68,78 \pm 24,15$ và INR là $1,18 \pm 0,14$. rivaroxaban liều 10 mg/kg làm kéo dài PT, tăng PT-INR và giảm PT% so với lô chứng sinh học và lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Ở lô uống cốm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày thời gian PT là $12,32 \pm 1,72$ giây, PT% là $89,51 \pm 26,39$, INR là $1,06 \pm 0,15$, khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p > 0,05$). Lô uống cốm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày có thời gian PT là $13,43 \pm 1,49$ giây, PT% $72,53 \pm 22,90$ và INR là $1,16 \pm 0,13$. Cốm Tharodas liều

12,96g/kg/ngày làm kéo dài PT, giảm PT% và tăng PT-INR so với lô chứng sinh học và lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Như vậy, cốm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày không có tác dụng chống đông máu; cốm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày có tác dụng kéo dài thời gian PT, giảm PT% và tăng PT-INR rõ rệt so với lô mô hình.

Kết quả nghiên cứu cho thấy cốm Tharodas có tác dụng chống đông máu thể hiện qua kết quả kéo dài PT, giảm tỷ lệ PT và tăng PT-INR có ý nghĩa ở liều 12,96g/kg/ngày. Lý giải cho kết quả này có thể do tác dụng chống đông máu của một số vị thuốc trong cốm Tharodas. Cốm Tharodas được phát triển từ bài thuốc Bổ dương hoàn ngũ thang, có tác dụng bổ khí, hoạt huyết, khử ứ, thông lạc theo YHCT. Trong bài thuốc các vị thuốc có tác dụng hoạt huyết như Xích thược lương huyết, hoạt huyết, tả can hỏa, giải độc tiêu ung chỉ thống; Đương quy bổ huyết, hành huyết; Xuyên khung hành khí, hoạt huyết, khu phong chỉ thống; Đào nhân hoạt huyết, trừ đàm, nhuận tràng, thông đại tiện; Hồng hoa hoạt huyết thông kinh, tán ứ huyết, giảm đau; Địa long thanh nhiệt tức phong, bình suyễn, thông lạc, lợi tiểu. Phối hợp với Sinh hoàng kỳ nhằm đạt được tác dụng bổ khí, hoạt huyết, khử ứ, thông lạc chỉ định trong các trường hợp huyết ứ có chính khí hư suy. Nghiên cứu trên thực nghiệm đã chỉ ra rằng Đương quy, Xuyên khung, Xích thược, Hồng hoa có tác dụng chống đông máu. Nghiên cứu của tác giả Song S. và cộng sự (2012) đã chỉ ra rằng Phthalid được chiết xuất từ Đương quy liều 1, 2, 4 g/kg/ngày kéo dài thời gian thrombin, PT và aPTT [19]. Kết quả nghiên cứu của Jun Li và cộng sự (2021) đã cho thấy Xuyên khung liều 463 $\mu\text{g/ml}$ có tác dụng chống đông trên mô hình gây đông máu bằng phenylhydrazin trên cá ngựa vằn (zebrafish). Thành phần senkyunolide I trong Xuyên khung có tác dụng ức chế yếu tố VII – là yếu tố hoạt hóa yếu tố X thành yếu tố X hoạt động theo con đường đông máu ngoại sinh; giảm yếu tố II [20]. Xie P. và cộng sự (2017) nghiên cứu chiết xuất của Xích thược với bốn hợp chất hoạt động là paeoniflorin (Pae), pentagalloylglucose (Pen), albiflorin (Ali)

và axit protocatechuic (Pro) có tác dụng ức chế sự hình thành huyết khối và tác dụng chống huyết khối; kéo dài thời gian aPTT, PT, TT và giảm đáng kể lượng Fibrinogen trên in vitro [18]. Gần đây, có nhiều nghiên cứu đã chứng minh tác dụng của Hồng hoa trên đông máu. Theo Yao D. và cộng sự (2016) cao chiết Hồng hoa nồng độ 0,5 g/ml và 0,125 g/ml có tác dụng chống ngưng tập tiểu cầu với chất gây ngưng tập là ADP. Hơn nữa, Hồng hoa nồng độ 0,7 mg/mL và 0,5 mg/L kéo dài rõ rệt PT, aPTT và thời gian thrombin trên in vitro [21].

Một số nghiên cứu tại Việt Nam cũng cho thấy tác dụng chống đông máu trên thực nghiệm của chế phẩm có nguồn gốc YHCT. Nghiên cứu của tác giả Đào Xuân Tinh (2022) cho thấy lô sử dụng Trân châu ngư hoàng hoàn 0,12 viên/kg/ngày có thời gian PT là $9,96 \pm 1,11$ giây, PT% là $145,83 \pm 38,33$, PT-INR là $0,86 \pm 0,10$ không khác biệt so với nhóm chứng sinh học. Lô sử dụng Trân châu ngư hoàng hoàn 0,36 viên/kg/ngày có thời gian PT là $11,30 \pm 1,59$ giây, PT% là $113,75 \pm 36,94$, PT-INR là $0,97 \pm 0,14$. Trân châu ngư hoàng hoàn 0,36 viên/kg/ngày làm kéo dài thời gian PT, giảm PT% và tăng PT-INR rõ rệt so với lô mô hình, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ [46]. Theo Y học cổ truyền, một số vị thuốc trong bài thuốc như Hồng hoa, Ngư tât, Đan sâm, Đông trùng hạ thảo có tác dụng trực ứ huyết, sinh huyết mới [25], [26]. Nghiên cứu thực nghiệm cũng chỉ ra rằng Hồng hoa [21], [22], Đông trùng hạ thảo [49], Ngư tât [50] có tác dụng chống đông máu trên mô hình thực nghiệm.

Đặng Công Thái và cộng sự (2022) cho thấy lô uống Huyết phủ trực ứ hoàn 0,72 viên/kg/ngày có thời gian PT là $20,77 \pm 3,12$ giây, PT% là $40,77 \pm 7,08$, PT-INR là $1,79 \pm 0,27$. Huyết phủ trực ứ hoàn liều 0,72 viên/kg/ngày kéo dài PT, tăng PT-INR và giảm PT% so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) [41]. Thành phần của Huyết phủ trực ứ hoàn có Đương quy [19], Xuyên khung, [20] Hồng hoa [21], [22], Ngư tât [50] được chứng minh có tác dụng chống đông máu trên thực nghiệm.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi khác biệt với tác giả Phạm Thị Vân Anh và cộng sự (2018): viên nang TD.HK01 không có tác dụng chống đông máu trên nghiên cứu thực nghiệm. Lô uống liều TD.HK01 1,6g/kg có thời gian PTs là $9,05 \pm 1,47$, lô TD.HK01 liều 4,8 g/kg là $12,57 \pm 2,24$ không khác biệt so với lô mô hình với $p > 0,05$ [40].

4.2.4. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa (aPTT) và aPTT_{bệnh-chứng}

Bảng 3.7 và 3.8 cho thấy aPTTs và aPTT_{bệnh-chứng} của chuột lô mô hình tăng cao hơn so với lô chứng sinh học, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Lô Rivaroxaban liều 10 mg/kg có kết quả aPTT là $55,68 \pm 15,94$ giây và aPTT_{bệnh-chứng} là $2,06 \pm 0,59$, thấp hơn so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về aPTT và aPTT_{bệnh-chứng} giữa lô uống rivaroxaban liều 10 mg/kg và lô chứng sinh học ($p > 0,05$). aPTT và aPTT_{bệnh-chứng} của chuột lô uống cốm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày lần lượt là $64,00 \pm 22,18$ giây và $2,37 \pm 0,82$. Lô uống cốm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày có aPTT là $73,28 \pm 24,19$ giây, aPTT_{bệnh-chứng} là $2,71 \pm 0,90$. Kết quả aPTT và aPTT_{bệnh-chứng} ở cả hai lô uống cốm Tharodas có xu hướng thấp hơn lô mô hình, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Nghiên cứu của Phạm Thị Vân Anh và cộng sự (2018) cho kết quả lô uống viên nang TD.HK01 liều 1,6g/kg có thời gian aPTTs là $22,03 \pm 4,72$ giây; lô uống TD.HK01 liều 4,8 g/kg là $33,68 \pm 11,15$ giây, không khác biệt so với lô mô hình ($26,33 \pm 5,63$ giây) với $p > 0,05$. Kết quả viên nang TD.HK01 không có tác dụng chống đông máu trên nghiên cứu thực nghiệm [40]. Nghiên cứu của tác giả Đào Xuân Tĩnh (2022) cho thấy lô uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày có thời gian aPTTs kéo dài và aPTT_{bệnh-chứng} tăng so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Lô uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày có aPTTs là $30,36 \pm 4,78$, aPTT_{bệnh-chứng} là $1,13 \pm 0,18$ tăng cao hơn so với lô mô hình, có ý nghĩa

thống kê với $p < 0,05$ [46]. Nghiên cứu của Đặng Công Thái và cộng sự (2022) cho kết quả Huyết phủ trực ú hoàn liều 0,72 viên/kg/ngày kéo dài aPTT và tăng aPTT_{bệnh-chứng} có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p < 0,05$). Cụ thể, lô chứng sinh học có thời gian aPTTs là $25,63 \pm 3,61$, aPTT_{bệnh-chứng} là $0,95 \pm 0,14$; lô uống Huyết phủ trực ú hoàn liều 0,72 viên/kg/ngày có aPTTs là $34,88 \pm 5,02$ và aPTT_{bệnh-chứng} là $1,29 \pm 0,19$ [41].

Các nghiên cứu trên thế giới đã chứng minh một số vị thuốc trong cốm Tharodas có tác dụng kéo dài thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa. Chiết xuất của Xích thược và bốn hợp chất hoạt động là paeoniflorin (Pae), pentagalloylglucose (Pen), albiflorin (Ali) và axit protocatechuic (Pro) có tác dụng kéo dài thời gian aPTT trên in vitro [18]. Đương quy liều 1, 2, 4 g/kg/ngày ảnh hưởng đến hệ thống đông máu, kéo dài thời gian thrombin, PT và aPTT [19]. Một nghiên cứu được thực hiện vào năm 2018 của Kai-Hong Wang cũng đã chỉ ra rằng Hồng hoa dùng đường tiêm kéo dài aPTT. Tác giả cho rằng Hồng hoa có thể tác dụng lên con đường đông máu nội sinh [22]. Lý giải theo tác dụng YHCT, cốm Tharodas có nguồn gốc từ bài Bổ dương hoàn ngũ thang, thành phần bao gồm các vị thuốc bổ khí và thuốc hoạt huyết khứ ú. Hoàng kỳ dùng sống lượng nhiều có tác dụng đại bổ nguyên khí là chủ dược. Đương quy, Xuyên khung, Xích thược có tác dụng hoạt huyết hòa vinh. Đào nhân, Hồng hoa, Địa long có tác dụng hóa ú thông lạc, khí huyết được lưu thông, phần cơ thể bị bệnh được hồi phục [6]. Phối hợp các vị thuốc trong cốm Tharodas có tác dụng bổ khí, hoạt huyết, khứ ú, thông lạc điều trị chứng huyết ú.

4.2.5. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến mức độ hủy hoại tế bào gan chuột nhắt trắng gây đông máu bằng lipopolysaccharid

Trong cơ thể gan là cơ quan đảm nhận nhiều chức năng rất quan trọng. Khi đưa thuốc vào cơ thể có thể gây độc với gan, làm ảnh hưởng đến chức năng gan. Vì vậy, khi đánh giá độc tính của thuốc thì nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc đối với chức năng gan là rất cần thiết [38], [39]. Để đánh giá mức độ tổn

thương tế bào gan, người ta thường định lượng hoạt độ các enzym có nguồn gốc tại gan có trong huyết thanh. Sự tăng nồng độ các enzym này thường gắn liền với độc tính của thuốc do sự hủy hoại tế bào gan.

ALT là enzym có nhiều nhất ở gan, khi tổn thương hủy hoại tế bào gan, thậm chí chỉ cần thay đổi tính thấm của màng tế bào gan, nồng độ ALT đã tăng cao. Mức độ tổn thương tế bào gan tỷ lệ thuận với nồng độ ALT có trong máu do sự phá hủy tế bào bởi độc tính của thuốc. Enzym ALT tập trung chủ yếu ở tế bào gan, khu trú trong bào tương của tế bào nhu mô gan. Nồng độ ALT trong máu càng cao tỷ lệ với tế bào gan bị hủy hoại càng nhiều. Khác với ALT, nồng độ AST tăng trong máu không đặc hiệu trong đánh giá bệnh lý của gan hay gan bị nhiễm độc, bởi enzym AST có nhiều ở trong tế bào tim, cơ vân, não, phổi, tế bào hồng cầu, bạch cầu hơn là ở trong tế bào gan. Đa số AST khu trú trong ty lạp thể, chỉ 1/3 AST khu trú ở bào tương của tế bào. Khi tổn thương tế bào gan ở mức độ dưới tế bào, AST trong ty thể được giải phóng ra ngoài. Vì vậy, trong viêm gan nói chung nồng độ ALT luôn tăng cao hơn AST [38], [39].

Kết quả nghiên cứu qua bảng 3.8 cho thấy hoạt độ AST trong máu chuột nhất trắng ở lô uống rivaroxaban liều 10 mg/kg/ngày là $154,25 \pm 33,60$ UI/L. Cóm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày có hoạt độ AST là $152,50 \pm 33,11$ và cúm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày là $176,25 \pm 35,92$ UI/L đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và lô mô hình ($p > 0,05$).

Bảng 3.9 cho kết quả hoạt độ ALT trong máu chuột trong lô mô hình là $65,88 \pm 9,20$ UI/L tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p < 0,05$). Hoạt độ ALT trong máu ở lô uống rivaroxaban liều 10 mg/kg là $56,00 \pm 14,10$ không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và lô mô hình ($p > 0,05$). Hoạt độ ALT trong máu chuột lô uống cúm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày là $70,38 \pm 15,09$ UI/L tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$; kết quả không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p > 0,05$. Hoạt độ ALT trong máu chuột

lô uống cám Tharodas liều 12,96g/kg/ngày là $71,13 \pm 14,51$ UI/L, tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p < 0,01$), không có sự khác biệt so với lô mô hình với $p > 0,05$. Như vậy, kết quả nghiên cứu cho thấy, hoạt độ ALT ở lô uống cám Tharodas liều 4,32 g/kg/ngày và liều 12,96g/kg/ngày có xu hướng tăng, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp tiêm lipopolysaccharid tĩnh mạch đuôi chuột để gây mô hình đông máu. lipopolysaccharide là một nội độc tố nằm trong lớp màng ngoài của vách vi khuẩn Gram âm, thường được xem là yếu tố chính chịu trách nhiệm trong quá trình gây nên sốc nhiễm khuẩn. Những nghiên cứu trước đây đã chứng minh rằng, sự phát triển của suy đa tạng trong đông máu rải rác trong lòng mạch (DIC) phụ thuộc vào sự ổn định của đông máu cũng như con đường tiêu sợi huyết. Bên cạnh sự ổn định cục máu đông fibrin, các chất trung gian gây viêm có vai trò quan trọng trong việc kích hoạt hệ thống đông máu trong nhiễm khuẩn huyết dẫn đến DIC [30]. $TNF\alpha$, $IFN\gamma$, $IL-1\beta$ là những chất trung gian gây viêm chính, gây tổn thương tế bào nội mô, tăng tính thấm thành mạch, giãn mạch, rối loạn quá trình đông máu, xu hướng tăng đông, nặng là đông máu rải rác trong lòng mạch, vi huyết khối, suy đa tạng. Gan đóng vai trò quan trọng chống đỡ của vật chủ, rối loạn chức năng gan góp phần khởi động quá trình tiến triển của nhiễm khuẩn. Tổ chức lưới nội mô đóng vai trò làm sạch vi khuẩn và các sản phẩm của vi khuẩn đi từ hệ tiêu hóa vào tĩnh mạch cửa. Rối loạn chức năng gan làm giảm việc loại bỏ những nội độc tố của vi khuẩn, ngăn ngừa phản ứng cytokin thích hợp tại chỗ và cho phép những sản phẩm viêm vào trực tiếp hệ tuần hoàn. Nghiên cứu tác giả Đào Xuân Tinh (2022) cho thấy hoạt độ AST và ALT trong máu chuột ở lô uống Trâu trâu ngư hoàng hoàn không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử với $p > 0,05$ [46].

4.2.6. Ảnh hưởng của cốm Tharodas đến chức năng thận của chuột nhắt trắng gây đông máu bằng lipopolysaccharid

Thận là cơ quan bài tiết của cơ thể, có chức năng bài tiết độc chất qua nước tiểu và tái hấp thu các chất cần thiết trở lại máu. Nhu mô thận rất dễ bị tổn thương bởi các chất nội sinh và ngoại sinh [38], [39]. Bình thường lượng huyết tương qua thận rất lớn, khoảng 120 - 130ml/phút, chính vì lẽ đó các chất chuyển hóa nội sinh từ trong cơ thể hay ngoại sinh từ ngoài đưa vào rất dễ gây tổn thương nhu mô thận, cụ thể là cầu thận, ống thận biểu hiện bằng thay đổi nồng độ các chất trong máu, trong nước tiểu. Vì vậy, khi đưa thuốc vào cơ thể thuốc có thể gây độc, làm tổn thương thận, từ đó ảnh hưởng đến chức năng thận.

Có nhiều xét nghiệm đánh giá chức năng thận trong đó định lượng nồng độ ure và creatinin là xét nghiệm thường được sử dụng. Ure là sản phẩm thoái giáng quan trọng của protein, được tổng hợp ở gan theo chu trình Krebs – Henseleit và được đào thải chủ yếu qua thận. Nồng độ ure có thể tăng do tăng cung cấp, chế độ ăn giàu đạm, tăng chuyển hoá đạm trong cơ thể hoặc do giảm đào thải: trước thận (tiểu ít, mất nước, đại tiện phân lỏng, nôn nhiều), tại thận (bệnh cầu thận, ống thận cấp và mạn tính), sau thận (tắc nghẽn đường dẫn nước tiểu). Ure giảm do chế độ ăn nghèo đạm hoặc suy gan làm giảm tổng hợp ure. Creatinin nội sinh trong huyết thanh là sản phẩm giáng hoá của protein qua quá trình hoạt động khối cơ của cơ thể. Creatinin không được sử dụng, vào máu rồi được thận đào thải ra ngoài theo đường nước tiểu. Creatinin được lọc qua thận, không bị tái hấp thu và được bài tiết thêm rất ít ở ống thận. Creatinin tăng trong tổn thương cơ, các bệnh về thận như viêm thận cấp và mạn tính, nhiễm độc và suy thận. Creatinin giảm do giảm tổng hợp creatin, nguyên liệu tạo nên creatin – phosphat.

Đánh giá chức năng thận sau khi dùng thuốc thường dùng xét nghiệm định lượng creatinin máu. Creatinin là thành phần đạm trong máu ổn định nhất, hầu như không phụ thuộc vào chế độ ăn hoặc những thay đổi sinh lý mà chỉ phụ

thuộc vào khả năng đào thải của thận [41]. Khi cầu thận bị tổn thương, nồng độ creatinin máu tăng sớm hơn ure. Creatinin máu là chỉ tiêu tin cậy và quan trọng hơn ure máu, nên hiện nay dùng để đánh giá và theo dõi chức năng thận.

Bảng 3.11 và 3.12 cho thấy nồng độ ure và creatinin trong máu chuột nhắt trắng ở lô uống rivaroxaban liều 10 mg/kg/ngày và cốm Tharodas cả hai mức liều đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và lô mô hình ($p > 0,05$). Như vậy, chức năng lọc của cầu thận của chuột không bị ảnh hưởng khi uống cốm Tharodas cả hai mức liều 4,32 g/kg/ngày và 12,96g/kg/ngày.

Nghiên cứu của tác giả Đào Xuân Tinh (2022) cho thấy nồng độ creatinin trong máu chuột ở lô uống Trân trâu ngư hoàng hoàn không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử với $p > 0,05$ [46]. Như vậy, giống như một số chế phẩm có nguồn gốc YHCT có tác dụng chống đông máu khác, cốm Tharodas không làm thay đổi chức năng lọc của cầu thận trên mô hình gây đông máu thực nghiệm.

KẾT LUẬN

1. Cốm Tharodas không gây độc tính cấp trên thực nghiệm

- Chưa xác định được LD_{50} trên chuột nhắt trắng của cốm Tharodas theo đường uống.

- Cốm Tharodas không gây độc tính cấp ở liều 200g/kg trên chuột nhắt trắng (gấp 46,29 lần liều dùng dự kiến trên người) theo đường uống.

2. Cốm Tharodas có tác dụng chống đông máu trên mô hình gây đông máu bằng lipopolysaccharid trên động vật thực nghiệm

- *Số lượng tiểu cầu*: cốm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày tăng số lượng tiểu cầu so với lô mô hình ($p < 0,01$). Cốm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày có số lượng tiểu cầu không khác biệt so với lô mô hình ($p > 0,05$).

- *Nồng độ fibrinogen*: cốm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày và 12,96g/kg/ngày có nồng độ fibrinogen không khác biệt so với lô mô hình ($p > 0,05$).

- *Thời gian prothrombin*: cốm Tharodas liều 12,96g/kg/ngày làm kéo dài PT, tăng PT-INR và giảm tỷ lệ prothrombin so với lô chứng sinh học và lô mô hình ($p < 0,05$). Cốm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày có thời gian prothrombin không khác biệt so với lô mô hình ($p > 0,05$).

- *Thời gian Thromboplastin*: cốm Tharodas liều 4,32g/kg/ngày và 12,96g/kg/ngày có aPTT và aPTT_{bệnh-chứng} không khác biệt lô mô hình ($p > 0,05$).

- *Ảnh hưởng đến chức năng thận*: cốm Tharodas liều 4,32 g/kg/ngày và 12,96g/kg/ngày có nồng độ ure, creatinin máu không khác biệt so với lô chứng sinh học và lô mô hình ($p > 0,05$).

- *Ảnh hưởng chức năng gan*: cốm Tharodas liều 4,32 và 12,96g/kg/ngày có hoạt độ AST không khác biệt so với lô chứng sinh học và lô mô hình ($p > 0,05$), hoạt độ ALT không khác biệt so với lô mô hình ($p > 0,05$).

KIẾN NGHỊ

Sản phẩm cốm Tharodas có tác dụng chống đông máu mô hình gây đông máu bằng lipopolysaccharid trên động vật thực nghiệm, nên chúng tôi xin đề xuất những kiến nghị sau:

1. Thực hiện các nghiên cứu tác dụng chống đông máu, nghiên cứu lâm sàng hỗ trợ phòng và điều trị chứng trũng phong kinh lạc (bán thân bất toại) thể khí hư huyết ứ.
2. Tiếp tục nghiên cứu thực nghiệm về cơ chế chống đông máu của sản phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trường Đại học Y Hà Nội - Bộ môn Huyết học truyền máu (2017). *Huyết học bài giảng sau đại học*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 77-86.
2. Phạm Minh Đức (2021). *Sinh lý học*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 123-134.
3. Trần Văn Ngọc và Nguyễn Thị Lê (2018). *Sinh lý học y khoa*, Nhà xuất bản Y học, Hồ Chí Minh, 31-41.
4. Campello E., Spiezia L., Adamo A. và cộng sự. (2019). Thrombophilia, risk factors and prevention. *Expert Rev Hematol*, **12**(3), 147–158.
5. Đào Văn Phan (2020). *Dược lý học lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 499-520.
6. Bộ Y Tế (2020). *Thực hành chẩn đoán và điều trị bệnh động mạch vành*, Hà Nội, 3.
7. Cục Quản lý khám chữa bệnh - Bộ Y tế. (2021). Tử vong do đột quy ở người trẻ tuổi ngày càng gia tăng.
<http://dotquy.kcb.vn/hieu-dung-ve-dot-quy/tu-vong-do-dot-quy-o-nguoi-tre-tuoi-ngay-cang-gia-tang>.
8. Nguyễn Văn Thông (2008). *Đột quy não: cấp cứu điều trị dự phòng*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 7-10.
9. Lương Văn Nghĩa (2004). *Y lâm cải thác*, Nhà xuất bản tổng hợp, Thành phố Hồ Chí Minh, 96-97.
10. Đỗ Trung Phần (2014). *Bài giảng huyết học truyền máu sau đại học*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 235-270.
11. Levi M., Toh C., Thachil J. và cộng sự. (2009). Guidelines for the diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation. *Br J Haematol*, **145**(1), 24–33.
12. Bộ Y Tế (2022), *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị một số bệnh lý huyết học*, Quyết định số 1832/QĐ-BYT, 80-88.

13. Khoa Y học cổ truyền, Trường Đại học Y Hà Nội (2016). *Bệnh học nội khoa y học cổ truyền (Sách đào tạo sau đại học)*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 21-22.
14. Nguyễn Nhược Kim (2015). *Lý luận y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam, 96-97.
15. Viện Nghiên cứu Trung Y (Nguyễn Thiên Quyển biên dịch) (2010). *Chẩn đoán phân biệt chứng hậu Đông y*, Nhà xuất bản Văn hoá Dân tộc, 67-81.
16. Bộ Y Tế (2009). *Phương tế học*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 140-141.
17. Hoàng Duy Tân, Hoàng Anh Tuấn (2009). *Phương tế học*, Nhà xuất bản Thuận Hóa – Thừa Thiên Huế, 382-383.
18. Xie P., Cui L., Shan Y. và cộng sự. (2017). Antithrombotic effect and mechanism of radix paeoniae rubra. *BioMed Res Int*, **2017**.
19. Song S.-H., Xu X., Yu B. và cộng sự. (2012). Effects of Angelica sinensis total phthalide on promoting blood circulation and removing blood stasis. *Chin Tradit Herb Drugs*, **43**, 952–956.
20. Li J., Liu H., Yang Z. và cộng sự. (2021). Synergistic effects of cryptotanshinone and senkyunolide I in guanxinning tablet against endogenous thrombus formation in zebrafish. *Front Pharmacol*, **11**, 622787.
21. Yao D., Wang Z., Miao L. và cộng sự. (2016). Effects of extracts and isolated compounds from safflower on some index of promoting blood circulation and regulating menstruation. *J Ethnopharmacol*, **191**, 264–272.
22. Wang K.-H., Li S.-F., Zhao Y. và cộng sự. (2018). In vitro anticoagulant activity and active components of safflower injection. *Molecules*, **23**(1), 170.

23. Hahn B.S., Jo Y.Y., Yang K.Y. và cộng sự. (1997). Evaluation of the in vivo antithrombotic, anticoagulant and fibrinolytic activities of *Lumbricus rubellus* earthworm powder. *Arch Pharm Res*, **20**, 17–23.
24. Liu Q. (2019). Research progress on proteins and peptides from earthworm. *Chin Tradit Herb Drugs*, 252–261.
25. Bộ Y tế (2017). *Dược điển Việt Nam V*, Nhà xuất bản Y học, 1157-1160, 1166-1169, 1173-1175, 1188-1190, 1377,1378-1380.
26. Nguyễn Nhược Kim, Hoàng Minh Chung (2009). *Dược học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 101-102, 105-106, 200, 232-233, 237-238.
27. Cục Khoa học Công nghệ và Đào tạo (2015). Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu (ban hành kèm theo Quyết định số 141/QĐ-K2ĐT ngày 27/10/2015).
28. Đỗ Trung Đàm (2017). *Phương pháp dược lý nghiên cứu tác dụng giảm đau. Thuốc giảm đau chống viêm và các phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 357 - 425.
29. World Health Organization (2000). Working group on the safety and efficacy of herbal medicine. *Rep Reg Off West Pac World Health Organ*.
30. Wang B., Wu S.-M., Wang T. và cộng sự. (2012). Pre-treatment with bone marrow-derived mesenchymal stem cells inhibits systemic intravascular coagulation and attenuates organ dysfunction in lipopolysaccharide-induced disseminated intravascular coagulation rat model. *Chin Med J (Engl)*, **125(10)**, 1753–1759.
31. Wu L., Lin X., và Sun H. (2012). Tanshinone IIA protects rabbits against LPS-induced disseminated intravascular coagulation (DIC). *Acta Pharmacol Sin*, **33(10)**, 1254–1259.
32. Yu P., Zhou Q., Zhu W. và cộng sự. (2013). Effects of quercetin on LPS-induced disseminated intravascular coagulation (DIC) in rabbits. *Thromb Res*, **131(6)**, e270–e273.

33. Margaretten W., Zunker H.O., và McKay D.G. (1964). Production of the generalized Shwartzman reaction in pregnant rats by intravenous infusion of thrombin. *Obstet Gynecol Surv*, **19(6)**, 952–954.
34. Hagimori M., Kamiya S., Yamaguchi Y. và cộng sự. (2009). Improving frequency of thrombosis by altering blood flow in the carrageenan-induced rat tail thrombosis model. *Pharmacol Res*, **60(4)**, 320–323.
35. Li W., Nieman M., và Gupta A.S. (2016). Ferric chloride-induced murine thrombosis models. *JoVE J Vis Exp*, (**115**), e54479.
36. Yang S.-H., Yu C.-L., Chen H.-Y. và cộng sự. (2013). A commonly used Chinese herbal formula, Shu-Jing-Hwo-Shiee-Tang, potentiates anticoagulant activity of warfarin in a rabbit model. *Molecules*, **18(10)**, 11712–11723.
37. Dang X., Miao J., Chen A. và cộng sự. (2015). The antithrombotic effect of RSNK in blood-stasis model rats. *J Ethnopharmacol*, **173**, 266–272.
38. Yan Z., Xiao C., Xiao-Bin P. và cộng sự. (2015). Antithrombotic effects of the effective components group of Xiaoshuantongluo formula in vivo and in vitro. *Chin J Nat Med*, **13(2)**, 99–107.
39. Trần Minh Hiếu (2017), *Nghiên cứu độc tính và tác dụng phục hồi chức năng vận động nhồi máu não trên lều sau giai đoạn cấp bằng viên nang Hoạt huyết an não*, Luận án Tiến sĩ Y học, Trường Đại Học Y Hà Nội.
40. Phạm Thị Vân Anh, Nguyễn Thị Thanh Loan, và Mai Phương Thanh. (2018). Tác dụng trên quá trình đông máu và tiêu fibrin của viên nang TD-HK01 trên thực nghiệm. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, **115(6)**, 80–89.
41. Đặng Công Thái, Trịnh Hoài Nam, và và cộng sự (2023). Tác dụng chống đông của viên hoàn Huyết phủ trực ứ hoàn trên thực nghiệm. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, **160(12V2)**, 275–281.

42. Trần Thái Hà, Đào Xuân Tinh và cộng sự (2022). Tác dụng chống đông của viên hoàn Trân châu ngư hoàng hoàn trên thực nghiệm. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, **151(3)**, 247–254.
43. Đỗ Trung Đàm (2014). *Phương pháp xác định độc tính của thuốc*, Nhà xuất bản Y học.
44. Gerhard Vogel H. (2016), *Drug discovery and evaluation Pharmacological assays*, Springer.
45. Ngô Quỳnh Hoa (2013). *Nghiên cứu tính an toàn và tác dụng của thuốc “Thông mạch sơ lạc hoàn” trong điều trị nhồi máu não sau giai đoạn cấp*. Luận án Tiến sĩ Y học, Trường Đại Học Y Hà Nội.
46. Đào Xuân Tinh (2022). *Đánh giá độc tính cấp, bán trường diễn và tác dụng chống đông máu của Trân Châu Ngư Hoàng Hoàn trên động vật thực nghiệm*, Luận văn Thạc sĩ Y học, Học viện Y dược học Cổ truyền Việt Nam, Hà Nội.
47. Semeraro N., Ammollo C.T., Semeraro F. và cộng sự. (2010). Sepsis-associated disseminated intravascular coagulation and thromboembolic disease. *Mediterr J Hematol Infect Dis*, **2(3)**.
48. Liu C., Li J., Meng F.Y. và cộng sự. (2010). Polysaccharides from the root of *Angelica sinensis* promotes hematopoiesis and thrombopoiesis through the PI3K/AKT pathway. *BMC Complement Altern Med*, **10(1)**, 1–12.
49. Choi E., Oh J., và Sung G.-H. (2020). Antithrombotic and antiplatelet effects of *Cordyceps militaris*. *Mycobiology*, **48(3)**, 228–232.
50. Luo J., Yan D., Zhang D. và cộng sự. (2011). Substitutes for endangered medicinal animal horns and shells exposed by antithrombotic and anticoagulation effects. *J Ethnopharmacol*, **136(1)**, 210–216.

PHỤ LỤC 1
HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG THUỐC

PHỤ LỤC 2
PHIẾU KIỂM NGHIỆM



CÔNG TY CPDP THÀNH PHÁT
KCN Phú Nghĩa-Chương Mỹ-
Hà Nội

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

BM-QC-01-03.6
Ngày BH: 9/9/19

PHIẾU KIỂM NGHIỆM

Số PKN: TP – 153/22

Mẫu kiểm nghiệm: **Thuốc cốm THARODAS**
Lô SX: **010822** Ngày SX: **020822** Hạn dùng: **020825**
Số đăng ký: **TCT-00063-22**
Nơi sản xuất: **Công ty Cổ phần dược phẩm Thành Phát**
Ngày lấy mẫu: **25/08/2022**
Yêu cầu kiểm nghiệm: **Kiểm tra chất lượng**
Tiêu chuẩn thử: **TCCS số 04B-02-19**

Tình trạng mẫu: **Thuốc cốm Tharodas (3g/gói) được đóng 30 gói/túi nhôm, đựng trong hộp giấy, nhãn ghi rõ ràng.**

Chỉ tiêu	Yêu cầu	Kết quả
1. Tính chất	Chế phẩm là dạng cốm, khô toí, màu vàng nâu, vị ngọt, có mùi thơm của dược liệu.	Đúng
2. Độ đồng đều khối lượng	Khối lượng trung bình gói $\pm 7,5\%$	Đạt
3. Độ ẩm	Không quá 5,0%	Đạt (2,4%)
4. Kích thước hạt	Rây qua rây số 2000 (cỡ mắt rây 2,000mm) Toàn bộ cốm phải qua rây số 2000.	Đạt
5. Định tính	Chế phẩm phải thể hiện phép thử định tính của Hoàng kỳ, Đương quy, Xích thược, Xuyên khung, Địa long, Đào nhân, Hồng hoa.	Đúng
6. Chất chiết được trong cốm	Hàm lượng chất chiết được trong ethanol 90% không được ít hơn 450,0mg trong 1 gói chế phẩm	Đạt (825,6 mg)
7. Độc tính bất thường	Đạt theo yêu cầu của ĐĐVN V – Thử trên chuột nhắt trắng với liều 0,36 gam bột chế phẩm/chuột không có độc tính bất thường. Phụ lục 13.5 – Thử độc tính bất thường.	Đạt
8. 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 <i>Salmonella</i> trong 10g; - Không được có <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> trong 1g.	Đạt

KẾT LUẬN: Mẫu thử Thuốc cốm THARODAS, số lô: 010822, đạt yêu cầu chất lượng theo TCCS.

Hà Nội, ngày 30 tháng 08 năm 2022

T/L GIÁM ĐỐC CÔNG TY



ĐS. Hoàng Thị Lưu

PHỤ LỤC 3
QUY TRÌNH SẢN XUẤT CỐM THARODAS

PHỤ LỤC 4
TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

PHỤ LỤC 5
GIẤY PHÉP LƯU HÀNH

PHỤ LỤC 6 HÌNH ẢNH NGHIÊN CỨU



PHỤ LỤC 7

THÀNH PHẦN CÁC VỊ THUỐC TRONG CÔM THARODAS

Hoàng kỳ [25], [26]

Tên khoa học: Radix Astragali membranacei

Bộ phận dùng: Rễ phơi hay sấy khô của cây

Hoàng Kỳ Mông cổ [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bgc.) Hsiao, hoặc cây Hoàng Kỳ Mạc Giáp (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge.)], họ Đậu (Fabaceae).



Hoạt chất: Trong Hoàng kỳ có polysaccarid: astragalan, saccarose, glucose, tinh bột, chất nhầy, gôm. Saponin: người ta đã tách ra được các astragalosid như: astragalosid, isoastragalosid, soyasaponin... Flavonoid: 2',4' – Dihydroxy-5,6- Dimethoxyisoflavane... Các acid amin: Cholin, Betain, acid Folic... Sistosterol.

Tính vị, quy kinh: vị ngọt, tính ấm, quy kinh Tỳ, Phế.

Tác dụng: bổ khí, thăng dương của tỳ, lợi niệu, tiêu viêm.

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.

Hoàng kỳ chích mật: kiện tỳ ích khí.

Hoàng kỳ phiến: cố biểu, lợi tiểu, trừ mủ sinh cơ.

Cách dùng, liều lượng: ngày dùng từ 9g - 30g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán.

Xích Thược [25], [26]

Tên khoa học: Radix Paeoniae



Bộ phận dùng: Rễ đã phơi khô của cây Thuộc dược (*Paeonia lactiflora* Pall.) hoặc cây Xuyên xích thuộc (*Paeonia veitchii* Lynch), họ Hoàng Liên (Paeoniaceae).

Hoạt chất: Theo Đỗ Tất Lợi, xích thuộc bao gồm thành phần tinh bột, tannin, nhựa, chất nhầy, chất đường, sắc tố và acid benzoic. Trong đó tỉ lệ acid benzoic thấp hơn ở bạch thuộc.

Rễ xích thuộc chứa thành phần chủ yếu là paeoniflorin, với tỷ lệ không dưới 2% (theo Dược điển Trung Quốc 1997).

Hợp chất paeoniflorin, ethyl palmitate, ethyl linoleate (Lu và cộng sự, 2012).

Tính vị, quy kinh: vị chua, đắng, tính hơi hàn; quy kinh Can, Tỳ.

Công năng, chủ trị: lương huyết, tán ú, giảm đau. Chủ trị: ôn độc phát ban, ỉa máu, chảy máu cam, mắt đỏ sưng đau, can uất, sườn đau, kinh bế, hành kinh đau bụng, hòn cục trong bụng, sưng đau do sang chấn, nhọt độc sưng đau.

Cách dùng, liều dùng: ngày dùng từ 6g - 12g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ: không phối hợp với Lê Lô.

Đương Quy [25], [26]

Tên khoa học: *Radix Angelicae sinensis*

Bộ phận dùng: Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Đương quy [*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels.], họ Hoa tán (Apiaceae).

Hoạt chất: Tinh dầu, coumarin, acid hữu cơ, polysaccharid, vitamin, polyacetylen, sterol, nguyên tố vi lượng.

Tác dụng dược lý: Tác dụng kiểu estrogen và progesteron yếu. Gây tăng trương lực và biên độ co bóp tử cung. Ức chế sự ngưng kết tập tiểu cầu. Tăng lực. Tăng đề kháng. Chống viêm. Ức chế co thắt cơ trơn ruột. Tăng cường tuần hoàn não

Tính vị, quy kinh: vị ngọt, cay, tính ấm; quy vào kinh Tâm, Can, Tỳ.

Tác dụng: bổ huyết, hành huyết.



Công năng, chủ trị: bổ huyết, hoạt huyết, điều kinh, giảm đau, nhuận tràng.
Chủ trị: huyết hư, chóng mặt, kinh nguyệt không đều, bế kinh, đau bụng kinh, táo bón do huyết hư. Phong thấp tê đau, sưng đau do sang chấn.

Toàn Quy: Hòa huyết (vừa bổ huyết vừa hoạt huyết).

Quy vĩ: Hoạt huyết hóa ứ.

Quy thân: Dưỡng huyết bổ huyết.

Quy đầu: Chi huyết.

Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 6g - 12g, dạng thuốc sắc hoặc ngâm rượu.

Kiêng kỵ: Tỳ vị có thấp nhiệt, đại tiện lỏng không nên dùng.

Xuyên Khung [25], [26]

Tên khoa học: *Rhizoma Ligustici wallichii*

Bộ phận dùng: thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Xuyên khung (*Ligusticum wallichii* Franch.), Họ Hoa tán (Apiaceae).



Hoạt chất: Tinh dầu, dầu béo, acid ferulic, adenosin, adenin.

Tác dụng dược lý: Ức chế co bóp tử cung. Chống loạn nhịp, gây giãn động mạch vành. Ức chế kết tập tiểu cầu. Tăng lưu lượng máu mạch vành

Tính vị quy kinh: Vị cay, tính ấm; quy vào kinh Can, Đờm, Tâm bào.

Tác dụng: hành khí, hoạt huyết, khu phong chỉ thống.

Công năng, chủ trị: hành khí hoạt huyết, trừ phong, giảm đau. Chủ trị: điều kinh, nhức đầu, hoa mắt, cảm mạo phong hàn, phong thấp nhức mỏi, ngực bụng đau tức, nhọt độc sưng đau.

Cách dùng, liều lượng: ngày dùng từ 6g - 12g, dạng thuốc sắc, thuốc bột hay rượu thuốc.

Kiêng kỵ: người âm hư hỏa vượng không nên dùng.

Đào Nhân [25], [26]

Tên khoa học: *Semen Pruni*



Bộ phận dùng: Hạt lấy ở quả chín của cây Đào [*Prunus persica* (L.) Batsch] hoặc cây Sơn đào [*Prunus persica* Batsch var. *daurica* Maximowicz], họ Hoa hồng (Rosaceae), được bỏ hạch cứng và phơi hoặc sấy khô.

Hoạt chất: Dầu béo (50%), amygdalin (3,5%), tinh dầu (0,5%), emunsin.

Tác dụng dược lý: Tác dụng đối với huyết mạch: còn chiết xuất Đào nhân có tác dụng chống đông máu yếu, giãn mạch, tăng lưu lượng máu, tăng mức CAMP trong tiểu cầu, ức chế máu ngưng tụ, co tử cung, cầm máu đối với sản phụ sinh con sơ. Do thành phần dầu lipid của Đào nhân chiếm đến 45% vì vậy Đào nhân có tác dụng nhuận trường. Nước sắc Đào nhân có tác dụng kháng viêm ở giai đoạn đầu đối với súc vật thực nghiệm. Nước sắc Đào nhân có tác dụng giảm ho. Glucosid Khổ hạnh nhân có tác dụng ức chế tế bào ung thư có chọn lọc.

Tính vị quy kinh: vị đắng, ngọt, tính bình; quy kinh Tâm, Can.

Tác dụng: Phá huyết, trục ứ nhuận táo.

Công năng: Hoạt huyết, khử ứ, nhuận tràng. Chủ trị: Vô kinh, mất kinh, trung hà, sưng đau do sang chấn, táo bón.

Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 4,5g - 9g. Dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ: Có thai không nên dùng.

Hồng hoa [25], [26]

Tên khoa học: *Flos Carthami tinctorii*

Bộ phận dùng: Hoa đã phơi khô của cây Hồng hoa (*Carthamus tinctorius* L.), họ Cúc (Asteraceae).



Tính vị, quy kinh: Vị cay, tính ấm, quy kinh Tâm, Can.

Tác dụng: Hoạt huyết thông kinh, tán ứ chi thông.

Công năng, chủ trị: Hoạt huyết thông kinh, tán ứ huyết, giảm đau. Chủ trị: Phụ nữ vô kinh, bế kinh, đau bụng khi hành kinh, hành kinh ra huyết cục, chấn thương gây tụ huyết, sưng đau, mụn nhọt.

Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 4g - 12g, dạng thuốc sắc, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ: Phụ nữ có thai không nên dùng.

Địa Long [25], [26]

Tên khoa học: *Pheretima*

Bộ phận dùng: Toàn thân đã phơi hay sấy khô của con Giun [*Pheretima aspergillum*

(E.Perrier), *Pheretima vulgaris* Chen., *Pheretima guillelmi* (Michaelson), hay *Pheretima pectinifera*], họ Cự dẫ (Megascolecidae).

Hoạt chất: lemrifebrin, lumbritin và terrastro lumbrolytia (một chất độc được chiết tách năm 1915). Ngoài ra, một số thành phần khác có trong chúng là chất béo, hypoxanthin, nhiều axit amin cần thiết cho cơ thể như alanin, adenin, tyrosin, cholin, lysin, methionin, valin... và vitamin A, D, E.

Tác dụng dược lý: Tác dụng đối với phế quản: Địa long có tác dụng làm giãn phế quản, nhờ đó sẽ hạ cơn suyễn ở người bệnh. Thuốc có tác dụng làm giảm huyết áp chậm nhưng lâu dài. Nó có thể làm giãn mạch nội tạng. Trong dược liệu có chất làm tăng hoạt tính của Fibrin giúp chống hình thành huyết khối. Có tác dụng làm hưng phấn tử cung, diệt tinh trùng. Có tác dụng hạ nhiệt ở những bệnh nhân bị sốt. Có tác dụng lên hệ thần kinh trung ương.

Tính vị, quy kinh: vị mặn, tính hàn; quy kinh Can, Phế.

Tác dụng: Thanh nhiệt, trấn kinh, trị co giật, bình suyễn.

Công năng, chủ trị: Thanh nhiệt, trấn kinh, thông kinh lạc, bình suyễn, lợi niệu.

Chủ trị: Sốt cao bất tỉnh, kinh giật co quắp, đau khớp, chân tay tê bại, bán thân bất toại, trúng phong, ho suyễn do phế nhiệt, phù thũng, tiểu ít, cao huyết áp.

Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 4,5g - 9g, dạng bột. Thường phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ: Không dùng cho người hư hàn.



Tác dụng dược lý của vị thuốc theo Y học hiện đại

Dược liệu	Năm	Kết quả nghiên cứu
Xích Thược	2017	Chiết xuất của Xích thược và bốn hợp chất hoạt động là paeoniflorin (Pae), pentagalloylglucose (Pen), albiflorin (Ali) và axit protocatechuic (Pro) có tác dụng ức chế sự hình thành huyết khối và tác dụng chống huyết khối; kéo dài thời gian aPTT, PT, TT và giảm đáng kể lượng fibrinogen trên in vitro [18].
Đương quy	2012	Phthalid được chiết xuất từ Đương quy có tác dụng thúc đẩy tuần hoàn máu, loại bỏ huyết ứ, kéo dài thời gian huyết khối động mạch trên thực nghiệm, giảm cô đặc máu, chống kết tập tiểu cầu. Liều 1, 2, 4 g/kg/ngày ảnh hưởng đến hệ thống đông máu, kéo dài thời gian thrombin, PT và aPTT [19].
Xuyên khung	2021	Xuyên khung liều 463 $\mu\text{g/ml}$ có tác dụng chống đông trên mô hình gây đông máu bằng phenylhydrazin trên cá ngựa vằn (zebrafish). Thành phần senkyunolide I trong Xuyên khung có tác dụng ức chế yếu tố VII – là yếu tố hoạt hóa yếu tố X thành yếu tố X hoạt động theo con đường đông máu ngoại sinh; giảm yếu tố II [20].
Hồng hoa	2016	Cao chiết Hồng hoa nồng độ 0,5 g/ml và 0,125 g/ml có tác dụng chống ngưng tập tiểu cầu với chất gây ngưng tập là ADP. Hơn nữa, hồng hoa nồng độ 0,7mg/mL và 0,5mg/L kéo dài rõ rệt thời gian PT, aPTT và thời gian thrombin trên in vitro [21].

	2018	Hồng hoa dùng đường tiêm cho kết quả kéo dài thời gian aPTT trên in vitro so với nhóm chứng ($p < 0,05$), không ảnh hưởng đến thời gian PT ($p > 0,05$) [22].
Địa long	1997	Địa long làm tăng thời gian aPTT và TT gấp 2 lần trong 5 ngày đầu dùng thuốc. Địa long có khả năng làm giảm hình thành huyết khối tĩnh mạch, không ảnh hưởng đến kết tập tiểu cầu gây ra bởi ADP và collagen, nhưng [23].
	2019	Enzym lumbrofibrinolytic, lumbrokinase, lumbrocollagenase trong Địa long có tác dụng chống đông máu và chống huyết khối [24]. Tác dụng chống đông máu của plasmin trong Địa long có liên quan đến liều lượng. Liều thấp có thể làm giảm nồng độ fibrinogen và kéo dài thời gian thrombin, liều cao có thể kéo dài thời gian thrombin, giảm các yếu tố đông máu II và VIII, từ đó tạo ra tác dụng chống đông máu mạnh.