

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



PHẠM HỒNG NGỌC

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP, BÁN TRƯỜNG DIỄN
VÀ TÁC DỤNG HẠ GLUCOSE MÁU CỦA
BÀI THUỐC ĐHHV TRÊN THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SỸ Y HỌC

HÀ NỘI, NĂM 2025

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

BỘ Y TẾ



PHẠM HỒNG NGỌC

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP, BẢN TRƯỜNG DIỄN
VÀ TÁC DỤNG HẠ GLUCOSE MÁU CỦA
BÀI THUỐC ĐHHV TRÊN THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SỸ Y HỌC

Chuyên ngành : Y học Cổ truyền

Mã số : 8720115

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS. TS. Đoàn Quang Huy

2. PGS. TS. Nguyễn Hoàng Ngân

HÀ NỘI, NĂM 2025

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành luận văn này, tôi xin chân thành cảm ơn:

- Ban Giám đốc, Phòng Đào tạo sau đại học- Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam đã tạo kiện và giúp đỡ cho tôi trong quá trình học tập và hoàn thành luận văn.

Với tấm lòng chân thành, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới:

- **PGS.TS. Đoàn Quang Huy** và **PGS.TS Nguyễn Hoàng Ngân** là 2 người thầy đã hết lòng quan tâm, dạy bảo tôi về kiến thức chuyên môn cũng như trực tiếp hướng dẫn giúp đỡ tôi trong suốt quá trình hoàn thành luận văn này.

- Các Thầy, Cô trong Hội đồng khoa học chấm luận văn đã đóng góp, chỉ bảo cho tôi rất nhiều ý kiến quý báu để giúp tôi hoàn thành luận văn của mình.

- Tập thể các giảng viên, bác sỹ bộ môn Dược lý Học viện Quân Y, những người đã trực tiếp giúp đỡ tôi trong quá trình tiến hành thực nghiệm để hoàn thành luận văn.

Cuối cùng tôi xin bày tỏ lòng cảm kích và biết ơn sâu sắc tới những người thân trong gia đình, bạn bè, đồng nghiệp đã luôn động viên, giúp đỡ và ủng hộ tôi trong suốt quá trình học tập cũng như quá trình hoàn thành luận văn này.

Học viên

Phạm Hồng Ngọc

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Phạm Hồng Ngọc, học viên Cao học khóa 16 Học viện Y Dược học Cổ truyền Việt Nam, chuyên ngành Y học cổ truyền, xin cam đoan:

1. Luận văn này do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn khoa học của Thầy PGS.TS Đoàn Quang Huy và PGS.TS Nguyễn Hoàng Ngân.

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

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

Hà Nội, ngày tháng năm 2025 .

Người viết cam đoan

Phạm Hồng Ngọc

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

ADA	: The American Diabetes Association (Hiệp Hội Đái tháo đường Mỹ)
BN	: Bệnh nhân
ĐTĐ	: Đái tháo đường
HDF	: High diet fat (Chế độ ăn giàu chất béo)
IFG	: Impaired fasting glucose (Rối loạn Glucose huyết đói)
IGT	: Impaired glucose tolerance (Rối loạn dung nạp Glucose)
KT	: Kháng thể
STZ	: Streptozocin
TCCS	: Tiêu chuẩn cơ sở
VN	: Việt Nam
WHO	: World Health Organization (Tổ chức Y tế thế giới)
YHCT	: Y học cổ truyền
YHHĐ	: Y học hiện đại

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Tổng quan về Đái tháo đường theo Y học hiện đại	3
1.1.1. Định nghĩa.....	3
1.1.2. Dịch tễ	3
1.1.3. Nguyên nhân	4
1.1.4. Sinh lý bệnh và phân loại.....	5
1.1.5. Triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng.....	5
1.1.6. Biến chứng	6
1.1.7. Chẩn đoán.....	7
1.1.8. Điều trị	8
1.1.9. Phòng bệnh.....	10
1.2. Tổng quan về Đái tháo đường theo Y học cổ truyền	10
1.2.1. Quan niệm theo Y học cổ truyền	10
1.2.2. Nguyên nhân theo Y học cổ truyền.....	11
1.2.3. Phân thể lâm sàng và điều trị theo Y học cổ truyền	12
1.3. Tổng quan về dược liệu dây thìa canh và lá mía.....	16
1.3.1. Dây thìa canh	16
1.3.2. Cây mía và lá mía.....	19
1.4. Tổng quan về mô hình gây Đái tháo đường trên động vật thực nghiệm .	22
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	25
2.1. Đối tượng, vật liệu nghiên cứu.....	25
2.1.1. Chế phẩm nghiên cứu	25
2.1.2. Động vật nghiên cứu	26

2.1.3. Thiết bị nghiên cứu	27
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	29
2.2.1. Nghiên cứu độc tính cấp và độc tính bán trường diễn	29
2.2.2. Đánh giá tác dụng hạ glucose máu của bài thuốc ĐHHV trên chuột công gây đái tháo đường típ II	33
2.3. Địa điểm nghiên cứu:	36
2.4. Thời gian nghiên cứu	36
2.5. Thiết kế nghiên cứu	36
2.6. Xử lý số liệu	36
2.7. Sai số và biện pháp khắc phục	37
2.8. Đạo đức trong nghiên cứu.....	37
CHƯƠNG 3 : KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	39
3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp.....	39
3.2. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn.....	40
3.2.1. Tình trạng chung và cân nặng chuột	40
3.2.2. Một số chỉ tiêu huyết học của chuột.	42
3.2.3. Đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan khi dùng ĐHHV dài ngày.	45
3.2.4. Đánh giá ảnh hưởng lên chức năng gan khi dùng ĐHHV dài ngày. .	46
3.2.5. Đánh giá ảnh hưởng lên chức năng thận khi dùng ĐHHV dài ngày.	48
3.2.6. Kết quả mô bệnh học tạng của chuột thí nghiệm.....	49
3.3. Kết quả đánh giá tác dụng hạ glucose máu trên chuột công gây ĐTĐ típ 2...52	
3.3.1. Kết quả đánh giá cân nặng, thức ăn và nước uống tiêu thụ của chuột.....52	
3.3.2. Ảnh hưởng của ĐHHV lên Glucose máu và Insulin máu chuột.....	53
3.3.3. Ảnh hưởng của ĐHHV lên một số chỉ số đánh giá sự kháng insulin55	
3.3.4. Sự thay đổi phần trăm khối lượng tụy so với khối lượng cơ thể	56
3.3.5. Hình ảnh mô bệnh học của tụy ở các lô chuột nghiên cứu	57
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN	58

4.1.Bàn luận về kết quả nghiên cứu độc tính cấp và bán trường diễn.....	58
4.1.1. Về độc tính cấp	58
4.1.2. Về độc tính bán trường diễn.....	59
4.2.Bàn luận về kết quả đánh giá tác dụng hạ glucose máu trên mô hình gây ĐTĐ típ 2 ở chuột cống trắng.	63
4.3. Về mức độ phù hợp của hai vị thuốc Thìa canh và Lá mía đối với tác dụng hạ đường huyết.....	67
KẾT LUẬN	69
KHUYẾN NGHỊ.....	70
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Đặc điểm lâm sàng Đái tháo đường type 1 và 2.....	6
Bảng 2.1. Số lượng chuột thí nghiệm	27
Bảng 2.2. Thành phần thức ăn cho chuột sử dụng trong nghiên cứu	33
Bảng 3.1. Số chuột sống/chết trong nghiên cứu độc tính cấp của bài thuốc ĐHHV.....	39
Bảng 3.2. Cân nặng chuột ở các lô nghiên cứu	41
Bảng 3.3. Số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố máu chuột.....	42
Bảng 3.4. Hematocrit và thể tích trung bình hồng cầu máu chuột	43
Bảng 3.5. Số lượng bạch cầu và tiểu cầu trong máu chuột.....	44
Bảng 3.6. Hoạt độ AST và ALT máu chuột	45
Bảng 3.7. Albumin và Cholesterol toàn phần máu chuột	46
Bảng 3.8. Hàm lượng creatinin máu chuột	48
Bảng 3.9. Kết quả đánh giá cân nặng, thức ăn và nước uống tiêu thụ của chuột.....	52
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của ĐHHV lên glucose máu và insulin máu chuột	53
Bảng 3.11. Ảnh hưởng của ĐHHV lên một số chỉ số đánh giá sự kháng insulin	55
Bảng 3.12. Phần trăm khối lượng tụy so với khối lượng cơ thể	56

DANH MỤC ẢNH

Ảnh 3.1:	Hình ảnh đại thể gan, thận chuột lô chứng	49
Ảnh 3.2:	Hình ảnh vi thể nhuộm HE gan chuột lô chứng	50
Ảnh 3.3:	Hình ảnh vi thể nhuộm HE thận chuột lô chứng	51
Ảnh 3.4.	Đặc điểm mô học của mô tụy nhuộm H&E soi dưới kính hiển vi	57

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Dây thìa canh lá nhỏ	16
Hình 1.2. Cây mía và lá mía	19
Hình 2.1. Chuột cống trắng chủng Wistar (a) và chuột nhắt trắng chủng Swiss (b).....	26
Hình 2.2. Máy xét nghiệm sinh hóa (a) Kim đầu tù (b) và cân điện tử (c)..	28
Hình 3.4. Đặc điểm mô học của mô tụy nhuộm H&E soi dưới kính hiển vi	57

ĐẶT VẤN ĐỀ

“Đái tháo đường (ĐTĐ) là bệnh không lây nhiễm có tốc độ gia tăng nhanh và gây gánh nặng lớn cho y tế toàn cầu, với số người mắc tăng từ 422 triệu năm 2014 lên 828 triệu năm 2022 và tỷ lệ hiện mắc tăng gấp đôi trong ba thập kỷ qua [1], [2]. Khả năng tiếp cận điều trị vẫn còn hạn chế, khi chỉ khoảng 41% người bệnh được điều trị đầy đủ, làm tăng nguy cơ biến chứng tim mạch, thận và mắt [2]. Tại Việt Nam, số ca mắc cũng tăng nhanh, hiện ước tính khoảng 7 triệu người – gấp đôi so với 10 năm trước – nhưng chỉ một phần ba đạt mục tiêu kiểm soát đường huyết và hơn 55% đã xuất hiện biến chứng [3]. Bên cạnh đó, xu hướng sử dụng thuốc điều trị trong giai đoạn 2015–2021 vẫn chưa đáp ứng nhu cầu kiểm soát bệnh [3]. Những số liệu này cho thấy tính cấp thiết của việc tìm kiếm các biện pháp điều trị hỗ trợ an toàn, hiệu quả và phù hợp với điều kiện thực tiễn.

Theo Y học cổ truyền, Đái tháo đường được xếp vào phạm vi chứng Tiêu khát, liên quan chủ yếu đến ba tạng Phế, Tỳ, Thận, với căn nguyên do âm hư nội nhiệt, tân dịch hao tổn hoặc do ẩm thực thất điều, đàm thấp uẩn kết; nguyên tắc trị liệu chú trọng bổ âm, sinh tân, kiện tỳ, lý khí, hóa đàm kết hợp điều chỉnh ăn uống và sinh hoạt [4]. Trong bối cảnh xu hướng sử dụng dược liệu tự nhiên ngày càng phát triển, nhiều báo cáo quốc tế ghi nhận nhu cầu ứng dụng thảo dược trong phòng và điều trị bệnh đang tăng mạnh, đặc biệt tại các quốc gia châu Á [5]. Các bằng chứng khoa học những năm gần đây cũng cho thấy nhiều dược liệu truyền thống có tiềm năng trong kiểm soát đường huyết, giảm biến chứng và cải thiện sức khỏe chuyển hoá [6], [7]. Do đó, việc khai thác các nguồn dược liệu sẵn có tại Việt Nam trở thành hướng đi quan trọng nhằm phát triển các chế phẩm điều trị an toàn, hiệu quả và dễ tiếp cận, phù hợp với điều kiện thực tiễn và chiến lược tăng cường sử dụng y học cổ truyền trong chăm sóc sức khỏe.

Trong số các dược liệu này, dây thìa canh (*Gymnema sylvestre*) là vị thuốc đã được sử dụng lâu đời trong điều trị Tiêu khát, với thành phần chính là acid gymnemic. Các nghiên cứu hiện đại cho thấy dược liệu này có khả năng tái tạo tế bào β tuyến tụy, kích thích tiết insulin, đồng thời ức chế hấp thu glucose tại ruột, từ đó giúp hạ đường huyết hiệu quả [8]. Dây thìa canh được xem là một trong những dược liệu tiềm năng trong hỗ trợ điều trị ĐTĐ, đã có nhiều sản phẩm ứng dụng rộng rãi ở Ấn Độ và một số quốc gia châu Á.

Bên cạnh đó, lá mía (*Saccharum officinarum* L.) một nguồn dược liệu phong phú tại Việt Nam, gần đây được nhiều công trình nghiên cứu quan tâm nhờ chứa các hoạt chất sinh học như polysaccharide, polyphenol, policosanol, có tác dụng hạ glucose máu, chống oxy hóa, giảm lipid máu và bảo vệ tế bào khỏi stress oxy hóa [9], [10]. Mặc dù có tiềm năng lớn, nhưng lá mía vẫn chưa được khai thác đầy đủ trong điều trị ĐTĐ theo hướng YHCT.

Hai dược liệu dây thìa canh và lá mía đều sẵn có trong nước, có thành phần hóa học và cơ chế tác dụng hạ đường huyết khác nhau [8], [9], [10]. Việc phối hợp các vị thuốc có cơ chế bổ trợ hoặc hiệp đồng là đặc điểm thế mạnh của YHCT, góp phần tăng hiệu quả điều trị và giảm tác dụng không mong muốn [11]. Mặc dù vậy, hiện chưa có công trình nào đánh giá tác dụng của sự phối hợp giữa hai dược liệu này trong điều trị ĐTĐ.

Từ những lý do trên, việc nghiên cứu độc tính và tác dụng hạ đường huyết của bài thuốc phối hợp hai dược liệu là rất cần thiết và có ý nghĩa thực tiễn trong định hướng phát triển các sản phẩm hỗ trợ điều trị có nguồn gốc thảo dược. Do đó, chúng tôi tiến hành đề tài: “Nghiên cứu độc tính cấp, bán trường diễn và tác dụng hạ glucose máu của bài thuốc ĐHHV trên thực nghiệm”, với hai mục tiêu:

1. *Đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của bài thuốc ĐHHV trên động vật thực nghiệm.*
2. *Đánh giá tác dụng hạ glucose máu của bài thuốc ĐHHV trên chuột cống gây đái tháo đường típ II.*

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan về Đái tháo đường theo Y học hiện đại

1.1.1. Định nghĩa

“Bệnh ĐTĐ là bệnh rối loạn chuyển hóa không đồng nhất, đặc điểm của nó tăng glucose huyết do khiếm khuyết về bài tiết insulin, về tác dụng của insulin, hoặc cả hai. Việc tăng glucose mạn tính trong thời gian dài gây nên những rối loạn chuyển hóa carbohydrate, protide, lipide, gây tổn thương ở nhiều cơ quan khác nhau, đặc biệt ở tim và mạch máu, thận, mắt, thần kinh”[12].

1.1.2. Dịch tễ

1.1.2.1. Thế giới

Gánh nặng bệnh tật do đái tháo đường (ĐTĐ) đang gia tăng nhanh trên toàn thế giới, chủ yếu liên quan đến tình trạng béo phì, thói quen ăn uống chưa hợp lý và lối sống ít vận động [13]. Theo Liên đoàn Đái tháo đường Thế giới (IDF), năm 2019 có khoảng 463 triệu người trong độ tuổi 20–79 mắc ĐTĐ; con số này được dự báo sẽ tăng lên 700 triệu người vào năm 2045, tương đương khoảng một phần mười dân số trưởng thành [14], [15]. Đáng lo ngại, 79% người bệnh sống tại các quốc gia có thu nhập thấp và trung bình - nơi khả năng tiếp cận dịch vụ y tế còn hạn chế [15].

Cũng theo IDF năm 2019, dữ liệu tổng hợp từ 62 nghiên cứu tại 49 quốc gia cho thấy có 373,9 triệu người từ 20–79 tuổi mắc ĐTĐ. Trong nhóm dân số trưởng thành, tỷ lệ rối loạn dung nạp glucose (IGT) chiếm 7,5%, và được dự đoán sẽ tăng lên 453,8 triệu trường hợp (8,0%) vào năm 2030, và đạt

548,4 triệu trường hợp (8,6%) vào năm 2045 [14], [15]. Những số liệu này cho thấy xu hướng gia tăng đáng báo động của ĐTĐ trên toàn cầu, đồng thời nhấn mạnh sự cần thiết phải tăng cường các biện pháp dự phòng, quản lý và điều trị hiệu quả.

1.1.2.2. Việt Nam

Hiện nay, Việt Nam ước tính có khoảng 7 triệu người đang mắc đái tháo đường (ĐTĐ). Dự báo đến năm 2045, số người tiền đái tháo đường trong cả nước có thể tăng lên 7,9 triệu trường hợp, tương đương mức tăng khoảng 47% so với năm 2019 [16].

Kết quả điều tra STEPwise về các yếu tố nguy cơ bệnh không lây nhiễm do Bộ Y tế tiến hành năm 2015 cho thấy, trong nhóm dân số từ 18 đến 69 tuổi, tỷ lệ mắc ĐTĐ là 4,1%, trong khi tiền ĐTĐ chiếm 3,6% [12]. Những số liệu này phản ánh xu hướng gia tăng đáng lo ngại của rối loạn chuyển hóa glucose tại Việt Nam và nhấn mạnh nhu cầu cấp thiết về các biện pháp dự phòng, tầm soát và quản lý bệnh hiệu quả.

1.1.3. Nguyên nhân

Tăng đường huyết mạn tính trong đái tháo đường hình thành trên cơ sở rối loạn chuyển hóa – nội tiết kéo dài, trong đó sự thiếu hụt insulin tuyệt đối hoặc tương đối và tình trạng kháng insulin đóng vai trò trung tâm. Những bất thường này dẫn đến rối loạn đồng thời chuyển hóa glucid, lipid và protein, gây mất cân bằng nội môi và làm nặng dần quá trình bệnh lý [17]. Bên cạnh đó, các yếu tố ngoại sinh như thừa cân, béo phì, chế độ ăn giàu năng lượng, ít vận động và lối sống không lành mạnh được xem là tác nhân quan trọng thúc đẩy sự xuất hiện và tiến triển của đề kháng insulin, làm gia tăng nguy cơ mắc đái tháo đường typ 2 [18]. Ở mức độ tế bào và phân tử, đái tháo đường đặc trưng bởi sự suy giảm cả về số lượng và chức năng của tế bào β tuyến tụy, lắng đọng amyloid tại tiểu

đảo tụy, stress oxy hóa, phản ứng viêm mạn tính mức độ thấp và rối loạn các con đường tín hiệu insulin. Những tổn thương này làm giảm khả năng tiết insulin, suy giảm đáp ứng của mô đích và góp phần thúc đẩy tiến triển bệnh theo thời gian [19], [20], [21]. Sự kết hợp giữa rối loạn nội tiết - chuyển hóa, yếu tố nguy cơ ngoại sinh và các rối loạn ở mức phân tử tạo nên cơ chế bệnh sinh phức tạp của đái tháo đường, phản ánh bản chất đa yếu tố và tiến triển mạn tính của bệnh.

1.1.4. Sinh lý bệnh và phân loại

Đái tháo đường (ĐTĐ) là một hội chứng rối loạn chuyển hóa mạn tính, đặc trưng bởi tình trạng tăng glucose huyết kéo dài do thiếu hụt insulin tuyệt đối khi tế bào β tuyến tụy bị phá hủy, giảm hiệu lực của insulin tại mô đích (kháng insulin), hoặc do phối hợp cả hai cơ chế. Theo phân loại của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) và Hiệp hội Đái tháo đường Hoa Kỳ (ADA), bệnh ĐTĐ gồm bốn nhóm chính: (1) ĐTĐ typ 1, thường gặp ở người dưới 30 tuổi, đặc trưng bởi sự mất hoặc suy kiệt tế bào β dẫn đến thiếu insulin tuyệt đối; (2) ĐTĐ typ 2, thường gặp ở người trên 30 tuổi, với cơ chế chủ yếu là kháng insulin kết hợp rối loạn tiết insulin; (3) ĐTĐ thai kỳ, xuất hiện trong thời gian mang thai do rối loạn dung nạp glucose; và (4) các dạng ĐTĐ đặc hiệu khác ở mọi lứa tuổi, liên quan đến các nguyên nhân thứ phát hoặc bệnh lý đặc hiệu như đột biến gen, bệnh tụy ngoại tiết hoặc tác dụng của thuốc [12].

1.1.5. Triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng

ĐTĐ là bệnh có diễn tiến âm thầm các triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng khác nhau tùy theo thể ĐTĐ.

1.1.5.1. Đặc điểm lâm sàng Đái tháo đường type 1 và 2

Bảng 1.1. Đặc điểm lâm sàng Đái tháo đường type 1 và 2

Đặc điểm		Type 1	Type 2
Tuổi khởi phát		<30	>30
Triệu chứng lâm sàng		Rầm rộ	Phát hiện tình cờ
Thể trạng		Trung bình/ gầy	Béo/ thừa cân (kiểu nam)
Tiền sử		Gia đình có người bị ĐTĐ và/hoặc các bệnh lý tự miễn dịch khác	ĐTĐ thai kỳ
Bệnh tự miễn		Phối hợp	
Xét nghiệm	HLADR3-DR4	+	-
	KT kháng đảo tụy	++	-
	Định lượng insulin	Thấp hoặc bằng 0	
	Test Glucagon	Peptid – C < 0,3nmol/l	Peptid – C >1mmol/l
Điều trị bằng sulonyurea		Không có kết quả	Có hiệu quả/ Insulin
Biến chứng hay gặp		Hôn mê nhiễm toan Ceton	

1.1.5.2. Đái tháo đường thứ phát (do các nguyên nhân khác)

- Gặp ở đủ mọi lứa tuổi.
- Xét nghiệm: HLADR3/DR4 (-), KT kháng thể đảo tụy (-).
- Có nguyên nhân: Bệnh lý ở tụy, do thuốc.
- + Các nguyên nhân khác.

1.1.6. Biến chứng

1.1.6.1. Biến chứng cấp tính

- Hôn mê nhiễm toan ceton
- Hạ glucose máu
- Hôn mê tăng glucose máu không nhiễm toan ceton

- Hôn mê nhiễm toan lactic
- Các bệnh nhiễm trùng cấp tính.

1.1.6.2. Biến chứng mạn tính

Chủ yếu được chia ra bệnh mạch máu lớn và mạch máu nhỏ hoặc chia theo cơ quan bị tổn thương :Biến chứng mạch máu lớn bao gồm: Xơ vữa động mạch vành tim dẫn đến nhồi máu cơ tim, hội chứng mạch vành cấp, xơ vữa mạch não gây đột quỵ, xơ vữa động mạch ngoại vi gây tắc mạch. Biến chứng mạch máu nhỏ: việc tăng glucose máu kéo dài gây nên các tổn thương tại các mao mạch tại võng mạc, cầu thận, cũng như các mạch máu nhỏ ngoại biên từ đó dẫn đến các biến chứng tại mắt, thận, thần kinh ngoại biên (Bệnh lý thần kinh cảm giác - vận động, thần kinh tự động) Phối hợp bệnh lý thần kinh và mạch máu: Loét bàn chân ĐTĐ.

1.1.7. Chẩn đoán

1.1.7.1. Chẩn đoán Đái tháo đường

Theo ADA dựa vào 1 trong 4 tiêu chuẩn:

- IFG: Glucose ≥ 126 mg/dL (hay 7 mmol/L) hoặc:
- IGT: Glucose huyết tương ở thời điểm sau 2 giờ làm nghiệm pháp dung nạp glucose đường uống 75g theo hướng dẫn của WHO ≥ 200 mg/dL (hay 11,1 mmol/L)
- HbA1c $\geq 6,5\%$ (48 mmol/mol). Xét nghiệm phải được thực hiện ở phòng thí nghiệm được chuẩn hóa theo tiêu chuẩn quốc tế.
- Ở BN có triệu chứng kinh điển hoặc mức glucose huyết ở thời điểm bất kỳ ≥ 200 mg/dL (hay 11,1 mmol/L).

Nếu không có triệu chứng kinh điển (tiểu nhiều, uống nhiều, ăn nhiều, sụt cân không rõ nguyên nhân), cần phải làm cận lâm sàng từ 2 lần để chẩn đoán xác định. Thời gian thực hiện sau lần 1 có thể từ 1-7 ngày. Tại VN, nên dùng phương pháp đơn giản và hiệu quả để chẩn đoán là định lượng glucose

huyết tương lúc đói 2 lần ≥ 126 mg/dL (hay 7 mmol/L). Nếu HbA1c được đo tại phòng xét nghiệm được chuẩn hóa quốc tế, có thể đo HbA1c 2 lần để chẩn đoán ĐTĐ [22].

1.1.7.2. Chẩn đoán tiền đái tháo đường

Chẩn đoán tiền ĐTĐ khi có một trong các rối loạn sau đây:

- IFG: Định lượng từ 100 (5,6mmol/L) đến 125 mg/dL (6,9 mmol/L), hoặc
- IGT: Glucose huyết tương ở thời điểm 2 giờ sau khi làm nghiệm pháp dung nạp glucose bằng đường uống 75 g từ 140 (7.8 mmol/L) đến 199 mg/dL (11 mmol/L), hoặc
- HbA1c từ 5,7% (39 mmol/mol) đến 6,4% (47 mmol/mol) [12].

1.1.8. Điều trị

1.1.8.1. Mục tiêu điều trị

*Mục tiêu điều trị có thể khác nhau tùy tình trạng BN. Có thể nghiêm ngặt: HbA1c $< 6,5\%$ (48 mmol/mol) hoặc ít nghiêm ngặt hơn: HbA1c $< 8\%$ (64 mmol/mol) tùy bệnh nhân. Nếu đạt mục tiêu glucose huyết đói, nhưng HbA1c cao, cần xem glucose huyết sau ăn, đo 1-2 giờ sau khi BN bắt đầu ăn [12].

1.1.8.2. Thay đổi lối sống

Luyện tập thể lực: khi luyện tập thể lực cần theo dõi các triệu chứng về vồng mạc, tim, thần kinh, đặc biệt là biến chứng về thần kinh ngoại vi, lựa chọn loại hình thể dục đơn giản thông dụng và dễ áp dụng nhất. Người già, đau khớp có thể chia tập nhiều lần trong ngày.

Dinh dưỡng: Cần cân đối giữa cần đổi chế độ ăn cho bệnh nhân ĐTĐ và thói quen ăn uống cũng như những thực phẩm có sẵn tại vùng miền nơi bệnh nhân ở. Nên có sự tư vấn của bác sĩ chuyên khoa dinh dưỡng.

1.1.8.3. Thuốc điều trị

Metformin: có 2 tác dụng chính vừa ức chế gan sản xuất ra glucose đồng thời giúp các mô đích tăng tính nhạy với insulin. Tác động hạ glucose trong

khoảng 2-4 mmol/l và có thể giảm HbA1c đến 2%. Ngoài ra Metformin còn thể gây ra tác dụng phụ ở đường tiêu hoá, vì thế nên dùng trong lúc ăn với liều nhỏ (khoảng 500mg/ngày)

Sulfonylurea kích thích tuy tiết insulin. Tác động làm giảm glucose trung bình là 50 – 60 mg/dl, giảm HbA1c tới 2%. Sulfonylurea được dùng thận trọng với người già, người bị bệnh thận hoặc rối loạn chức năng gan. Không sử dụng để điều trị tăng glucose máu ở người ĐTĐ type 1, nhiễm toan ceton, có thai, và một số tình trạng khác như nhiễm trùng, phẫu thuật...

Thuốc ức chế enzym Alpha-glucosidase: Enzym Alpha-glucosidase có tác dụng phá vỡ đường đôi (disaccharide) thành đường đơn (monosaccharide), làm chậm hấp thu monosaccharide, do vậy hạ thấp lượng glucose máu sau bữa ăn. Tác dụng không mong muốn: đầy bụng, tiêu chảy... Cần sử dụng phối hợp với một loại hạ glucose máu khác. Uống ngay trong khi ăn, tốt nhất là ngay sau miếng cơm đầu tiên. Trong bữa ăn phải có carbohydrat.

Metiglinide/Repaglinide: kích thích bài tiết insulin sau ăn (khi có tăng glucose trong máu), nhóm này không thuộc nhóm sulfonylurea; nhưng nó có khả năng kích thích tế bào β tuyến tuy tiết insulin nhờ có chứa nhóm benzamido. Có thể dùng như một đơn trị liệu hoặc kết hợp với Metformin, với insulin.

Thiazolidinedion (Glitazone) làm tăng nhạy cảm của cơ và tổ chức mỡ với insulin bằng cách hoạt hoá PPAR gama (peroxisome proliferator-activated receptor gama) vì vậy làm tăng thu nạp glucose từ máu, tăng nhạy cảm của insulin ở cơ vân, mô mỡ đồng thời ngăn cản quá trình sản xuất glucose từ gan, có thể dùng đơn độc hoặc kết hợp với các thuốc uống khác hoặc insulin. Tác dụng phụ bao gồm tăng cân, giữ nước và mất xương, tăng nguy cơ suy tim, lưu ý kiểm tra chức năng gan.

Gliptin là nhóm thuốc ức chế enzym DPP-4 (Dipeptidylpeptidase-4) để làm tăng nồng độ GLP1 nội sinh, GLP1 có tác dụng kích thích bài tiết insulin, và ức chế sự tiết glucagon khi có tăng glucose máu sau khi ăn [17].

Insulin: Duy trì mức glucose máu gần mức độ sinh lý, được chứng minh là cách tốt nhất để phòng các bệnh về mạch máu, làm giảm tỷ lệ tử vong, kéo dài tuổi thọ và nâng cao chất lượng cuộc sống của người ĐTĐ. Có thể chỉ định insulin ngay từ lần khám đầu tiên nếu HbA1C > 9,0% và glucose máu lúc đói trên 15,0 mmol/l (270 mg/dL) [12].

1.1.9. Phòng bệnh

- Duy trì cân nặng hợp lý: BMI từ 18,5 – 22,9 kg/m² (theo chuẩn châu Á)
- Chế độ ăn lành mạnh: Hạn chế đường đơn và thực phẩm chế biến sẵn, ăn nhiều chất xơ (rau, trái cây ít ngọt, ngũ cốc nguyên hạt), giảm chất béo bão hòa, đặc biệt từ thịt đỏ và mỡ động vật.
- Tăng cường vận động thể lực: Tối thiểu 150 phút/tuần (tương đương 30 phút/ngày, 5 ngày/tuần).
- Không hút thuốc, hạn chế rượu bia.
- Quản lý stress hiệu quả.
- Khám sức khỏe định kỳ, đặc biệt nếu có yếu tố nguy cơ: gia đình có người mắc ĐTĐ, tăng huyết áp, rối loạn lipid máu, béo phì...

1.2. Tổng quan về Đái tháo đường theo Y học cổ truyền

1.2.1. Quan niệm theo Y học cổ truyền

Theo Y học cổ truyền, không có tên bệnh chính xác cho “đái tháo đường”, nhưng các chứng bệnh, chứng hậu tương tự được xếp vào phạm vi chứng Tiêu khát, đặc trưng bởi "tam đa nhất thiểu" - ăn nhiều, uống nhiều, tiểu nhiều, sút cân nhanh [23].

Tên bệnh “Tiêu khát” lần đầu xuất hiện từ sách Nội kinh. Về sau, các thầy thuốc căn cứ vào vị trí của các tạng phủ tổn thương mà chia thành các thể “thượng tiêu”, “trung tiêu”, “hạ tiêu” để làm tiêu chuẩn biện chứng và điều trị

Chủ chứng: Mồm khô miệng khát nhiều, ăn uống ngon miệng ăn nhiều mà gầy, tiểu tiện nhiều hoặc nước tiểu có vị ngọt [23]. Bệnh được đề cập từ thế kỷ thứ IV – V trước Công nguyên. Trong “Hoàng đế Nội kinh tố vấn” gọi là chứng “tiêu” hay “tiêu khát”. Sách “Linh khu, Ngũ biến thiên” viết: “Ngũ tạng giai nhu nhược giả, thiện bệnh tiêu đản”. Nghĩa là: “Ngũ tạng hư nhược dễ bị bệnh tiêu”.

-Trong “Ngoại trị bị yếu, Tiêu khát môn” viết: “Tiêu khát giả, nguyên kỳ phát động, thử tắc thận suy sở trí, mỗi phát tức tiện chí điểm”. Dịch nghĩa: “Tiêu khát ban đầu do tạng thận hư suy mà gây ra nên mỗi khi tiểu tiện nước tiểu có vị ngọt”.

-Theo Tuệ Tĩnh (Tuệ Tĩnh toàn tập): tiêu khát có các chứng trạng miệng thì muốn uống nước, dưới thì ngày đêm đi tiểu rất nhiều. Nguyên nhân do phòng dục quá độ, trà rượu thất điều, hoặc ăn nhiều đồ chiên xào, hoặc thường uống thuốc bằng kim thạch làm cho khô kiệt chất nước trong thận, khí nóng trong tâm cháy rực, tam tiêu nung nấu, ngũ tạng khô ráo, từ đó sinh ra chứng tiêu khát [24].

-Theo “Hải Thượng Y tông tâm lĩnh, Y trung quan kiện”: bệnh tiêu khát phần nhiều do hỏa làm tiêu hao chân âm, năm chất dịch bị khô kiệt mà sinh ra.

Theo sự ghi chép qua các thời đại, thấy có nhiều yếu tố liên quan. Yếu tố thứ nhất là tiên thiên bất túc, nguyên khí hư suy. Yếu tố thứ hai là hậu thiên: do ăn uống thất điều, quá no hay quá đói, ăn quá nhiều chất béo ngọt, ngoài ra cũng cần kể đến cả các yếu tố tình chí. Các nguyên nhân này hay gặp ở người cao tuổi [4].

1.2.2. Nguyên nhân theo Y học cổ truyền

Nguyên nhân gây bệnh có khi một nhưng đa số là nhiều nhân tố phối hợp:

-Tiên thiên bất túc: do bẩm tố tiên thiên bất túc, khí tinh của ngũ tạng đưa đến tạng ở thận giảm sút, dẫn tới tinh dịch khuỵu tổn mà gây chứng tiêu khát.

- Ăn uống không điều độ: ăn quá nhiều thứ béo ngọt, chiên xào hoặc uống quá nhiều rượu, lâu ngày là , tích nhiệt ở Tỳ Vị, từ đó thiêu đốt tân dịch mà thành chứng tiêu khát.

- Tình chí thất điều: do căng thẳng uất ức lâu ngày, uất ức quá độ tình chí hóa hỏa. Hỏa thiêu đốt Phế, Vị, Thận, làm cho Phế Táo, Vị nhiệt, Thận âm hư. Thận âm hư làm tân dịch giảm, Phế táo làm mất chức năng tuyên phát, không đưa tinh hoa của thủy cốc đi nuôi cơ thể được mà dồn xuống bàng quang nên người bệnh khát nước, tiểu nhiều, nước tiểu có vị ngọt.

- Phòng dục quá độ: phong dục thất điều làm cho Thận tinh khuỷu tổn, hư hỏa nội sinh lại làm thủy kiệt thêm. Cuối cùng Thận hư, Phế táo, Vị nhiệt, do đó xuất hiện tiêu khát.

- Dùng thuốc ôn táo kéo dài làm hao tổn âm dịch: ngày xưa có người thích dùng phương thuốc “Tráng dương chí thạch” là loại thuốc rất táo nhiệt, làm hại chân âm và sinh tiêu khát. Ngày nay không dùng thạch được để uống, muốn tăng hoạt động tình dục thì uống thuốc tráng dương có tính ôn táo, lại uống kéo dài sẽ sinh táo nhiệt ở trong, âm dịch hao tổn nên sinh tiêu khát [23], [4].

1.2.3. Phân thể lâm sàng và điều trị theo Y học cổ truyền

Các nghiên cứu gần đây cho thấy việc phân loại lâm sàng chứng Tiêu khát theo ba thể Thượng tiêu, Trung tiêu và Hạ tiêu không còn phù hợp với diễn biến phức tạp của bệnh đái tháo đường hiện nay. Nhiều bệnh nhân không còn biểu hiện đầy đủ các triệu chứng kinh điển của Tiêu khát, mà bệnh thường được phát hiện khi đã tiến triển hoặc xuất hiện biến chứng [25], [26], [4]. Do đó, các thầy thuốc lâm sàng đã dựa trên các triệu chứng thực tế thường gặp ở người bệnh đái tháo đường để xây dựng và tổng hợp thành những chứng hậu phù hợp hơn, làm cơ sở cho biện chứng luận trị trong Y học cổ truyền [4], [27], [28].

1.2.3.1. Thử Phế Vị nhiệt thịnh (Thượng tiêu khát)

- Cơ chế bệnh sinh: Do ngoại cảm nhiệt tà hoặc ẩm thực bất điều, ăn nhiều đồ cay nóng, nướng rán làm tổn thương Phế và Vị, khiến hỏa nhiệt uất kết bên trong. Phế có chức năng tuyên phát và túc giáng, khi bị hỏa nhiệt bức bách làm mất cân bằng công năng thăng giáng, tân dịch không được phân bố và vận hóa bình thường, lại thêm Vị nhiệt tích tụ lâu ngày, làm hao tổn tân dịch sinh ra chứng khát. Nhiệt tích lâu ngày hoá hỏa, càng hao tổn âm dịch, làm cho người bệnh xuất hiện biểu hiện khát nhiều, uống nhiều nhưng vẫn tiểu nhiều, là đặc trưng của chứng Tiêu khát[58], [59].

- Chứng trạng chính: Khát nhiều, uống nước liên tục, miệng khô, họng khô rát, tiểu tiện nhiều, nước tiểu trong hoặc vàng, táo bón nhẹ, ăn nhiều, lưỡi đỏ, rêu vàng mỏng hoặc ít, mạch hoạt sắc[60], [61].

- Pháp trị: Thanh phế, thanh vị, dưỡng âm, sinh tân chỉ khát.

- Phương dược: Bạch Hổ gia Nhân Sâm Thang

•Thành phần: Thạch cao, Tri mẫu, Cam thảo, Nhân sâm, Gạo tẻ.

•Tác dụng: Thanh khí nhiệt, dưỡng tân dịch, ích khí sinh tân.

•Gia giảm: Nếu khát nhiều mà táo bón, gia Huyền sâm, Sinh địa, Mạch môn.

1.2.3.2. Thử Vị nhiệt tích thịnh (Trung tiêu khát)

- Cơ chế bệnh sinh : Do ăn nhiều đồ béo ngọt, chất bổ và vị cay nóng khiến Tỳ Vị bị tích nhiệt, nhiệt uất lâu ngày hoá hỏa, hun đốt tân dịch. Đồng thời, Can khí uất kết hóa hỏa càng làm nhiệt tà bốc lên, tổn thương tân dịch ở trung tiêu. Khi Vị hỏa thịnh, tân dịch bị tiêu hao, không thể đưa lên nhuận dưỡng Phế, cũng không giáng xuống để thông nhuận Thận dẫn đến Phế táo gây khát nhiều, Vị hư nhiệt gây đói nhiều, Thận khí bất túc gây tiểu nhiều, hình thành các biểu hiện chủ yếu của chứng Tiêu khát [62], [63].

- Chứng trạng chính: Ăn nhiều nhanh đói, miệng khô, môi đỏ, hôi miệng, táo bón, tiểu nhiều, nước tiểu vàng đậm, lưỡi đỏ, rêu vàng dày; mạch hồng sắc.

- Pháp trị: Thanh vị tả nhiệt, dưỡng âm sinh tân.
- Phương dược: Ngọc Nữ Tiễn
- Thành phần: Thạch cao, Tri mẫu, Sinh địa, Hoài sơn, Trạch tả.
- Tác dụng: Thanh vị hỏa, tư thận âm.
- Gia giảm: Khô môi nứt nẻ – gia Mạch môn, Thiên môn.

1.2.3.3. *Thể Thận âm hư (Hạ tiêu khát)*

- Cơ chế bệnh sinh: Tiêu khát diễn tiến kéo dài làm tổn thương Thận âm, khiến âm dịch hao tổn, không đủ để chế ước hư hỏa. Khi Thận âm hư, hư hỏa bốc lên sinh nội nhiệt, nung đốt tân dịch, từ đó xuất hiện các biểu hiện tiểu nhiều, miệng khô, khát nhẹ nhưng dai dẳng. Thận chủ thủy, giữ vai trò điều hòa và tàng trữ tân dịch; khi âm hư, thủy không được tàng giữ, khí hóa mất điều hòa nên người bệnh đái nhiều, kéo dài, kèm theo gầy sút và suy nhược cơ thể [64], [67].

- Chứng trạng chính: Tiểu đêm nhiều, nước tiểu nhiều và loãng, gầy sút nhanh, lưng gối mỏi, mặt đỏ nhẹ, lòng bàn tay nóng, lưỡi đỏ, ít rêu, mạch tế sác.

- Pháp trị: Tư âm bổ thận, sinh tân chỉ khát.

- Phương – Dược: Lục Vị Địa Hoàng Hoàn gia Tri mẫu – Hoàng bá (Tri bá địa hoàng hoàn)

• Thành phần : Thục địa, Sơn thù, Sơn dược, Trạch tả, Đơn bì, Phục linh + Tri mẫu, Hoàng bá.

• Tác dụng: Tư âm giáng hỏa, bổ thận sinh tân.

1.2.3.4. *Thể Khí âm lưỡng hư*

- Cơ chế bệnh sinh: Chứng Tiêu khát diễn tiến kéo dài làm hao tổn nguyên khí và âm dịch, đặc biệt ở người cao tuổi hoặc người mắc bệnh lâu ngày. Khí hư khiến công năng vận hoá suy giảm, cơ thể mệt mỏi, ăn uống kém; âm hư làm tân dịch không được sinh đầy đủ, dẫn đến khát nước kéo dài và miệng họng khô ráo [65], [66].

- Chứng trạng chính: Mệt mỏi, hồi hộp, khát nhẹ nhưng kéo dài, khô miệng, ra mồ hôi trộm, tiểu nhiều, hơi thở yếu, lưỡi đỏ nhạt, mạch hư tế.

- Pháp trị: Ích khí dưỡng âm, sinh tân chỉ khát.

- Phương – Dược: Sinh Mạch Ẩm

•Thành phần: Nhân sâm, Mạch môn, Ngũ vị tử.

•Tác dụng: Bổ khí, dưỡng âm, sinh tân dịch, trị khát nước, hồi hộp, mạch hư.

1.2.3.5. *Thể Tỳ hư thấp trệ*

- Cơ chế bệnh sinh: Tỳ khí hư yếu, công năng vận hóa thủy cốc bất túc dẫn đến thủy thấp đình trệ; thấp tà uất lại ở trung tiêu, cản trở khí cơ thăng giáng, làm đình trệ vận hóa và ứ đọng thủy dịch. Lâu ngày thấp tụ hóa nhiệt hoặc hóa đàm, từ đó phát sinh các chứng biến nội sinh.

- Chứng trạng chính: Bụng đầy, ăn uống kém, nặng người, tiểu ít, phân lỏng, chân tay lạnh, lưỡi nhạt bệu, rêu trắng nhớt, mạch nhu hoãn.

- Pháp trị: Kiện tỳ lợi thấp.

•5.4. Phương – Dược: Lục Quân Tử thang

•Thành phần: Nhân sâm, Bạch truật, Phục linh, Cam thảo, Trần bì, Bán hạ.

•Tác dụng: Kiện tỳ ích khí, táo thấp tiêu trệ.

1.2.3.6. *Thể Âm hư hỏa vượng*

•Cơ chế bệnh sinh: Âm hư kéo dài dẫn đến mất khả năng chế ước dương, khiến hư hỏa bốc vượng, nung đốt tân dịch và làm hao tổn tân dịch ngày càng tăng.

•Chứng trạng chính” Khô miệng, khát về chiều và đêm, mất ngủ, sốt nhẹ về chiều, gò má đỏ, lòng bàn tay nóng, lưỡi đỏ ít rêu, mạch tế sác.

- Pháp trị: Tư âm giáng hỏa.

- Phương – Dược: Đại Bổ Âm hoàn

•Thành phần: Thục địa, Hoài sơn, Mạch môn, Tri mẫu, Hoàng bá, Quy

bản...

- Tác dụng: Dưỡng âm, giáng hỏa, sinh tân dịch.

1.2.3.7. *Thể Khí trệ Huyết ứ (biến chứng)*

- Cơ chế bệnh sinh: Hoả nhiệt uất trệ kéo dài làm tổn thương mạch lạc, tân dịch hao tổn, khí huyết vận hành không thông lợi, lâu dần hình thành khí trệ huyết ứ.

- Chứng trạng chính: Tê bì chân tay, đau tức, cảm giác kiến bò, lưỡi tím, điểm ứ huyết, mạch sáp hoặc huyền.

- Pháp trị: Hoạt huyết hóa ứ, thông kinh lạc.

- Phương – Dược: Huyết Phủ Trục Ứ thang

• Thành phần: Đương quy, Xuyên khung, Đào nhân, Hồng hoa, Sinh địa, Sài hồ, Chỉ xác, Ngưu tất, Cam thảo...

- Tác dụng: Hành khí hoạt huyết, phá ứ thông lạc.

1.3. Tổng quan về dược liệu dây thìa canh và lá mía

Trong nghiên cứu bài thuốc hỗ trợ điều trị đái tháo đường (Tiểu khát), việc lựa chọn dây thìa canh và lá mía dựa trên cả cơ sở dược lý hiện đại và y lý Y học cổ truyền, đáp ứng yêu cầu hạ đường huyết an toàn, bền vững và phù hợp với thể bệnh ở người Việt.

1.3.1. Dây thìa canh



Dây thìa canh lá nhỏ
(*Gymnema sylvestre*)

Hình 1.1. Dây thìa canh lá nhỏ

Dây thìa canh là vị thuốc nam, có tính hàn, vị đắng. Nó quy vào kinh

phế, tỳ, thận và có tác dụng lợi tiểu, nhuận tràng, hạ đường huyết. Ngoài ra, nó còn chủ trị bí tiểu, nước tiểu vàng đỏ, tiểu đường, táo bón do nhiệt.

Tên gọi khác: Dây muôi, Lỗ ti rừng...

Tên khoa học: *Gymnema Sylvestre* Thuộc chi Lỗ ti, họ Apocynaceae.

Đặc điểm thực vật: Thân leo dài, cao khoảng 6 – 10 m, có các lông dài khoảng 8 – 12 cm, đường kính khoảng 3 mm. Thân non màu xanh có lông mịn, lúc già có màu nâu, có lỗ bị đường kính khoảng 0.5 – 1 mm. Đặc biệt toàn thân cây có chứa nhựa mủ màu trắng. Lá cây mọc đối, cuống lá dài 5 – 8 mm, phiến lá có hình bầu dục hoặc trứng ngược, đầu lá nhọn, dài 6 – 7 cm, rộng 2.5 – 5 cm. Mặt dưới phiến lá có các gân chính và 4 – 6 cặp gân phụ, nổi rõ. Lá cây tươi bẻ ra chảy mủ trắng, vàng, lúc khô bị nhăn lại. Cây nở hoa vào tháng 7 hàng năm, bông hoa nhỏ, màu vàng, xếp thành xim hình tán mọc ở nách lá, kích thước khoảng 8 mm, rộng 12 – 25 mm, đài hoa phủ lông mịn, tràng hoa không lông, tràng phụ có 5 răng. Ra quả vào khoảng tháng 8, dạng quả đại, dài 5.5 cm và rộng ở phía dưới, bên trong có hạt hình dẹt có lông mao dài 3 cm.

Phân bố: ở một số tỉnh ở miền Bắc nước ta như Hải Phòng, Hải Dương, Thanh Hoá, Hưng Yên, Ninh Bình,...

Bộ phận dùng: oản bộ cây gồm thân dây, lá, hoa và quả

Tính – Vị - Quy kinh: Vị đắng, tính hàn, quy kinh Tỳ - Phế,

Công năng: Thanh nhiệt, sinh tân, tiêu khát, hỗ trợ hạ đường huyết

Thành phần hóa học: thành phần hoá học chính là hoạt chất GS4 (*Gymnema Sylvestre* kiềm hoá lần 4), trong đó gồm tổ hợp acid gymnemic (hoạt chất thuộc nhóm saponin triterpenoid), flavonoid, anthraquinone, pentatriacontane, hentriacontane, phytin, acid tartaric, acid formic, acid butyric, alcaloid, peptide guarin,...

Tác dụng dược lý:

- Tác dụng với bệnh tiểu đường:

+ Acid gymnemic kích thích sản sinh tế bào beta ở tuyến tụy, tăng cả chất lượng và số lượng của insulin, giúp cân bằng đường huyết tự nhiên.

+ Giảm quá trình hấp thụ đường glucose từ ruột vào máu, ức chế gan tạo mới glucose, đồng thời kích thích enzyme tiêu thụ đường tại mô cơ, giúp giảm đường huyết hiệu quả.

+ Suy giảm hoạt tính của enzyme tạo mới đường glucose, đảo ngược quá trình biến đổi trong gan ở giai đoạn tăng đường huyết, giảm sinh đường mới ở gan và tăng enzyme kích thích việc sử dụng đường ở các mô và cơ. Nhờ đó giúp kiểm soát lượng glucose trong máu và giữ chỉ số glucose máu ở ngưỡng an toàn.

Các thử nghiệm cũng cho thấy, chỉ sau từ 3 – 6 tháng sử dụng dược liệu dây thìa canh, chỉ số glucose máu đều giảm, duy trì ngưỡng an toàn trong thời gian dài. Điều đáng chú ý là tác dụng này nếu sử dụng trên người bình thường, chỉ số glucose máu không cao thì không làm giảm glucose máu.

- Tác dụng khác: giảm cholesterol, hạ lipid trong máu; giảm cân; đắp vết thương do rắn cắn và uống nước sắc trị độc...

Theo kinh nghiệm dân gian, để hỗ trợ điều trị bệnh tiểu đường, mỗi ngày nên dùng 50 g Dây thìa canh khô đun sôi với 1,5 lít nước trong 15 phút và uống 3 lần/ngày sau bữa ăn 15-20 phút. Liều dùng dây thìa canh ghi trong dược điển Việt Nam 5 là 10-12g sắc nước uống dưới dạng thuốc sắc.

PGS-TS Trần Văn Ôn, nguyên Trưởng Bộ môn Thực Vật - Trường Đại học Dược Hà Nội, khởi xướng nhiều đề tài khoa học về dược liệu liên quan đến bệnh Đái tháo đường. Ông tìm ra loài Dây thìa canh lá to (*Gymnema latifolium*) trong một hành trình 200 ngày trở thành phát hiện dược liệu tại Việt. Loài này có tác dụng hạ đường huyết gấp gần gấp đôi so với dây thìa canh thông thường (*Gymnema sylvestre*): giảm $\sim 36,31 \pm 3,5\%$ so với $\sim 23,41 \pm 4,09\%$, tuy nhiên trong phạm vi nghiên cứu này đối tượng sử dụng ở

đây là cây thìa canh thông thường (*Gymnema sylvestre*).

Thìa canh vị đắng, tính hàn có công năng thanh nhiệt, sinh tân, tiêu khát, hỗ trợ kiện Tỳ Vị; trong phép trị tiêu khát dùng làm Quân dược khi bệnh có chứng Vị nhiệt hoặc Phế nhiệt (uống nhiều, ăn nhiều, có rối loạn hấp thu → cần thuốc ức chế/giảm). Trong mô tả lâm sàng, thìa canh phù hợp khi có bằng chứng thực nhiệt hoặc Vị thực, có thể phối hợp với Hoàng Liên, Bán Hạ/ Chỉ Thực và Mộc Hương để tăng công năng thanh nhiệt, kiện Tỳ, hành khí.

1.3.2. Cây mía và lá mía



Hình 1.2. Cây mía và lá mía

Mía vốn có nguồn gốc Ấn Độ, hiện nay được trồng ở nhiều nước. Mía được trồng ở những nơi đất phù sa, trồng bằng ngọn hay cả cây. Sau 11-18 tháng thu hoạch, thường người ta trồng mía lấy nguyên liệu làm đường, làm thuốc.

Cây Mía có tên khoa học: *Saccharum officinarum* L.

Nghiên cứu này tập trung vào mía trắng, một dạng hình thái của *Saccharum officinarum* L., được trồng tại tỉnh Thanh Hóa

Đặc điểm thực vật cây mía: Mía có thân yếu, thân rễ mang các thân cây mọc trên mặt đất cao từ 2-5m, đường kính 2-5cm, tận cùng bằng một túp lá, dài từ 30-100cm. Thân có đốt, giữa các đốt có chứa nhiều đường sacaroza.

Bộ phận dùng: hiện hay dùng thân cây mía. Tuy nhiên khoa học ngày

nay đang quan tâm tới khai thác các bộ phận khác của cây mía, đặc biệt lá mía được chứng minh có hiệu quả trong hạ glucose máu, hạ cholestéol máu, chống oxy hoá...

Tính – Vị - Quy kinh: Vị ngọt, Tính hàn, Quy kinh Vị, Phế, Bàng Quang

Công dụng: Thanh nhiệt, sinh tân, chỉ khát, lợi tiểu

Thân Mía ép nước uống có tác dụng giải nhiệt, tiêu đờm, tốt cho tiêu hóa, giải độc, chống nôn mửa, chữa sốt. Lá mía được một số tác giả nghiên cứu có nhiều tác dụng tốt đặc biệt là tác dụng hạ glucose máu nhờ các hoạt chất như các Polysaccharide lá mía, Polyphenol lá mía và Policosanol.

Thành phần hóa học: Lá mía chứa flavonoid, axit hữu cơ, polyphenol, vitamin, polysaccharides và các thành phần hóa học khác có thể được sử dụng rộng rãi trong dược phẩm, nuôi cấy nấm men và sản xuất rượu [29].

Tác dụng dược lý:

Polysaccharide lá mía (SLP), một trong những thành phần chính trong lá mía, có tác dụng hạ đường huyết, hạ cholestrol máu, chống oxy hóa, chống khối u và có tác dụng điều trị nhồi máu cơ tim ở chuột [30].

Polyphenol có nguồn gốc từ lá mía (SLP) đã được chứng minh là có nhiều lợi ích thúc đẩy sức khỏe, như làm giảm tăng cân và tích tụ chất béo, cải thiện các rối loạn chuyển hóa glucose và lipid, cải thiện tình trạng gan nhiễm mỡ và điều chỉnh sản xuất axit béo chuỗi ngắn (SCFA) và chuyển hóa axit mật thứ cấp ở chuột ob/ob. Đáng chú ý, SLP đã thay đổi đáng kể thành phần vi khuẩn đường ruột, đặc biệt là làm giàu vi khuẩn cộng sinh *Akkermansia muciniphila* và *Bacteroides acidifaciens*. Việc cho uống bằng ống thông dạ dày với hai chủng trên đã cải thiện hội chứng chuyển hóa (MetS), điều chỉnh quá trình chuyển hóa axit mật thứ cấp và tăng sản xuất SCFA ở chuột béo phì do chế độ ăn nhiều chất béo (HFD). Những kết quả này chứng minh rằng SLP có thể được sử dụng như một prebiotic để làm

giảm MetS thông qua việc điều chỉnh thành phần vi khuẩn đường ruột và kích hoạt thêm trục ruột-mỡ trung gian bởi axit mật thứ cấp [31].

Policosanol, một thành phần chính trong lá mía, được biết đến với tác dụng làm giảm mức cholesterol bằng cách ức chế HMG-CoA reductase, một loại enzyme quan trọng trong quá trình tổng hợp cholesterol. Đái tháo đường là một rối loạn chuyển hóa đặc trưng bởi cơ thể không có khả năng điều chỉnh hiệu quả lượng đường trong máu. Tuyến tụy, thường chịu trách nhiệm sản xuất insulin, không sản xuất đủ lượng hoặc cơ thể phát triển tình trạng kháng insulin. Điều này dẫn đến tăng đường huyết. Các axit béo góp phần làm tăng diacylglycerol, triglyceride, ceramide và các loài oxy phản ứng, cuối cùng dẫn đến rối loạn chức năng ty thể, căng thẳng lưới nội chất và suy giảm tự thực. Những yếu tố này góp phần gây rối loạn chức năng tế bào beta và tử vong, dẫn đến phát triển bệnh tiểu đường loại 2. Với đặc tính làm giảm cholesterol của policosanol, lá mía có thể mang lại lợi ích tiềm năng trong việc kiểm soát bệnh tiểu đường loại 2 [32].

Việc lựa chọn nguồn lá mía phù hợp đóng vai trò quan trọng trong việc đảm bảo hiệu quả dược lý, an toàn vệ sinh, và tính ổn định của bài thuốc trong điều trị hỗ trợ hạ đường huyết. Để đảm bảo hiệu quả và an toàn, nên chọn lá mía từ nguồn trồng được liệu sạch, đạt tiêu chuẩn GACP-WHO hoặc hữu cơ.

Chúng ta có thể cân nhắc đến việc sử dụng lá mía từ cây mía trồng để sản xuất đường vì nguồn cung lớn, sẵn có, thành phần dược liệu cơ bản vẫn có chứa flavonoid, polyphenol, axit hữu cơ, tuy tùy thuộc cách trồng mà hàm lượng này thay đổi. Chính vì vậy chỉ xem xét trong điều kiện rất nghiêm ngặt:

- Kiểm nghiệm định kỳ: Phải có phiếu kiểm nghiệm chứng minh không có dư lượng thuốc bảo vệ thực vật, kim loại nặng, vi sinh.
- Thu hái chọn lọc: Chỉ dùng lá bánh tẻ, không sâu bệnh, phơi đúng quy trình.
- Không dùng kéo dài: Nếu chưa đảm bảo nguồn dược liệu sạch, chỉ nên

dùng ngắn hạn, liều thấp, không áp dụng cho bệnh nhân có bệnh gan – thận – tim mạch.

Lá mía vị ngọt tính hàn, sinh tân, lợi thủy, thanh nhiệt; thiên về thanh nhiệt sinh tân, lợi niệu, phù hợp với chứng Phế nhiệt hao tân và các trường hợp có nhiệt hao tân (khát uống nhiều, nước tiểu vàng). Dùng như quân hoặc tá để tư tân, thanh nhiệt và hỗ trợ lợi thủy, có thể kết hợp cùng Mạch môn, Thiên môn để tăng khả năng tư âm sinh tân. Nếu biểu hiện chủ yếu là âm hư nặng, cần tập trung tư âm (Thục Địa, Mạch môn), lá mía đóng vai trò phụ trợ và cần kết hợp thêm các dược liệu khác để cân bằng âm dương.

1.4. Tổng quan về mô hình gây Đái tháo đường trên động vật thực nghiệm

Để hiểu rõ hơn về cơ chế bệnh sinh và phát triển các liệu pháp điều trị mới cho đái tháo đường (ĐTĐ), việc sử dụng mô hình động vật thí nghiệm là điều vô cùng cần thiết. Các nghiên cứu thực nghiệm hiện nay chủ yếu sử dụng loài gặm nhấm - vì chúng có kích thước nhỏ, chu kỳ sinh sản ngắn, dễ nuôi, dễ nhân rộng và phù hợp với các thí nghiệm lặp lại trong thời gian ngắn. Phổ biến nhất là các mô hình gây ĐTĐ hoá học, phẫu thuật hoặc di truyền, trong đó dùng các tác nhân hóa học như Alloxan và Streptozotocin (STZ) là phương pháp được dùng rộng rãi nhất để gây bệnh. Khi dùng Alloxan hoặc STZ, các dược chất này tích lũy chọn lọc vào tế bào β của đảo tụy thông qua vận chuyển qua GLUT2, gây hoại tử hoặc suy giảm chức năng tế bào β $\rightarrow$ dẫn đến thiếu insulin và tăng glucose máu - mô phỏng tương đối chính xác tình trạng thiếu insulin và/hoặc kháng insulin ở người. Nhờ tính tái lập dễ dàng, chi phí thấp và khả năng lặp lại của mô hình, các nghiên cứu trên động vật vẫn là nền tảng để khám phá cơ chế bệnh, thử nghiệm thuốc, và đánh giá độc tính trước khi tiến hành thử nghiệm lâm sàng [33].

Streptozotocin (STZ) là một dẫn xuất nitrosourea gắn với glucosamine, có

công thức hóa học $C_8H_{15}N_3O_7$, được biết đến như một tác nhân gây độc chọn lọc đối với tế bào β của đảo tụy – nơi có nhiệm vụ tiết insulin. Nhờ khả năng này, STZ được sử dụng rộng rãi để tạo mô hình đái tháo đường thực nghiệm ở động vật, đặc biệt là ở chuột. Sau khi được hấp thu vào tế bào β thông qua chất vận chuyển glucose GLUT2, STZ gây tổn thương DNA bằng phản ứng alkyl hóa, đồng thời kích hoạt quá mức enzyme poly(ADP-ribose) polymerase và làm tăng giải phóng nitric oxide. Chuỗi tác động này dẫn đến suy giảm chức năng và hoại tử tế bào β , gây ra tình trạng tăng đường huyết kéo dài. Tùy thuộc vào liều lượng và phác đồ sử dụng, STZ có thể được áp dụng để gây ra mô hình đái tháo đường typ 1 hoặc typ 2. Ở chuột nhắt, liều thường được sử dụng dao động từ 50–150 mg/kg, trong khi ở chuột cống liều phổ biến nằm trong khoảng 40–100 mg/kg. Đáng lưu ý, mặc dù STZ chủ yếu tấn công tế bào β , nhưng nó cũng có thể gây độc ngoài tụy, bao gồm tổn thương thận và rối loạn chức năng nội mô, điều này cần được cân nhắc khi lựa chọn mô hình thực nghiệm [34], [35].

Alloxan (2,4,5,6-tetraoxypyrimidine) là một pyrimidine được oxy hóa. Dẫn xuất có dạng hydrat alloxan trong dung dịch nước. Alloxan và các sản phẩm khử của nó (điển hình là dialuric axit) tạo ra một phản ứng oxy hóa khử hình thành các gốc superoxide. Các hoạt chất này chuyển hóa thành hydrogen peroxide. Tác động của các loại gốc tự do, phản ứng oxy hóa khử cùng với sự gia tăng đồng thời nồng độ canxi trong tế bào gây ra sự phá hủy nhanh chóng các tế bào β [36].

Một đặc điểm sinh lý bệnh quan trọng của đái tháo đường typ 2 là tình trạng đề kháng insulin tại các mô đích, đồng thời đi kèm với sự thiếu hụt tương đối insulin do tế bào β tuyến tụy bị suy giảm chức năng. Để tái tạo được đặc điểm này trên thực nghiệm, các mô hình gây bệnh thường sử dụng chế độ ăn giàu năng lượng và chất béo nhằm tạo rối loạn chuyển hóa và thúc đẩy đề kháng insulin, sau đó kết hợp với hóa chất gây độc chọn lọc tế bào β ở

mức độ nhẹ để làm giảm tiết insulin. Chuột cống và chuột nhắt là hai loài động vật được sử dụng phổ biến trong các nghiên cứu này. Thông thường, động vật được nuôi bằng khẩu phần giàu lipid trong khoảng 4–8 tuần hoặc lâu hơn để hình thành các rối loạn chuyển hóa mạn tính, sau đó được tiêm các chất gây độc tế bào β như streptozotocin (STZ) ở liều thấp nhằm tạo mô hình thiếu insulin mức độ vừa phải, mô phỏng tương đối chính xác sinh bệnh học của đái tháo đường typ 2 ở người [35].

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Chế phẩm nghiên cứu

Bài thuốc ĐHHV gồm Dây thìa canh 12g và Lá mía 12g, tổng bài thuốc là 24g dược liệu khô.

Bài thuốc được bào chế bằng phương pháp chiết xuất với nước cất (tỷ lệ dược liệu:dung môi = 1:10), chiết nóng (100 độ C), 2 lần (lần 1 đun sôi trong 120 phút, lần 2 đun sôi trong 60 phút). Dịch chiết 2 lần gộp chung, loại tạp, cô dưới áp suất thấp thành cao lỏng 1:1, tiếp đó cô quay chân không thành cao lỏng 5:1.

Trước khi thử nghiệm, tiến hành pha cao 5:1 với nước cất đến các tỷ lệ phù hợp để có được liều phù hợp dùng cho chuột với thể tích cho uống là 0,2ml/10g cân nặng chuột.

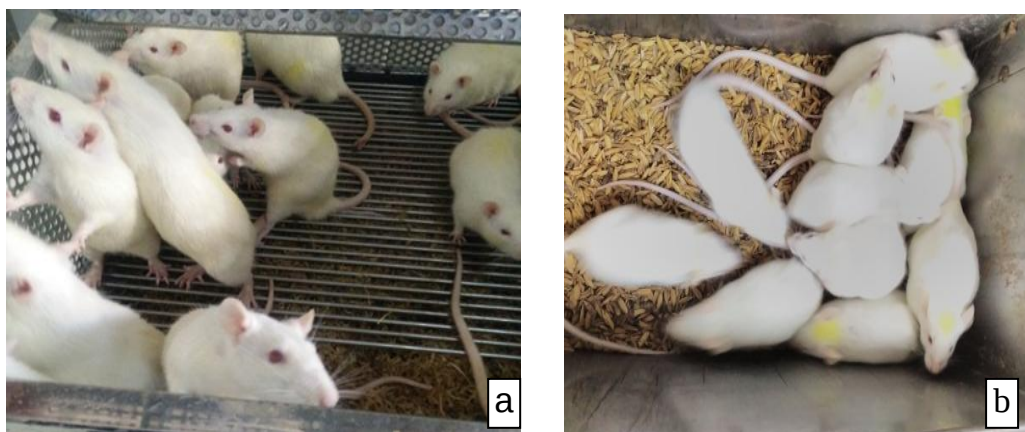
Liều dùng được tính theo g dược liệu khô/kg/ngày. Theo kinh nghiệm dân gian, liều dự kiến sử dụng trên người là 24g/người/ngày [7], [9]. Vậy nên một người 60kg thì liều dùng trung bình dự kiến trên người sẽ là 0,4 g/kg/ngày. Quy đổi theo hệ số quy đổi từ người sang động vật thực nghiệm mà ở đây là chuột cống với hệ số quy đổi là 6,2 thì liều dự kiến có tác dụng sẽ là 2,48 g/kg/ngày, liều trên chuột nhất với hệ số quy đổi là 12,3 thì liều dự kiến có tác dụng trên là 4,92 g/kg/ngày.

Thuốc tham chiếu: Gliclazid Stada 80mg của công ty liên doanh TNHH Stada - Việt Nam - VIỆT NAM. Hộp 6 vỉ x 10, số đăng ký VNB-4629-05. Ngày sản xuất: 11/2024, hạn dùng: 3 năm kể từ ngày sản xuất, liều dùng: liều sử dụng trên chuột nhất là 80mg/kg/ngày.

2.1.2. Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng chủng Swiss và chuột cống trắng chủng Wistar được cung cấp bởi Phòng Nghiên cứu Động vật Thực nghiệm, Học viện Quân y. Tất cả động vật được nuôi thích nghi trong điều kiện tiêu chuẩn tại phòng nuôi động vật thí nghiệm ít nhất một tuần trước khi bắt đầu tiến hành các thí nghiệm.

Các chuột được đưa vào nghiên cứu đều trải qua bước đánh giá tình trạng sức khỏe tổng quát, bao gồm: bộ lông bóng mượt, mắt sáng, vùng hậu môn khô sạch, phản xạ và vận động linh hoạt, khả năng ăn uống bình thường và phân - nước tiểu không có bất thường. Quy trình lựa chọn chuột được thực hiện bởi hai kỹ thuật viên có kinh nghiệm, sau đó được cán bộ nghiên cứu kiểm tra lại nhằm bảo đảm tính đồng nhất và chất lượng mẫu thí nghiệm.



**Hình 2.1. Chuột cống trắng chủng Wistar (a)
và chuột nhắt trắng chủng Swiss (b)**

Chuột được nuôi bằng khẩu phần thức ăn tiêu chuẩn dành cho động vật thí nghiệm và được cung cấp nước sạch đã đun sôi để nguội, uống tự do. Trong suốt quá trình nghiên cứu, tình trạng sức khỏe và các chỉ số theo dõi của chuột được quan sát và ghi chép hằng ngày để phục vụ đánh giá kết quả thí nghiệm.

Bảng 2.1. Số lượng chuột thí nghiệm

Động vật	N	Tiêu chuẩn	Nghiên cứu
Chuột nhắt trắng chủng <i>Swiss</i>	30	Cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 20 - 22g	Đánh giá độc tính cấp
Chuột cống trắng chủng <i>Wistar</i>	30	Cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 180 - 200g	Đánh giá độc tính bán trường diễn
Chuột cống trắng chủng <i>Wistar</i>	50	Giống đực, khỏe mạnh, trọng lượng 180 - 200g	Đánh giá tác dụng hạ đường huyết trên chuột nhắt

2.1.3. Thiết bị nghiên cứu

- Máy phân tích huyết học Humancout 30TS, hãng Human, Đức, sử dụng phần mềm phân tích huyết học dành cho chuột thí nghiệm.
- Máy xét nghiệm sinh hoá Biochemical Systems International Srl, Italia, model 3000 Evolution, hóa chất của hãng.
- Cân phân tích 10^{-4} , model CP224S (Sartorius - Đức).
- Cân điện tử 2200g độ chính xác 0,01g (HL-Nhật Bản)
- Máy ly tâm lạnh Microtube (MikRo 22R, Hettich - Đức).
- Máy đo pH (pH meter F-51, Horiba-Kyoto-Nhật Bản).
- Bộ dụng cụ mổ động vật cỡ nhỏ.
- Kim cong đầu tù chuyên dụng dùng cho chuột uống thuốc (Nhật Bản), loại thích hợp dùng cho chuột nhắt (20 gauge feeding tubes, dài 3,81 cm) hoặc dùng cho chuột cống (16 gauge feeding tubes, dài 7,62 cm).
- Ống mao quản thủy tinh dùng để lấy máu chuột ((Brand™ Micro-haematocrit Capillary Tubes, đường kính trong 1.15 ± 0.05 mm, đường kính ngoài khoảng 1,5 mm).

- Que thử glucose máu và máy đọc kết quả One Touch Profile Metter do hãng Johnson & Johnson sản xuất.
- Máy Elisa 96 giếng - Thermo (Phân Lan). Máy ly tâm lạnh Universal 320 (Hettich - Đức).
- Các thiết bị làm tiêu bản mô bệnh học.
- Một số thiết bị và dụng cụ nghiên cứu khác



Hình 2.2. Máy xét nghiệm sinh hóa (a) Kim đầu tù (b) và cân điện tử (c)

2.1.4. Hóa chất nghiên cứu.

- Các bộ hóa chất xét nghiệm sinh hóa (hóa chất xét nghiệm AST, ALT, albumin, cholesterol toàn phần, creatinin, HDL-Cholesterol, Triglycerit) của hãng MEDIA, sản xuất tại Italia.
- Bộ hóa chất xét nghiệm huyết học toàn bộ của hãng Human, Đức.
- Hematoxylin, Eosin (Sigma) và một số hóa chất làm tiêu bản mô bệnh học khác.
- Streptozotocin, S0130, CAS number 18883-66-4 (Sigma Aldrich, USA).
- Gliclazid, G-2167-5G, CAS number 21187-98-4 (Sigma Aldrich, USA).
- Rat Insulin ELISA Kit, Catalog number 90010 (Crystal Chem USA).

- Nguyên liệu, hóa chất dùng làm hỗn hợp dầu Cholesterol, và làm thức ăn giàu năng lượng chất béo: Pure cholesterol (CAS number 57-88-5, Sigma, Singapore); cholic acid (CAS number 81-25-4, Sigma, Singapore); 5-Propyl-2-thiouracil (PTU, CAS Number 2954-52-1, Sigma, Singapore); dầu lạc (Ngư Quỳnh, Việt Nam), dầu dừa (Vietcoco, Việt Nam), D-Fructose (CAS number 57-48-7, Trung Quốc), Mỡ lợn (Jett Lard - Việt Nam), bột bắp Maizan (Công Ty TNHH TM Tân Nhất Hương, Việt Nam), Men bia Safale S-04 (Pháp), Calcium Carbonate (Trung Quốc).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu độc tính cấp và độc tính bán trường diễn

2.2.1.1. Nghiên cứu độc tính cấp

- **Phương pháp nghiên cứu:** Độc tính cấp của bài thuốc được đánh giá trên chuột nhắt trắng qua đường uống, áp dụng phương pháp Litchfield–Wilcoxon theo đúng quy trình thử nghiệm an toàn tiền lâm sàng do Bộ Y tế ban hành. Phương pháp này cho phép xác định liều gây chết 50% (LD₅₀) nếu có và đánh giá các dấu hiệu bất thường về hành vi, sinh lý của động vật thí nghiệm, qua đó cung cấp cơ sở ban đầu về mức độ an toàn của chế phẩm nghiên cứu [37].

- **Thiết kế nghiên cứu:** Thí nghiệm sử dụng chuột nhắt trắng chủng Swiss, gồm cả đực và cái với số lượng cân bằng, thể trạng khỏe mạnh và có khối lượng trung bình từ 18–20 g. Các động vật được phân bố ngẫu nhiên thành 5 nhóm, mỗi nhóm gồm 10 con (5 đực và 5 cái). Chế phẩm được cho động vật uống một lần duy nhất vào buổi sáng (8–9 giờ), theo đúng hướng dẫn nghiên cứu độc tính cấp.” Trước khi tiến hành cho uống chế phẩm thử nghiệm, chuột được nhịn ăn trong 12 giờ nhưng vẫn được cung cấp nước đầy đủ. Ở mỗi nhóm, chuột được dùng mẫu thử với một liều xác định, và liều lượng được tăng dần giữa các nhóm theo thiết kế thí nghiệm.

- Quy trình thực hiện

Chế phẩm thử được dùng một liều duy nhất, chủ yếu theo đường uống, với liều tính theo mg/kg thể trọng.

Sau khi cho dùng thuốc, động vật được theo dõi liên tục trong 24 giờ đầu, sau đó theo dõi hàng ngày trong 14 ngày. Các chỉ tiêu theo dõi gồm: tỷ lệ tử vong, biểu hiện lâm sàng bất thường (run rẩy, li bì, co giật...), thay đổi cân nặng và hành vi.

Kết thúc thời gian theo dõi, kết quả được dùng để xác định độc tính cấp hoặc ước tính liều gây chết (LD_{50}) hoặc xếp loại mức độ an toàn của chế phẩm theo quy định. Thử nghiệm được thực hiện tuân thủ nguyên tắc đạo đức trong nghiên cứu trên động vật.

- Chỉ tiêu theo dõi:

+ Trong vòng 72 giờ đầu sau khi cho chuột uống thuốc thử, tiến hành theo dõi sát tình trạng chung của từng con chuột. Các biểu hiện cần ghi nhận bao gồm: trạng thái hoạt động (kích động, lơ đãng), khả năng vận động, phản xạ, tình trạng ăn uống, hô hấp, bài tiết, và các dấu hiệu rõ rệt của nhiễm độc như nôn, co giật, run cơ, mất điều hòa vận động hoặc rối loạn hành vi. Đồng thời ghi nhận chính xác số lượng chuột tử vong (nếu có) ở mỗi lô trong khoảng thời gian này.

+ Trên cơ sở những quan sát ban đầu, xác định liều cao nhất không gây tử vong và liều thấp nhất gây tử vong hoàn toàn (100%), đồng thời thiết lập thêm các liều trung gian giữa hai mức này. Các số liệu thu được được sử dụng để xây dựng đồ thị hồi quy tuyến tính, từ đó tính toán và ước lượng giá trị LD_{50} của thuốc thử theo phương pháp thống kê thích hợp.

+ Sau giai đoạn 72 giờ, tiếp tục theo dõi diễn biến sức khỏe của chuột đến hết ngày thứ 14 kể từ liều dùng đầu tiên. Ghi nhận thêm bất kỳ biểu hiện bất thường nào về hành vi, thần kinh, hô hấp, tiêu hóa hoặc các thay đổi thể trạng khác, đồng thời thống kê số lượng chuột tử vong bổ sung để hoàn thiện đánh giá độc tính cấp.

+ Đối với các trường hợp chuột chết trong quá trình theo dõi, tiến hành mổ khám (necropsy) ngay sau khi phát hiện tử vong nhằm quan sát hình thái đại thể các cơ quan như gan, thận, tim, phổi, dạ dày - ruột... Những dấu hiệu tổn thương đại thể (xuất huyết, phù nề, hoại tử, sung huyết...) nếu có sẽ giúp định hướng nguyên nhân tử vong và đánh giá mối liên quan giữa cái chết của động vật và độc tính tiềm tàng của thuốc thử.

2.2.1.2. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn

- **Phương pháp nghiên cứu:** Độc tính bán trường diễn của bài thuốc được đánh giá trên mô hình chuột cống trắng bằng cách cho động vật uống mỗi ngày 1 lần, vào buổi sáng (8–9 giờ) cho dùng chế phẩm liên tục trong 90 ngày, thực hiện theo đúng quy trình thử nghiệm độc tính kéo dài do Bộ Y tế quy định. [37].

- **Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu sử dụng chuột cống trắng chủng Wistar, gồm cả đực và cái với số lượng cân đối, được bố trí ngẫu nhiên vào ba nhóm thí nghiệm, mỗi nhóm gồm 10 con (05 đực và 05 cái). :

+ Lô chứng: uống nước cất với liều 10ml/kg/ngày.

+ Lô trị 1: uống ĐHHV với liều 2,48 g/kg/ngày (tương đương với liều dự kiến áp dụng trên lâm sàng quy đổi ra liều trên chuột cống trắng).

+ Lô trị 2: uống ĐHHV với liều 7,44 g/kg/ngày (bằng ba lần liều của lô trị 1).

Các lô thí nghiệm được cho uống thuốc thử hoặc nước cất mỗi ngày một lần vào buổi sáng, bắt đầu từ 8 giờ, duy trì liên tục trong 90 ngày.

- Quy trình thực hiện

Chế phẩm thử được cho dùng hàng ngày liên tục trong 90 ngày, chủ yếu theo đường uống, với liều tính theo mg/kg thể trọng, trong đó liều thử thường dựa trên kết quả nghiên cứu độc tính cấp.

Trong suốt thời gian nghiên cứu, động vật được theo dõi hàng ngày về tình trạng chung, hành vi, dấu hiệu lâm sàng bất thường, tỷ lệ sống, và cân nặng được ghi nhận định kỳ. Cuối thời gian 90 ngày, tiến hành lấy máu xét nghiệm huyết học và sinh hóa máu để đánh giá chức năng gan, thận và các chỉ số liên quan.

Sau khi kết thúc thí nghiệm, động vật được mổ khám đại thể các cơ quan, cân các tạng chính (gan, thận, tim, lách...), và làm mô bệnh học nhằm phát hiện các tổn thương vi thể (nếu có). Kết quả được sử dụng để đánh giá mức độ an toàn và khả năng gây độc của chế phẩm khi dùng kéo dài.

Thử nghiệm được thực hiện tuân thủ các nguyên tắc đạo đức trong nghiên cứu trên động vật.

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

Trong quá trình nghiên cứu, các chỉ tiêu an toàn được theo dõi toàn diện. Trước hết, tình trạng chung và sự biến đổi thể trọng của chuột được ghi nhận định kỳ nhằm đánh giá ảnh hưởng tổng thể của bài thuốc. Thông qua các chỉ huyết học cơ bản gồm số lượng hồng cầu, thể tích trung bình của hồng cầu, hemoglobin, hematocrit, số lượng bạch cầu và tiểu cầu để khảo sát chức năng tạo máu. Bên cạnh đó, chức năng gan được thăm dò bằng cách định lượng các enzym và hoạt chất trong huyết thanh như ALT, AST, albumin và cholesterol toàn phần; còn chức năng thận được đánh giá dựa bằng chỉ số nồng độ creatinin máu.

Các chỉ số này được tiến hành xét nghiệm tại ba thời điểm: trước khi dùng thuốc, sau 45 ngày và sau 90 ngày uống thuốc. Kết thúc giai đoạn 90 ngày, tiến hành mổ lấy ngẫu nhiên 30% số chuột của mỗi lô để quan sát đại thể các cơ quan nội tạng. Đồng thời, mẫu gan và thận được lấy làm tiêu bản nhuộm HE tại Bộ môn Giải phẫu bệnh – Bệnh viện 103 nhằm khảo sát sự biến đổi cấu trúc vi thể của các cơ quan này giữa các nhóm nghiên cứu.

2.2.2. Đánh giá tác dụng hạ glucose máu của bài thuốc ĐHHV trên chuột công gây đái tháo đường típ II

2.2.2.1. Gây mô hình đái tháo đường type 2 trên chuột công trắng

Gây đái tháo đường type 2 trên chuột công trắng bằng cách cho chuột công ăn chế độ ăn giàu năng lượng và chất béo (chế độ HFD) kết hợp với streptozotocin (STZ) liều thấp, theo phương pháp của David Miaffo và cộng sự, 2020 [38].

Chuột công được chia làm 2 nhóm. Chuột ở nhóm 1 ($n = 10$) được nuôi bằng chế độ ăn NFD (normal fat diet), chuột ở nhóm 2 ($n \geq 60$) được nuôi bằng chế độ ăn HFD (high fat diet). Chuột được cho ăn chế độ ăn HFD trong 4 tuần liên tiếp.

Thành phần chế độ ăn được trình bày ở bảng 2.2.

Bảng 2.2. Thành phần thức ăn cho chuột sử dụng trong nghiên cứu

Thành phần	Chế độ ăn NFD (%) (normal fat diet)	Chế độ ăn HFD (%) (high fat diet)
Protein	28,05	18,23
Chất béo	12,14	7,91
Mỡ lợn	0	35,09
Carbohydrate	59,81	38,77
Tổng (g)	100	100
Calor (kcal)	460,5	615,0

Sau 4 tuần, chuột ở nhóm 2 được tiêm streptozotocin (STZ) 35mg/kg (pha trong citrate buffer 0,1M, pH 4,5) vị trí tiêm là phúc mạc. Chuột ở nhóm 1 tiêm citrate buffer 0,1M, pH 4,5. Tại thời điểm 72 giờ sau tiêm STZ, xét nghiệm glucose máu chuột. Những chuột có glucose máu ≥ 200 mg/dL được coi là bị ĐTĐ.

*** Cách pha Streptozotocin để tiêm cho chuột:**

Streptozotocin (STZ) dạng bột đông khô (Sigma, Hoa Kỳ) được bảo quản ở tủ -30°C , khi sử dụng sẽ được hòa tan trong buffer sodium citrat 0.1 M pH 4.5.

Vật liệu: Na-Citrat, axit citric, Streptozotocin, nước khử ion.

Các bước thực hiện:

- Hòa tan 14,71 g Na-Citrat trong 200 ml nước.
- Hòa tan 20,1 g axit citric trong 200 ml nước.
- Trộn 0,1 M Na-Citrat và 0,1 M axit Citric.
- Điều chỉnh pH đến 4,5 bằng axit Citric 0,1 M.
- Hòa tan streptozotocin trong dung dịch đệm Na-Citrate.

2.2.2.2. Quy trình thực hiện

Mô hình đái tháo đường thực nghiệm được gây bằng hóa chất (như streptozotocin hoặc alloxan) theo quy trình chuẩn. Sau khi xác định động vật đạt tiêu chuẩn tăng đường huyết, chuột được chia thành nhóm chứng, nhóm điều trị bằng chế phẩm nghiên cứu (một hoặc nhiều liều khác nhau) và nhóm đối chứng dương (thuốc hạ đường huyết chuẩn).

Chế phẩm thử được cho uống bằng đường uống, 1 lần/ngày, vào cùng một thời điểm cố định trong ngày (thường vào buổi sáng, từ 8–9 giờ), liên tục trong thời gian nghiên cứu. Nồng độ glucose máu được đo trước khi dùng thuốc và tại các thời điểm xác định sau dùng để đánh giá mức độ hạ đường huyết. Trong suốt quá trình nghiên cứu, theo dõi tình trạng chung, cân nặng và các biểu hiện lâm sàng của động vật.

Kết quả thu được được sử dụng để đánh giá tác dụng hạ đường huyết của chế phẩm, so sánh với nhóm chứng và nhóm đối chứng dương, từ đó xác định hiệu quả và xu hướng tác dụng của thuốc nghiên cứu.

2.2.2.3. *Đánh giá tác dụng hạ đường huyết của ĐHHV*

Chuột nhóm 1 được đưa vào lô 1 (lô chứng). Các chuột đạt tiêu chuẩn đái tháo đường ở nhóm 2 được chia thành 4 lô (lô 2 đến lô 5). Các lô thí nghiệm cụ thể như sau (mỗi lô 10 chuột):

- Lô 1 (lô chứng): uống nước cất.
- Lô 2 (lô mô hình): uống nước cất.
- Lô 3 (tham chiếu): uống Gliclazid liều 80mg/kg.
- Lô 4 (ĐHHV-1): uống ĐHHV 4,92 g/kg/ngày.
- Lô 5 (ĐHHV-2): uống ĐHHV 9,84 g/kg/ngày.

Chuột được uống nước cất hoặc thuốc thử (theo phân lô) liên tục trong 28 ngày, trong thời gian này các chuột gây ĐTD vẫn duy trì chế độ ăn HFD.

Đánh giá khối lượng chuột, lượng thức ăn, nước uống, thể tích nước tiểu. Chuột được nhịn ăn qua đêm, lấy máu toàn phần từ hốc mắt chuột định lượng glucose máu, insulin máu (insulin máu được đo bằng ELISA)- kit thử (Rat Insulin ELISA Kit - Crystal Chem USA). Các chỉ số được đánh giá tại các thời điểm To (ngay trước uống thuốc), và Tc (sau uống thuốc ngày cuối 1 giờ).

Tính toán một số chỉ số đánh giá sự kháng insulin, gồm:

+ HOMA-IR (homeostatic model assessment of insulin-resistance – chỉ số đánh giá cân bằng nội môi của sự kháng insulin):

$$\text{HOMA-IR} = \text{glucose máu (mg/dL)} \times \text{insulin máu (\mu IU/mL)} / 405$$

+ HOMA- β (homeostatic model assessment of pancreatic β -cell function - chỉ số đánh giá cân bằng nội môi của chức năng tế bào β tụy tạng):

$$\text{HOMA-}\beta = 20 \times \text{insulin máu (\mu IU/mL)} / (\text{glucose máu (mMol/L)} - 3.5)$$

+ QUICKI (quantitative insulin sensitivity check index - chỉ số kiểm tra độ nhạy insulin định lượng):

$$\text{QUICKI} = 1 / (\log \text{glucose máu (mg/dL)} + \log \text{insulin máu (\mu IU/mL)})$$

+ DI (insulin disposition index – chỉ số sắp xếp Insulin):

$$DI = HOMA-\beta/HOMA-IR$$

Sau khi lấy máu xét nghiệm Glucose và Insulin, mổ chuột, tách nhanh lấy tụy làm mô bệnh học. Đánh giá các thay đổi về khối lượng tuyến tụy (% so với cân nặng cơ thể).

$$\text{Phần trăm khối lượng tụy} = (\text{Khối lượng tụy/khối lượng chuột}) \times 100 (\%)$$

Tạng lấy ra được cố định ngay trong dung dịch formalin 10%. Tiến hành làm tiêu bản mô bệnh học nhuộm HE (hematoxylin & eosin) tụy của chuột. Tiêu bản mô bệnh học tụy của chuột được thực hiện và đọc kết quả tại khoa Giải phẫu bệnh pháp y - bệnh viện 103.

So sánh giữa các lô về nồng độ glucose máu, insulin máu và các chỉ số đánh giá sự kháng insulin để rút ra kết luận về tác dụng của thuốc thử.

2.3. Địa điểm nghiên cứu:

Nghiên cứu được tiến hành tại Bộ môn Dược lý, Viện Đào tạo Dược, Học viện quân y. Cơ quan đọc tiêu bản: Bộ môn Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Quân Y 103.

2.4. Thời gian nghiên cứu

Thời gian: nghiên cứu được tiến hành từ tháng 01/2025 đến tháng 9/2025.

2.5. Thiết kế nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu thực nghiệm có đối chứng.

2.6. Xử lý số liệu

Các kết quả được trình bày dưới dạng Mean $\pm$ SD. Tính toán dựa theo phần mềm Microsoft excel. So sánh sự khác biệt giữa các lô sử dụng test One-way ANOVA (LDS test); so sánh sự khác biệt giữa các thời điểm trong cùng lô sử dụng test Paired Samples T test. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.7. Sai số và biện pháp khắc phục

Trong quá trình tiến hành thí nghiệm và xử lý số liệu, các biện pháp sau được áp dụng nhằm giảm thiểu tối đa sai số có thể ảnh hưởng đến kết quả nghiên cứu:

Động vật thí nghiệm được tuyển chọn đồng nhất về thể trạng, khỏe mạnh, không mang dị tật hay biểu hiện bất thường trước khi tiến hành thí nghiệm.

Các bước thực nghiệm được thực hiện đồng bộ, tuân thủ thời gian cố định giữa các lô nhằm hạn chế sai lệch do yếu tố thời gian.

Dữ liệu được thu thập chính xác bằng các thiết bị và dụng cụ đã được hiệu chuẩn, đảm bảo độ tin cậy và tính lặp lại cao.

Quá trình xử lý số liệu được thực hiện bằng phần mềm thống kê chuyên dụng để tăng tính khách quan và giảm thiểu lỗi chủ quan trong phân tích.

Các tiêu chí đánh giá được xác định rõ ràng, thống nhất, giúp đảm bảo rằng kết quả phản ánh đúng mục tiêu nghiên cứu.

Tất cả số liệu và thông tin liên quan được lưu trữ cẩn thận thông qua sổ tay thí nghiệm, hình ảnh và các tài liệu ghi chép nhằm phục vụ kiểm tra, đối chiếu khi cần thiết.

2.8. Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu đã được Hội đồng khoa học của Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam xem xét và phê duyệt đề cương, đồng thời được triển khai theo đúng nội dung và quy trình đã được thông qua. Các thí nghiệm được tiến hành trên chuột cống trắng và chuột nhắt trắng với số lượng động vật được sử dụng ở mức cần thiết, nhằm đảm bảo vừa đáp ứng yêu cầu về độ tin cậy của số liệu, vừa tuân thủ nguyên tắc giảm thiểu tối đa số lượng động vật thí nghiệm. Toàn bộ quá trình thu thập và xử lý số liệu được thực hiện trung thực, khách quan và đúng quy định.

Việc lựa chọn động vật, điều kiện chăm sóc – nuôi dưỡng và các thao tác liên quan tới sử dụng động vật thí nghiệm đều được thực hiện nghiêm túc theo các quy định hiện hành của Bộ Y tế, cụ thể là “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” [30].

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp

Kết quả theo dõi số chuột sống/chết trong nghiên cứu độc tính cấp của ĐHHV được trình bày ở bảng 3.1.

***Bảng 3.1. Số chuột sống/chết trong nghiên cứu độc tính cấp
của bài thuốc ĐHHV***

Lô chuột	Số chuột	Thể tích cho uống	Liều dùng (g/kg thể trọng)	Số chuột sống/chết sau 72 giờ cũng như sau 14 ngày
Lô 1	10	0,2ml/10g/lần x 3 lần, cách nhau 3 tiếng	15g/kg	10 / 0
Lô 2	10		30g/kg	10 / 0
Lô 3	10		60g/kg	10 / 0

Nhận xét:

Trong suốt quá trình thử nghiệm, các lô chuột được cho uống thuốc ở các mức liều từ 15 g/kg đến 60 g/kg. Kết quả theo dõi cho thấy không có bất kỳ con chuột nào tử vong ở tất cả các mức liều được sử dụng.

Trong thời gian quan sát kéo dài 14 ngày sau khi uống thuốc, các biểu hiện lâm sàng của chuột ở từng lô đều được ghi nhận cẩn thận. Kết quả cho thấy:

- Hành vi vận động: tất cả chuột đều duy trì hoạt động bình thường, không xuất hiện dấu hiệu giảm linh hoạt hay kích thích bất thường.

- Chất thải (phân, nước tiểu): màu sắc, tần suất và tính chất đều trong giới hạn sinh lý bình thường, không ghi nhận hiện tượng tiêu chảy, táo bón hay tiêu bất thường.

- Hô hấp: nhịp thở ổn định, không phát hiện tình trạng thở gấp, thở rít hoặc bất kỳ dấu hiệu bất thường nào liên quan đến hệ hô hấp.

- Da và lông: lông mượt, da không xuất hiện kích ứng, đỏ, rụng lông khu trú hay tổn thương ngoài da.

Tổng hợp các kết quả quan sát cho thấy tất cả chuột trong các lô thí nghiệm đều khỏe mạnh, không xuất hiện dấu hiệu nhiễm độc hay bất thường nào trong suốt 14 ngày theo dõi sau khi uống thuốc. Điều này gợi ý rằng các mức liều từ 15 - 60 g/kg có thể được xem là an toàn trên thử nghiệm độc tính cấp ở chuột nhắt trắng

So với liều dự kiến có tác dụng 4,92g/kg, chuột đã uống đến liều 60g/kg tức liều cao gấp 12,2 lần, mà không có biểu hiện độc tính, không có chuột chết, chứng tỏ bài thuốc ĐHHV an toàn trong nghiên cứu độc tính cấp.

3.2. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn

3.2.1. Tình trạng chung và cân nặng chuột

a. Tình trạng chung

Chuột cống trắng được theo dõi và ghi chép về tình trạng chung hàng ngày, bao gồm: mức độ hoạt động, khả năng ăn, uống, tình trạng lông – da – niêm mạc và các loại sản phẩm bài tiết. Kết quả quan sát cho thấy chuột ở cả lô chứng và các lô được sử dụng ĐHHV đều duy trì hoạt động bình thường. Lông chuột mượt, da và niêm mạc không có bất thường, ăn uống tốt và phân bài xuất có khuôn, không ghi nhận dấu hiệu rối loạn tiêu hóa.

b. Sự thay đổi thể trọng của chuột

Bảng 3.2. Cân nặng chuột ở các lô nghiên cứu
($n = 10$ ở mỗi lô, Mean $\pm$ SD).

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	P giữa các lô
Trọng lượng cơ thể				
N0 (a)	188,20 $\pm$ 8,16	189,40 $\pm$ 8,22	186,30 $\pm$ 8,81	p ₂₋₁ > 0,05 p ₃₋₁ > 0,05 p ₃₋₂ > 0,05
N45 (b)	203,50 $\pm$ 9,26	207,30 $\pm$ 10,57	201,90 $\pm$ 9,13	
N90 (c)	221,70 $\pm$ 11,56	223,40 $\pm$ 12,08	220,50 $\pm$ 10,38	
P trong cùng lô	p _{b,c-a} < 0,01; p _{c-b} < 0,01			-

Nhận xét:

Ngay từ thời điểm khởi đầu thí nghiệm, thể trọng của chuột ở tất cả các lô được xác định là tương đương nhau, không xuất hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Trong suốt quá trình theo dõi, khi đối chiếu thể trọng tại các mốc đánh giá với thời điểm trước can thiệp, cả ba lô nghiên cứu đều cho thấy xu hướng tăng cân rõ rệt và sự gia tăng này đạt ý nghĩa thống kê cao ($p < 0,01$). Đáng chú ý, sau 45 ngày và 90 ngày sử dụng ĐHHV, thể trọng của chuột ở các lô uống thuốc vẫn duy trì ở mức tương đương với lô chứng sinh lý, không ghi nhận sự sai khác đáng kể nào ($p > 0,05$). Từ những kết quả này có thể khẳng định rằng, việc dùng ĐHHV ở các liều lượng và thời gian khảo sát trong nghiên cứu không gây ảnh hưởng bất lợi đến sự phát triển thể trọng của chuột, cho thấy thuốc không làm thay đổi quá trình tăng trưởng tự nhiên của động vật thí nghiệm.

3.2.2. Một số chỉ tiêu huyết học của chuột.

Kết quả được trình bày ở các bảng 3.3, 3.4 và 3.5.

Bảng 3.3. Số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố máu chuột
($n = 10$ ở mỗi lô, Mean $\pm$ SD).

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	Pgiữa các lô
Số lượng hồng cầu chuột($\times 10^{12}$ g/l)				
N0 (a)	8,78 $\pm$ 0,30	8,31 $\pm$ 1,32	8,85 $\pm$ 1,00	p ₂₋₁ > 0,05 p ₃₋₁ > 0,05 p ₃₋₂ > 0,05
N45 (b)	9,00 $\pm$ 0,45	9,37 $\pm$ 0,81	9,24 $\pm$ 0,76	
N90 (c)	9,26 $\pm$ 0,64	9,31 $\pm$ 0,98	9,55 $\pm$ 0,73	
Ptrong cùng lô	p _{b,c-a} > 0,05;p _{c-b} > 0,05			-
Hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột (g/L)				
N0 (a)	152,20 $\pm$ 5,22	149,80 $\pm$ 20,68	159,80 $\pm$ 15,92	p ₂₋₁ > 0,05 p ₃₋₁ > 0,05 p ₃₋₂ > 0,05
N45 (b)	162,30 $\pm$ 18,23	156,40 $\pm$ 19,55	166,20 $\pm$ 16,96	
N90 (c)	160,40 $\pm$ 16,41	162,00 $\pm$ 18,54	164,90 $\pm$ 15,26	
Ptrong cùng lô	p _{b,c-a} > 0,05;p _{c-b} > 0,05			-

Nhận xét:

Khi tiến hành so sánh giữa các lô thí nghiệm tại cùng một thời điểm, kết quả cho thấy số lượng hồng cầu cũng như hàm lượng huyết sắc tố (Hb) trong máu chuột không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các lô nghiên cứu ($p > 0,05$). Điều này chứng tỏ rằng việc sử dụng ĐHHV ở các mức liều khác nhau không làm xuất hiện sự thay đổi đáng kể nào về hai chỉ tiêu huyết học này khi đối chiếu các nhóm với nhau tại từng thời điểm khảo sát.

Đồng thời, khi so sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, các kết quả thu được cũng cho thấy không có sự biến động có ý nghĩa thống kê đối với số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố theo thời gian ($p > 0,05$). Nói cách khác, trong suốt quá trình theo dõi, các chỉ số này trong mỗi lô đều duy trì tương đối ổn định và không chịu ảnh hưởng đáng kể của thời gian sử dụng chế phẩm.

Từ các kết quả thu được, có thể nhận định rằng việc sử dụng ĐHHV ở các mức liều và thời gian khảo sát trong nghiên cứu không làm phát sinh bất kỳ biến đổi đáng kể nào đối với số lượng hồng cầu cũng như hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột.

Bảng 3.4. Hematocrit và thể tích trung bình hồng cầu máu chuột
(*n* = 10 ở mỗi lô, Mean ± SD).

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	P giữa các lô
Hematocrit (%)				
N0 (a)	42,53 ± 2,34	43,30 ± 3,55	44,24 ± 4,31	p ₂₋₁ > 0,05 p ₃₋₁ > 0,05 p ₃₋₂ > 0,05
N45 (b)	44,94 ± 2,85	46,31 ± 3,17	45,74 ± 2,39	
N90 (c)	45,73 ± 3,61	44,79 ± 4,48	47,30 ± 2,09	
P _{trong cùng lô}	p _{b,c-a} > 0,05; p _{c-b} > 0,05			-
Thể tích trung bình hồng cầu (fl)				
N0 (a)	48,50 ± 1,27	49,10 ± 2,18	48,80 ± 2,04	p ₂₋₁ > 0,05 p ₃₋₁ > 0,05 p ₃₋₂ > 0,05
N45 (b)	49,30 ± 2,21	49,50 ± 1,84	49,90 ± 2,85	
N90 (c)	49,80 ± 2,25	50,10 ± 3,00	49,50 ± 2,84	
P _{trong cùng lô}	p _{b,c-a} > 0,05; p _{c-b} > 0,05			-

Nhận xét:

Khi tiến hành so sánh giá trị hematocrit và thể tích trung bình hồng cầu (MCV) giữa các lô thí nghiệm tại cùng một thời điểm đo, kết quả cho thấy sự biến thiên của hai chỉ số này không đạt mức ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Điều này chứng tỏ rằng, tại mỗi thời điểm khảo sát, không có sự khác biệt đáng kể giữa các nhóm chuột được xử lý bằng các mức liều khác nhau so với nhóm đối chứng.

Bên cạnh đó, khi so sánh sự thay đổi của hematocrit và MCV theo thời gian trong từng lô riêng biệt, kết quả cũng cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các thời điểm theo dõi ($p > 0,05$). Nói cách khác, trong phạm vi thời gian tiến hành nghiên cứu, các chỉ số này tương đối ổn định và không ghi nhận sự dao động đáng kể trong nội bộ từng nhóm.

Từ các dữ liệu trên, có thể kết luận rằng ĐHHV, với các mức liều và thời gian sử dụng được áp dụng trong nghiên cứu, chưa cho thấy tác động làm thay đổi các chỉ tiêu huyết học liên quan đến hematocrit và thể tích trung bình hồng cầu ở chuột thí nghiệm. Các thông số này nhìn chung duy trì ở mức ổn định, không chịu ảnh hưởng rõ rệt từ việc sử dụng ĐHHV trong mô hình nghiên cứu hiện tại.

**Bảng 3.5. Số lượng bạch cầu và tiểu cầu trong máu chuột
($n = 10$ ở mỗi lô, Mean $\pm$ SD).**

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	Pgiữa các lô
Số lượng bạch cầu (G/l)				
N0 (a)	7,91 ± 1,04	7,74 ± 1,77	7,32 ± 0,80	p ₂₋₁ > 0,05
N45 (b)	7,44 ± 1,82	7,21 ± 0,73	7,63 ± 0,88	p ₃₋₁ > 0,05
N90 (c)	7,27± 1,11	7,76 ± 1,03	7,39 ± 1,02	p ₃₋₂ > 0,05
Ptrong cùng lô	p _{b,c-a} > 0,05; p _{c-b} > 0,05			-
Số lượng tiểu cầu (G/l)				
N0 (a)	794,60 ± 135,51	748,50 ± 139,76	772,00 ± 94,20	p ₂₋₁ > 0,05
N45 (b)	701,10 ± 169,10	712,10 ± 79,91	680,60 ± 168,05	p ₃₋₁ > 0,05
N90 (c)	735,80 ± 165,39	690,60 ± 57,32	722,50 ± 109,31	p ₃₋₂ > 0,05
Ptrong cùng lô	p _{b,c-a} > 0,05; p _{c-b} > 0,05			-

Nhận xét:

Khi tiến hành so sánh giữa các lô thí nghiệm tại từng thời điểm khác nhau, kết quả cho thấy số lượng bạch cầu và số lượng tiểu cầu trong máu chuột không có sự biến đổi đáng kể. Tất cả các so sánh đều cho giá trị $p > 0,05$, chứng tỏ sự khác biệt giữa các lô là không có ý nghĩa thống kê.

Đồng thời, khi đánh giá sự thay đổi theo thời gian trong từng lô thí nghiệm, kết quả cũng cho thấy số lượng bạch cầu và tiểu cầu không có sự thay đổi rõ rệt. Các phép kiểm định thống kê đều cho thấy $p > 0,05$, nghĩa là trong cùng một lô, sự biến thiên theo thời gian của các chỉ số huyết học này không đạt mức ý nghĩa thống kê.

Từ các kết quả trên có thể kết luận rằng: việc sử dụng ĐHHV ở các mức liều và trong khoảng thời gian áp dụng như trong nghiên cứu không gây ra bất kỳ thay đổi đáng kể nào đối với số lượng bạch cầu và số lượng tiểu cầu của chuột thực nghiệm.

3.2.3. Đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan khi dùng ĐHHV dài ngày.

Kết quả được trình bày ở bảng 3.6.

Bảng 3.6. Hoạt độ AST và ALT máu chuột ($n = 10$ ở mỗi lô, Mean $\pm$ SD).

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	Pgiữa các lô
Hoạt độ AST (UI/l)				
N0 (a)	97,50 ± 12,14	92,30 ± 16,63	95,20 ± 17,31	p ₂₋₁ > 0,05
N45 (b)	98,20 ± 11,33	94,60 ± 16,67	93,70 ± 17,55	p ₃₋₁ > 0,05
N90 (c)	96,10 ± 15,97	93,10 ± 17,55	91,90 ± 18,14	p ₃₋₂ > 0,05
Ptrong cùng lô	p _{b,c-a} > 0,05; p _{c-b} > 0,05			-
Hoạt độ ALT (UI/l)				
N0 (a)	108,20 ± 21,96	119,20 ± 10,98	115,90 ± 19,48	p ₂₋₁ > 0,05
N45 (b)	111,90 ± 26,72	114,40 ± 13,08	116,80 ± 29,77	p ₃₋₁ > 0,05
N90 (c)	116,40 ± 21,18	112,10 ± 15,49	114,10 ± 19,27	p ₃₋₂ > 0,05
Ptrong cùng lô	p _{b,c-a} > 0,05; p _{c-b} > 0,05			-

Nhận xét:

Khi tiến hành so sánh hoạt độ các enzym AST và ALT giữa các lô thí nghiệm tại cùng một thời điểm, kết quả cho thấy sự thay đổi giá trị trung bình của hai enzym này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Điều này chứng tỏ rằng giữa các nhóm chuột được xử lý bằng những mức liều ĐHHV khác nhau và nhóm đối chứng không có sự khác biệt đáng kể về mức độ biến đổi các enzym chỉ điểm cho tổn thương gan.

Tương tự, khi so sánh sự thay đổi hoạt độ AST và ALT theo thời gian trong từng lô (tức là so sánh giữa các thời điểm khác nhau trong cùng một nhóm chuột), kết quả cũng cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Điều này cho thấy rằng trong suốt quá trình nghiên cứu, việc sử dụng ĐHHV ở các mức liều đã thử nghiệm không dẫn đến biến động đáng kể về hoạt độ hai enzym này.

Từ những phân tích trên, có thể khẳng định rằng ĐHHV, ở các mức liều và thời gian sử dụng được khảo sát trong nghiên cứu, không gây ra sự thay đổi có ý nghĩa thống kê đối với hoạt độ enzym AST và ALT trong máu chuột.

3.2.4. Đánh giá ảnh hưởng lên chức năng gan khi dùng ĐHHV dài ngày.

Kết quả được trình bày ở bảng 3.7

Bảng 3.7. Albumin và Cholesterol toàn phần máu chuột
($n = 10$ ở mỗi lô, Mean $\pm$ SD).

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	P giữa các lô
Albumin huyết tương (g/l)				
N0 (a)	31,70 ± 1,89	32,30 ± 1,34	32,60 ± 0,97	p ₂₋₁ > 0,05 p ₃₋₁ > 0,05 p ₃₋₂ > 0,05
N45 (b)	30,70 ± 2,91	31,10 ± 1,85	31,80 ± 2,39	
N90 (c)	30,10 ± 1,85	31,50 ± 1,84	30,90 ± 2,77	
P trong cùng lô	p _{b,c-a} > 0,05; p _{c-b} > 0,05			-
Cholesterol toàn phần (mmol/l)				
N0 (a)	1,80 ± 0,23	1,77 ± 0,21	1,82 ± 0,24	p ₂₋₁ > 0,05 p ₃₋₁ > 0,05 p ₃₋₂ > 0,05
N45 (b)	1,75 ± 0,15	1,72 ± 0,24	1,79 ± 0,20	
N90 (c)	1,70 ± 0,27	1,74 ± 0,20	1,76 ± 0,22	
P trong cùng lô	p _{b,c-a} > 0,05; p _{c-b} > 0,05			-

Nhận xét:

Khi tiến hành so sánh giữa các lô thí nghiệm tại cùng một thời điểm, kết quả cho thấy các chỉ số albumin huyết thanh và cholesterol toàn phần trong máu của chuột không có sự khác biệt đáng kể. Các giá trị thu được dao động trong giới hạn sinh lý bình thường và sự khác biệt giữa các lô đều không đạt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Điều này chứng tỏ rằng việc phân chia các lô cũng như các mức liều can thiệp không tạo ra sự sai lệch đáng kể về hai chỉ số sinh hóa này tại từng thời điểm đo.

Đồng thời, khi tiến hành so sánh sự thay đổi của từng lô qua các thời điểm khác nhau trong suốt quá trình thí nghiệm, các chỉ số albumin và cholesterol toàn phần cũng không ghi nhận sự biến thiên rõ rệt. Các giá trị đo được ở các thời điểm trước và sau can thiệp trong cùng một lô không có sự thay đổi có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), cho thấy diễn tiến tự nhiên của hai chỉ số này ổn định và không bị ảnh hưởng bởi thời gian sử dụng chế phẩm.

Từ những phân tích trên có thể kết luận rằng: việc sử dụng ĐHHV ở các mức liều và thời gian áp dụng trong nghiên cứu không gây ra bất kỳ sự thay đổi có ý nghĩa thống kê nào đối với nồng độ albumin huyết thanh và cholesterol toàn phần trong máu của chuột thực nghiệm. Điều này cho thấy ĐHHV không tác động bất lợi lên hai chỉ tiêu hóa sinh quan trọng này trong điều kiện nghiên cứu được tiến hành.

3.2.5. Đánh giá ảnh hưởng lên chức năng thận khi dùng ĐHHV dài ngày.

Kết quả được trình bày ở bảng 3.8.

Bảng 3.8. Hàm lượng creatinin máu chuột ($n = 10$ ở mỗi lô, Mean $\pm$ SD).

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	P giữa các lô
Creatinin ($\mu\text{mol/l}$)				
N0 (a)	89,90 $\pm$ 12,84	84,90 $\pm$ 6,90	86,40 $\pm$ 8,55	$p_{2-1} > 0,05$
N45 (b)	88,20 $\pm$ 11,54	85,50 $\pm$ 6,10	84,50 $\pm$ 10,67	$p_{3-1} > 0,05$
N90 (c)	81,30 $\pm$ 15,31	80,30 $\pm$ 7,67	82,50 $\pm$ 7,35	$p_{3-2} > 0,05$
P trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05$; $p_{c-b} > 0,05$			-

Nhận xét:

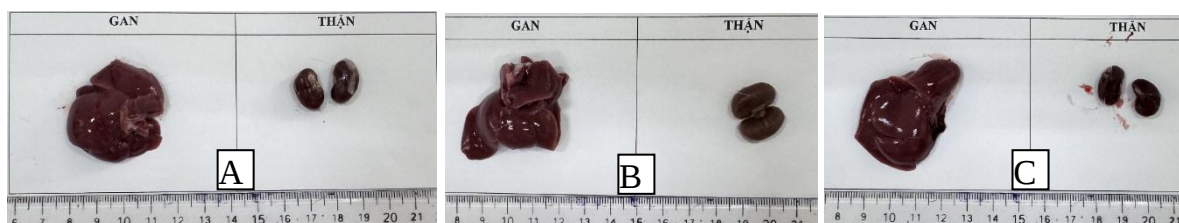
Khi tiến hành so sánh giá trị creatinin máu của các nhóm chuột tại cùng một thời điểm trong quá trình thí nghiệm, kết quả cho thấy sự khác biệt giữa các nhóm là không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Điều này chứng tỏ rằng, tại từng thời điểm đo, mức creatinin máu của các lô hầu như tương đương nhau và không chịu ảnh hưởng đáng kể từ sự khác biệt về liều dùng hay điều kiện xử lý giữa các nhóm.

Bên cạnh đó, khi đánh giá sự thay đổi hàm lượng creatinin máu theo thời gian trong từng lô thí nghiệm, kết quả phân tích cũng cho thấy không có sự thay đổi có ý nghĩa thống kê giữa các thời điểm quan sát ($p > 0,05$). Nói cách khác, trong nội bộ mỗi lô, nồng độ creatinin máu không có xu hướng tăng hoặc giảm đáng kể trong suốt quá trình nghiên cứu.

Từ các kết quả trên, có thể kết luận rằng việc sử dụng ĐHHV ở các mức liều khác nhau và trong khoảng thời gian được áp dụng trong nghiên cứu không gây ra sự thay đổi đáng kể nào đối với hàm lượng creatinin máu của chuột. Điều này cho thấy ĐHHV, trong phạm vi điều kiện và liều lượng nghiên cứu, không ảnh hưởng đến chức năng lọc của thận biểu hiện qua chỉ số creatinin huyết thanh.

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

Quan sát đại thể bằng mắt thường kết hợp với soi dưới kính lúp có độ phóng đại 25 lần cho thấy các đặc điểm về màu sắc và hình thái của gan và thận ở hai lô động vật được sử dụng dược liệu ĐHHV không có sự khác biệt đáng kể so với lô chứng. Cụ thể, gan của tất cả các nhóm đều giữ màu nâu đỏ tự nhiên, bề mặt nhẵn, ranh giới thùy rõ, không xuất hiện các dấu hiệu bất thường như tụ huyết, hoại tử hay biến dạng cấu trúc. Tương tự, thận của các nhóm đều có màu đỏ sẫm đồng nhất, kích thước cân đối, không ghi nhận hiện tượng phù nề, xuất huyết hay biến dạng đại thể.



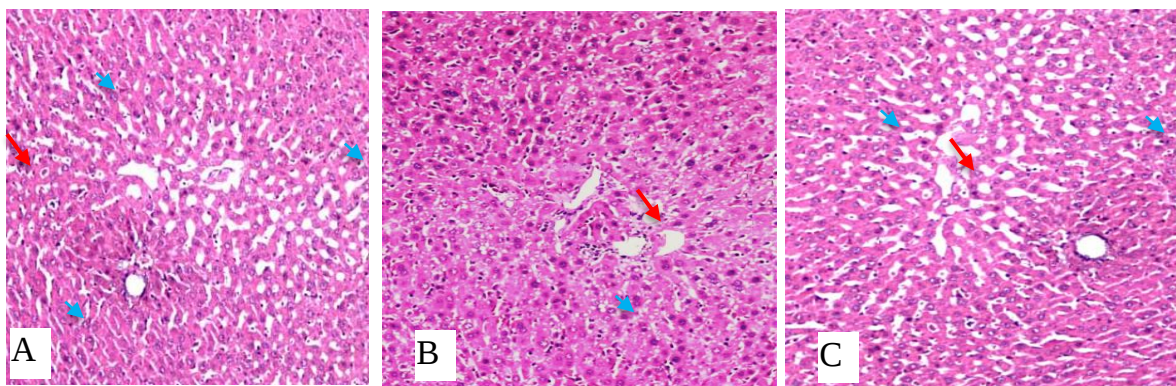
Ảnh 3.1: Hình ảnh đại thể gan, thận chuột lô chứng (A), lô trị 1 (B) và lô trị 2 (C)

Nhận xét ảnh:

Hình ảnh đại thể của gan và thận quan sát được ở các lô trị 1 (ảnh 3.1.B) và lô trị 2 (ảnh 3.1.C) – là các lô được cho uống dịch chiết ĐHHV – cho thấy các tạng có màu nâu đỏ thẫm đồng nhất trên toàn bề mặt. Cấu trúc bên ngoài của gan và thận ở hai lô này đều nhẵn, không xuất hiện bất kỳ tổn thương đại thể nào như các khối u, nốt bất thường, vùng lõm hoặc các điểm xuất huyết. Đồng thời, kích thước và hình dạng chung của các tạng cũng không ghi nhận sự thay đổi đáng kể.

Khi so sánh với hình ảnh đại thể của gan và thận ở lô chứng (ảnh 3.1.A), các đặc điểm quan sát được ở hai lô trị cho thấy không có sự khác biệt rõ ràng. Điều này chứng tỏ rằng việc cho chuột uống ĐHHV không gây ra biến đổi đại thể bất thường nào trên gan và thận trong điều kiện thí nghiệm này.

Các tiêu bản mô bệnh học đọc tại Bộ môn khoa Giải phẫu bệnh - Pháp y, bệnh viện Quân y 103. Kết quả nghiên cứu về mô bệnh học gan, thận chuột cho thấy ĐHHV dùng đường uống với cả 2 mức liều dùng liên tục trong 90 ngày, không gây tổn thương trên gan, thận của chuột.

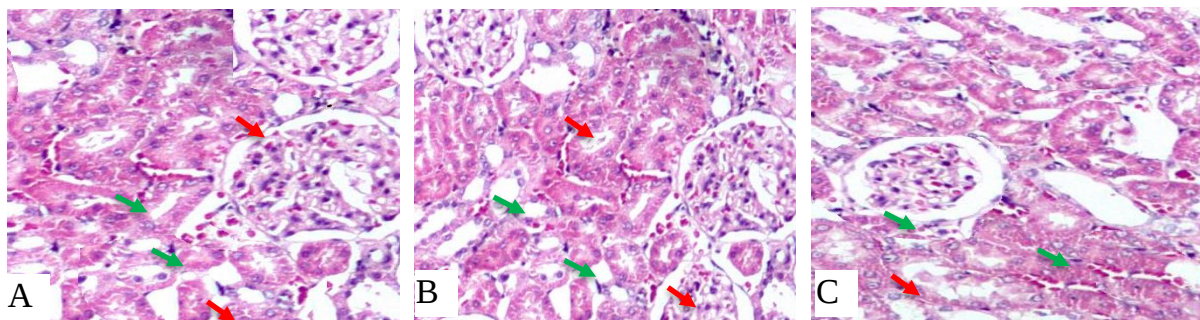


Ảnh 3.2: Hình ảnh vi thể nhuộm HE gan chuột lô chứng (A), lô trị 1 (B) và lô trị 2 (C) (độ phóng đại 400 lần). Mũi tên đỏ: tĩnh mạch gan. Mũi tên xanh: tế bào gan.

Nhận xét ảnh:

Hình ảnh vi thể gan quan sát dưới kính hiển vi (ở độ phóng đại 400 lần) cho thấy mô gan của chuột thuộc lô trị 1 (ảnh 3.2.B) và lô trị 2 (ảnh 3.2.C), là các nhóm được cho uống dịch chiết ĐHHV, không có sự thay đổi đáng kể so với mô gan của chuột ở lô chứng (ảnh 3.2.A). Cấu trúc tiểu thùy gan ở cả hai lô trị vẫn được bảo tồn tốt, các dải tế bào gan được sắp xếp đều đặn quanh tĩnh mạch trung tâm, không ghi nhận hiện tượng rối loạn cấu trúc hay mất tính toàn vẹn của mô.

Ngoài ra, trên các tiêu bản mô học không phát hiện dấu hiệu xuất huyết nhu mô, không thấy sự xuất hiện của các ổ hoại tử khu trú hoặc lan tỏa. Tế bào gan nhìn chung vẫn giữ được hình dạng đặc trưng, không ghi nhận hiện tượng thoái hóa mỡ, thoái hóa hạt hay bất kỳ dạng thoái hóa bào tương bất thường nào. Nhân tế bào gan không có biểu hiện co nhỏ, vỡ vụn hay phì đại



Ảnh 3.3: Hình ảnh vi thể nhuộm HE thận chuột lô chứng (A), lô trị 1 (B) và lô trị 2 (C) (độ phóng đại 400 lần). Mũi tên đỏ: tiểu cầu thận. Mũi tên xanh: ống thận.

Nhận xét ảnh: Hình ảnh mô bệnh học của thận chuột quan sát dưới kính hiển vi quang học (ở độ phóng đại 400 lần) cho thấy ở lô trị 1 (Ảnh 3.3.B) và lô trị 2 (Ảnh 3.3.C), là các lô chuột được cho uống ĐHHV, không có sự khác biệt đáng kể so với lô chứng (Ảnh 3.3.A). Cấu trúc mô thận ở các lô trị vẫn duy trì hình thái bình thường, bao gồm cầu thận nguyên vẹn, không có hiện tượng phì đại hay xơ hoá; các ống thận gần và xa có lòng ống, biểu mô và cấu trúc ống giữ nguyên tính toàn vẹn mà không xuất hiện dấu hiệu thoái hoá, bong tróc hay hoại tử; mô kẽ thận không ghi nhận tình trạng thâm nhiễm tế bào viêm hay phù nề; và sự phân bố giữa vùng vỏ và vùng tủy thận được bảo tồn tốt. Nhìn chung, hình ảnh vi thể của mô thận ở lô trị 1 và lô trị 2 tương đồng với lô chứng, cho thấy việc sử dụng ĐHHV với liều thử nghiệm không gây ảnh hưởng bất lợi lên cấu trúc mô học của thận.

3.3. Kết quả đánh giá tác dụng hạ glucose máu trên chuột cống gây ĐTĐ típ 2

3.3.1. Kết quả đánh giá cân nặng, thức ăn và nước uống tiêu thụ của chuột

Bảng 3.9. Kết quả đánh giá cân nặng, thức ăn và nước uống tiêu thụ của chuột (n= 10 ở mỗi lô, Mean $\pm$ SD)

Lô chuột nghiên cứu	Cân nặng chuột (g)		Thức ăn tiêu thụ (g/kg thể trọng)		Nước uống tiêu thụ (ml/kg thể trọng)	
	To	Tc	To	Tc	To	Tc
Lô 1 (chứng) (1)	222,52 $\pm$ 13,47	253,18 $\pm$ 11,54	67,54 $\pm$ 9,93	93,75 $\pm$ 8,47	76,76 $\pm$ 10,29	95,56 $\pm$ 10,54
Lô 2 (mô hình) (2)	230,52 $\pm$ 22,12	221,26 ^{Δ} $\pm$ 12,14	79,14 $\pm$ 10,11	185,97 ^{Δ} $\pm$ 21,89	82,40 $\pm$ 9,30	217,63 ^{Δ} $\pm$ 24,82
Lô 3 (Gliclazid) (3)	227,79 $\pm$ 16,14	245,90* $\pm$ 11,76	73,54 $\pm$ 10,88	123,57* $\pm$ 15,38	86,60 $\pm$ 9,60	147,99* $\pm$ 17,36
Lô 4 (ĐHHV-1) (4)	232,01 $\pm$ 13,60	245,24* $\pm$ 15,46	76,01 $\pm$ 8,86	133,11* $\pm$ 16,14	84,46 $\pm$ 9,53	159,08* $\pm$ 12,81
Lô 5 (ĐHHV-2) (5)	232,71 $\pm$ 16,07	242,66* $\pm$ 16,82	76,59 $\pm$ 8,90	128,94* $\pm$ 19,23	80,73 $\pm$ 9,80	145,60* $\pm$ 13,87

^{Δ} – $p < 0,01$ so với (1); *– $p < 0,05$ so với (2)

Kết quả bảng 3.9 cho thấy:

- Tại thời điểm To (ngay trước khi cho uống thuốc), cân nặng, lượng thức ăn, nước uống tiêu thụ của chuột ở các lô gây ĐTĐ dường như đều cao hơn so với lô chứng, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- Tại thời điểm Tc (1h sau uống thuốc lần cuối), lô mô hình có trọng lượng giảm, tiêu thụ nước uống và thức ăn tăng so với lô chứng với $p < 0,01$. Trọng lượng giảm, tăng lượng nước uống và thức ăn là ba triệu chứng lâm sàng điển hình của đái tháo đường typ 2, chứng tỏ chuột ở lô mô hình có biểu hiện rõ của đái tháo đường typ 2. Các lô có dùng thuốc (lô 3, 4, 5) có trọng lượng tăng, tiêu thụ nước uống và thức ăn giảm so với lô mô hình ($p < 0,05$) chứng tỏ có sự cải thiện rõ rệt triệu chứng bệnh lý ở những lô dùng thuốc.

3.3.2. Ảnh hưởng của ĐHHV lên Glucose máu và Insulin máu chuột

**Bảng 3.10. Ảnh hưởng của ĐHHV lên glucose máu và insulin máu chuột
(n= 10, Mean $\pm$ SD)**

Lô chuột nghiên cứu	Glucose máu (mg/dL)			Insulin máu (μ IU/ml)		
	To	Tc	p _{c-o}	To	Tc	p _{c-o}
Lô 1 (chứng) (1)	101,23 $\pm$ 12,46	103,74 $\pm$ 9,16	> 0,05	35,90 $\pm$ 3,60	36,14 $\pm$ 3,41	> 0,05
Lô 2 (mô hình) (2)	252,86 ^Δ $\pm$ 27,10	305,67 ^Δ $\pm$ 32,79	< 0,05	23,12 ^Δ $\pm$ 2,61	18,27 ^Δ $\pm$ 2,69	< 0,05
Lô 3 (Gliclazid) (3)	248,91 ^Δ $\pm$ 27,52	144,95* ^Δ $\pm$ 17,34	< 0,05	22,85 ^Δ $\pm$ 2,61	28,74* ^Δ $\pm$ 2,42	< 0,05
Lô 4 (ĐHHV-1) (4)	252,02 ^Δ $\pm$ 22,41	149,57* ^Δ $\pm$ 20,21	< 0,05	22,84 ^Δ $\pm$ 2,89	28,16* ^Δ $\pm$ 2,52	< 0,05
Lô 5 (ĐHHV-2) (5)	248,09 ^Δ $\pm$ 20,41	141,67* ^Δ $\pm$ 13,07	< 0,05	22,92 ^Δ $\pm$ 3,25	29,02* ^Δ $\pm$ 2,95	< 0,05

^Δ – $p < 0,01$ so với (1); ^Δ – $p < 0,05$ so với (1); * – $p < 0,05$ so với (2)

Kết quả bảng 3.10 cho thấy:

- Tại thời điểm To (ngay trước khi cho uống thuốc), ở các lô gây ĐTĐ (từ lô 2 đến lô 5) nồng độ glucose máu chuột đều cao hơn và nồng độ Insulin máu đều thấp hơn so với lô chứng ($p < 0,01$). Nồng độ Glucose máu của chuột ở các lô gây ĐTĐ đều cao hơn 200 mg/dL, thể hiện rõ tình trạng đái tháo đường ở các lô gây bệnh lý.

- Tại thời điểm Tc (1h sau uống thuốc lần cuối), nồng độ glucose máu ở lô mô hình cao hơn so với thời điểm To ($p < 0,05$), đồng thời cao hơn so với lô chứng ($p < 0,01$); nồng độ Insulin máu ở lô mô hình thấp hơn so với thời điểm To ($p < 0,05$), đồng thời thấp hơn so với lô chứng ($p < 0,01$). Nồng độ glucose máu ở các lô dùng thuốc (lô 3, 4, 5) thấp hơn so với thời điểm To ($p < 0,05$), đồng thời thấp hơn so với lô mô hình ($p < 0,05$), tuy nhiên vẫn còn cao hơn so với lô chứng ($p < 0,05$); nồng độ Insulin máu ở các lô dùng thuốc (lô 3, 4, 5) cao hơn so với thời điểm To ($p < 0,05$), đồng thời cao hơn so với lô mô hình ($p < 0,05$), tuy nhiên vẫn còn thấp hơn so với lô chứng ($p < 0,05$). Như vậy thuốc nghiên cứu có hiệu quả làm giảm rõ Glucose máu và tăng insulin máu trên mô hình thực nghiệm.

- So sánh giữa các lô dùng thuốc (lô 3, 4, 5), nồng độ glucose máu và nồng độ insulin máu chuột ở các lô này không có sự khác biệt ($p > 0,05$). Kết quả này chứng chứng tỏ ĐHHV ở 2 mức liều dùng có tác dụng tương đương với Gliclazid 20mg/kg.

3.3.3. Ảnh hưởng của ĐHHV lên một số chỉ số đánh giá sự kháng insulin

Bảng 3.11. Ảnh hưởng của ĐHHV lên một số chỉ số đánh giá sự kháng insulin ($n = 10$ ở mỗi lô, Mean $\pm$ SD)

Lô nghiên cứu	HOMA-IR	HOMA- β	QUICKI	DI
Lô 1 (chứng) (1)	9,26 $\pm$ 1,28	338,21 $\pm$ 94,16	0,280 $\pm$ 0,005	37,75 $\pm$ 14,95
Lô 2 (mô hình) (2)	13,92 $\pm$ 3,14	27,27 $\pm$ 3,16	0,268 $\pm$ 0,007	2,05 $\pm$ 0,53
Lô 3 (Gliclazid) (3)	10,29 $\pm$ 1,51	132,46 $\pm$ 34,67	0,277 $\pm$ 0,005	13,46 $\pm$ 5,34
Lô 4 (ĐHHV-1) (4)	10,40 $\pm$ 1,59	122,23 $\pm$ 26,23	0,276 $\pm$ 0,006	12,23 $\pm$ 3,89
Lô 5 (ĐHHV-2) (5)	10,33 $\pm$ 1,59	133,26 $\pm$ 26,38	0,277 $\pm$ 0,006	13,33 $\pm$ 3,70
Giá trị p	p ₂₋₁ < 0,05; p _{3,4,5-2} < 0,05; p _{3,4,5-1} > 0,05; p _{4,5-3} > 0,05; p ₄₋₅ > 0,05;	p ₂₋₁ < 0,001; p _{3,4,5-2} < 0,001; p _{3,4,5-1} < 0,01; p _{4,5-3} > 0,05; p ₄₋₅ > 0,05;	p ₂₋₁ < 0,05; p _{3,4,5-2} < 0,05; p _{3,4,5-1} > 0,05; p _{4,5-3} > 0,05; p ₄₋₅ > 0,05;	p ₂₋₁ < 0,001; p _{3,4,5-2} < 0,001; p _{3,4,5-1} < 0,01; p _{4,5-3} > 0,05; p ₄₋₅ > 0,05;

Kết quả bảng 3.11 cho thấy:

- Ở lô mô hình: chỉ số HOMA-IR cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và các lô dùng thuốc với $p < 0,05$. Chỉ số HOMA- β và DI thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và các lô dùng thuốc với $p < 0,001$. Chỉ số QUICKI thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và các lô dùng thuốc với $p < 0,05$.

- Ở các lô dùng thuốc (lô 3, 4, 5), các chỉ số HOMA-IR và QUICKI đều được hồi phục về tương đương so với lô chứng ($p > 0,05$), và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với ở lô mô hình ($p < 0,05$). Các chỉ số HOMA- β và DI ở các lô dùng thuốc tăng cao rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,001$), tuy nhiên vẫn còn khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($p < 0,05$).

- So sánh giữa các lô dùng thuốc (lô 3, 4, 5), các chỉ số đánh giá sự kháng insulin ở các lô này không có sự khác biệt ($p > 0,05$). Kết quả này chứng chứng tỏ ĐHHV ở 2 mức liều dùng có tác dụng tương đương với Gliclazid 20mg/kg.

3.3.4. Sự thay đổi phần trăm khối lượng tụy so với khối lượng cơ thể

Bảng 3.12. Phần trăm khối lượng tụy so với khối lượng cơ thể

(n = 10 ở mỗi lô, Mean $\pm$ SD).

Lô nghiên cứu	Phần trăm khối lượng tụy so với khối lượng cơ thể (%)	% giảm so với (1)	% tăng so với (2)
Lô 1 (chứng) (1)	0,936 $\pm$ 0,056	-	-
Lô 2 (mô hình) (2)	0,518 $\pm$ 0,041	44,66 %	-
Lô 3 (Gliclazid) (3)	0,915 $\pm$ 0,063	2,24 %	76,64 %
Lô 4 (ĐHHV-1) (4)	0,895 $\pm$ 0,070	4,36 %	72,78 %
Lô 5 (ĐHHV-2) (5)	0,920 $\pm$ 0,075	1,71 %	77,61 %
Giá trị p	p ₂₋₁ < 0,01; p _{3,4-1} > 0,05; p ₄₋₃ > 0,05	-	-

Kết quả bảng 3.12 cho thấy.

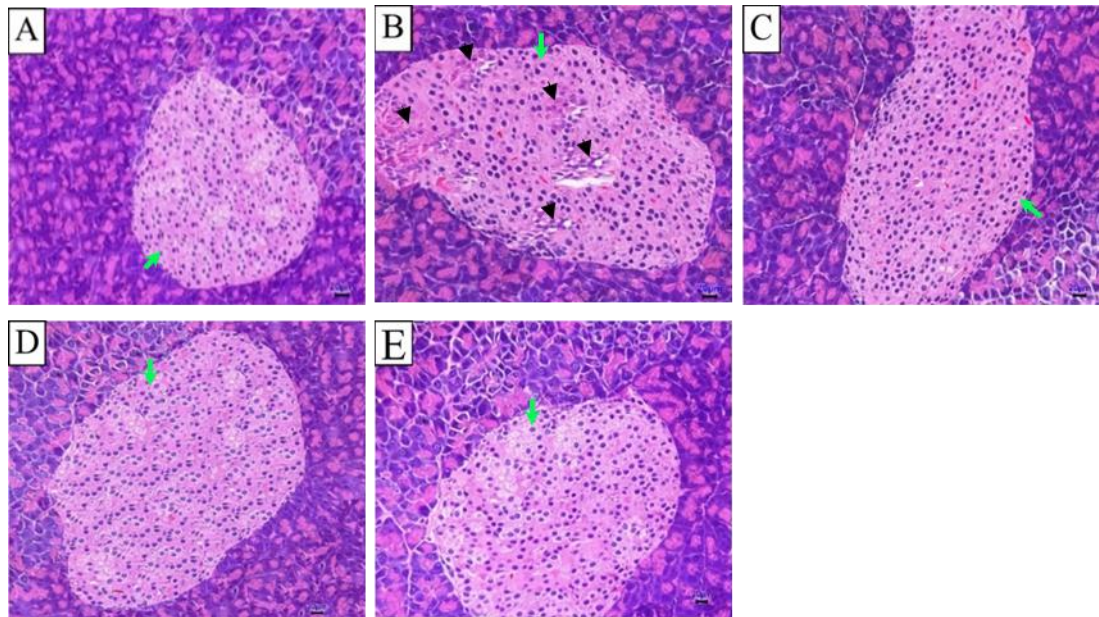
- So với lô chứng (lô 1), chuột ở lô mô hình (lô 2) có phần trăm khối lượng tụy so với khối lượng cơ thể thấp hơn có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- So với lô mô hình (lô 2), chuột ở lô dùng Gliclazide 20 mg/kg (lô 3) và các lô dùng ĐHHV liều 1 (lô 4), liều 2 (lô 5) có phần trăm khối lượng tụy so với khối lượng cơ thể tăng có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- So với lô chứng (lô 1), chuột ở lô dùng Gliclazide 20 mg/kg (lô 3) và các lô dùng ĐHHV liều 1 (lô 4), liều 2 (lô 5) có phần trăm khối lượng tụy so với khối lượng cơ thể thấp hơn không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Gliclazide 20 mg/kg và ĐHHV ở hai mức liều dùng đã làm tăng phần trăm khối lượng tụy so với khối lượng cơ thể trên chuột gây ĐTĐ typ 2 về mức tương đương so với chuột ở lô chứng ($p > 0,05$).

- So với giữa các lô 3, 4 và 5, phần trăm khối lượng tụy so với khối lượng cơ thể là tương đương ($p > 0,05$).

3.3.5. Hình ảnh mô bệnh học của tụy ở các lô chuột nghiên cứu



Ảnh 3.4. Đặc điểm mô học của mô tụy nhuộm H&E soi dưới kính hiển vi (độ phóng đại 400 lần)

A: Lô chứng; B: Lô mô hình; C: Lô tham chiếu; D: DHHV-1; E: DHHV-2; Các tiểu thùy tụy được phân cách bởi các vách xơ mỏng. Các nang ngoại tiết chứa nhiều dịch tiết ưa eosin. Các tiểu đảo Langerhans (mũi tên màu xanh lá cây) bao gồm các tế bào có bào tương nhuộm nhạt. Ở lô mô hình, các tiểu đảo to hơn đáng kể so với lô chứng, với một số vùng thể hiện các thay đổi hình thái tế bào và cấu trúc mô bị rối loạn (mũi tên màu đen). Ở các lô được điều trị bằng thuốc tham chiếu và DHHV, kích thước tiểu đảo giảm tương đối so với lô mô hình, và chỉ quan sát thấy các bất thường về tế bào và cấu trúc ở mức tối thiểu (Hình A-E).

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

4.1. Bàn luận về kết quả nghiên cứu độc tính cấp và bán trường diễn

Theo thông lệ quốc tế, mọi chế phẩm thảo dược mới-kể cả thay đổi dạng bào chế như chuyển sang viên nang-phải được đánh giá an toàn tiền lâm sàng trước khi thử trên người; tối thiểu gồm độc tính cấp đường uống và độc tính lặp lại/bán trường diễn để xác định cơ quan đích và NOAEL. NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) là liều cao nhất không ghi nhận tác dụng có hại trên động vật, làm mốc tham chiếu an toàn trong tiền lâm sàng. Các khuôn khổ khu vực như ASEAN yêu cầu “safety substantiation” cho dạng bào chế/phối hợp mới, không thể chỉ dựa vào sử dụng truyền thống. WHO tiếp tục nhấn mạnh chuẩn hóa an toàn-chất lượng và giám sát nguy cơ; các phép thử độc tính chuẩn (OECD/ICH) vẫn là căn cứ kỹ thuật chủ đạo trước nghiên cứu lâm sàng. Vì vậy, bài thuốc ĐHHV-một bài thuốc nghiệm phương mới-cần được đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn phù hợp quy chuẩn quốc tế.

4.1.1. Về độc tính cấp

Trong thử nghiệm độc tính cấp của ĐHHV, chuột đực và cái đều được dùng thuốc qua đường uống (gavage) để phản ánh an toàn cho cả hai giới; kỹ thuật này phù hợp đường dùng dự kiến nhưng tiềm ẩn rủi ro (tổn thương thực quản/dạ dày, sặc hô hấp, stress hoặc chấn thương do bất giữ) nên phải do kỹ thuật viên giàu kinh nghiệm thực hiện theo quy trình chuẩn. Toàn bộ giai đoạn theo dõi được ghi nhận có hệ thống (tình trạng chung, hành vi, cân nặng, ăn uống, tỷ lệ chết), trực ca luôn có ≥ 2 nghiên cứu viên để không bỏ sót dấu hiệu bất thường; chuẩn bị sẵn phẫu tích nhằm xác định nguyên nhân tử vong nếu xảy ra. Kết quả: không có chuột tử vong, không ghi nhận tổn thương hay bất thường nêu trên, cho thấy ĐHHV an toàn ở liều cấp tối đa đã thử.

Trong thử nghiệm độc tính cấp, bài thuốc ĐHHV được cho chuột nhắt trắng uống với liều đơn tăng dần đến 60 g/kg mà không ghi nhận trường hợp tử vong hay bất kỳ dấu hiệu ngộ độc cấp tính nào. Như vậy, LD₅₀ đường uống của bài thuốc ĐHHV lớn hơn 60 g/kg. So với liều dự kiến có tác dụng 4,92g/kg, chuột đã uống đến liều 60g/kg tức liều cao gấp 12,2 lần, mà không có biểu hiện độc tính, không có chuột chết, chứng tỏ bài thuốc ĐHHV an toàn trong nghiên cứu độc tính cấp.

Kết quả này phù hợp với các dữ liệu an toàn của từng dược liệu cấu thành bài thuốc. Đối với dây thìa canh (*Gymnema sylvestre*), nhiều nghiên cứu độc tính cấp cho thấy dịch chiết lá ở động vật thực nghiệm có độc tính cấp rất thấp, được coi là an toàn, gần như không độc theo phân loại độc tính cấp của GHS [39]. Tương tự, lá mía (*Saccharum officinarum*) trong các nghiên cứu độc tính cấp cũng được chứng minh là an toàn, gần như không độc theo phân loại độc tính cấp của GHS khi đánh giá ở chuột cống trắng theo đường uống [40]. Sự an toàn cao của từng thành phần gợi ý rằng phối hợp hai vị thuốc trong bài ĐHHV khó làm tăng độc tính cấp mà ngược lại có thể vẫn nằm trong ngưỡng “gần như không độc” theo các phân loại quốc tế.

Ngoài ra, cả dây thìa canh và lá mía đều là các dược liệu có lịch sử sử dụng lâu dài trong y học cổ truyền và thực phẩm chức năng tại nhiều nước với tương đối ít báo cáo về biến cố độc tính cấp trên lâm sàng. Các đánh giá nguy cơ của *Gymnema sylvestre* cho mục đích sử dụng làm thực phẩm bổ sung cũng cho thấy nhìn chung dược liệu an toàn khi dùng ở liều thông thường [41]. Như vậy, kết quả thử nghiệm độc tính cấp của ĐHHV phù hợp với đặc điểm “an toàn” vốn có của từng dược liệu thành phần, đồng thời cung cấp bằng chứng thực nghiệm cụ thể cho dạng bài thuốc phối hợp.

4.1.2. Về độc tính bán trường diễn

Độc tính bán trường diễn là đánh giá độc tính khi dùng lặp lại hằng ngày

trong trung hạn (1-3 tháng), với chuẩn quốc tế gồm thử 28 ngày (OECD TG 407) và 90 ngày (OECD TG 408) để phát hiện tác dụng tích lũy, xác định NOAEL và dự đoán nguy cơ dài hạn; các hướng dẫn OECD gần đây cũng chuẩn hóa cách phân tích dữ liệu. Theo Bộ Y tế Việt Nam, thiết kế thường gồm 1 lô chứng và 2 lô thử (liều thấp ~ liều dự kiến ở người quy đổi theo allometric, liều cao gấp 3–5 lần để tiệm cận MTD), số lượng động vật gặm nhấm 8–10/con/lô, không gặm nhấm 2–4/con, chỉ dùng khi thật cần thiết và có thẩm định đạo đức, phù hợp nguyên tắc 3R. Nghiên cứu ĐHHV áp dụng trên chuột cống trắng với 3 lô (chứng; liều tương đương liều dự kiến ở người, quy đổi $\sim 6,2\times$ theo thể trọng; và liều cao gấp 3 lần), 10 con/lô-bố trí nhằm đảm bảo độ tin cậy và tuân thủ quy định hiện hành.

Trong nghiên cứu độc tính bán trường diễn, chuột cống trắng được cho uống bài thuốc ĐHHV liên tục 90 ngày với hai mức liều: 2,48 g/kg/ngày (liều quy đổi điều trị) và 7,44 g/kg/ngày (gấp 3 lần liều điều trị). Thời gian 90 ngày phù hợp với định nghĩa các nghiên cứu độc tính bán trường diễn/subchronic (thường 28–90 ngày) trong tiền lâm sàng đánh giá độ an toàn khi dùng lặp lại.

Gan vừa ngoại tiết (mật), vừa nội tiết/điều hòa chuyển hóa, dự trữ (glycogen, vitamin, khoáng) và là trung tâm chuyển hóa dược chất, vì thế luôn là cơ quan đích trong đánh giá độc tính. Tổn thương gan làm giải phóng ALT (bào tương, đặc hiệu gan, tăng sớm) và AST (bào tương + ty thể, tăng rõ khi tổn thương nặng). Trong nghiên cứu độc tính bán trường diễn của ĐHHV, ALT/AST huyết thanh ở hai liều nghiên cứu trong 90 ngày không khác biệt có ý nghĩa so với chứng; mô bệnh học gan đại thể/vi thể đều bình thường. Nồng độ albumin không thay đổi, cho thấy chức năng tổng hợp của gan được bảo tồn, dù cần diễn giải trong bối cảnh dinh dưỡng-viêm hệ thống. Tổng hợp lại, ĐHHV không gây độc gan trong điều kiện bán trường diễn đã khảo sát.

Trong nghiên cứu độc tính bán trường diễn, cholesterol toàn phần (TC) là chỉ số sinh hóa phản ánh chuyển hóa lipid và chức năng gan; do gan là cơ quan trung tâm tổng hợp/điều hòa cholesterol, biến động bất thường của TC có thể gợi ý rối loạn chuyển hóa hoặc tổn thương gan mật. Các hướng dẫn quốc tế khuyến cáo đưa TC vào bộ chỉ số cơ bản của thử nghiệm liều lặp lại để phát hiện sớm độc tính liên quan chuyển hóa và bệnh mạn tính [160], [162], và các phân tích gần đây nhấn mạnh sự biến động dai dẳng của TC có thể chỉ điểm nguy cơ hội chứng chuyển hóa hoặc bệnh tim mạch khi dùng thuốc dài hạn [161]. Kết quả của chúng tôi cho thấy TC không thay đổi có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm liều so với lô chứng sau 90 ngày, cho thấy bài thuốc ĐHHV không gây ảnh hưởng bất lợi đến chức năng gan hoặc chuyển hóa lipid trong điều kiện thử nghiệm.

Trong đánh giá độc tính thuốc, thận đặc biệt dễ tổn thương do nhận 20–25% cung lượng tim và phải lọc–tái hấp thu nhiều chất, khiến thuốc/chuyển hóa tiếp xúc kéo dài ở ống thận; cơ chế độc tính liên quan đến chất vận chuyển ống thận, stress oxy hóa, tích lũy nội bào gây viêm/hoại tử [168,169]. Creatinin huyết thanh—chỉ số phổ biến, ổn định và phản ánh chủ yếu mức lọc cầu thận—tăng khi chức năng lọc suy giảm, nên hữu ích phát hiện tổn thương thận [170]. Trong thí nghiệm 90 ngày, chuột uống ĐHHV liều 336 hoặc 1680 mg/kg/ngày có creatinin không khác biệt so với chứng và không thay đổi theo thời gian ($p>0,05$), cho thấy ĐHHV không ảnh hưởng mức lọc. Albumin huyết thanh cũng không giảm, củng cố bằng chứng không tổn thương thận [171]. Đại–vi thể thận đều bình thường, không ghi nhận bất thường cấu trúc (cầu thận, ống thận, mô kẽ). Tóm lại, dữ liệu sinh hóa và mô học đồng thuận rằng ĐHHV không gây độc thận khi dùng kéo dài 90 ngày.

Trong thử nghiệm độc tính bán trường diễn 90 ngày trên chuột cống trắng, chúng tôi theo dõi bộ chỉ số huyết học chuẩn (RBC, MCV, Hb, Hct,

WBC, PLT) theo khuyến nghị quốc tế cho nghiên cứu liều lặp lại nhằm sàng lọc độc tính hệ tạo máu và hỗ trợ diễn giải NOAEL. Ở các mốc 45 và 90 ngày sau uống ĐHHV, tất cả chỉ số không khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng hoặc trước dùng thuốc ($p>0,05$), cho thấy ĐHHV ở cả hai liều không gây ảnh hưởng bất lợi lên huyết học sau 90 ngày.

Kết quả cho thấy cả hai mức liều đều không gây ảnh hưởng bất lợi có ý nghĩa trên: tình trạng chung, diễn biến cân nặng, các chỉ số huyết học cơ bản (RBC, WBC, PLT, Hb, Hct, MCV), chức năng gan, thận và chuyển hoá lipid qua các chỉ số sinh hoá (AST, ALT, albumin, creatinin, cholesterol toàn phần), cũng như hình ảnh mô bệnh học gan, thận so với lô chứng. Điều này cho phép kết luận rằng ĐHHV không gây độc huyết học, không gây độc gan, không gây độc thận và không gây tổn thương đại thể/vi thể gan, thận khi dùng lặp lại 90 ngày, kể cả ở liều gấp 3 lần liều điều trị.

Khi so sánh với các nghiên cứu khác, kết quả của chúng tôi nhìn chung phù hợp với xu hướng an toàn của từng dược liệu thành phần, đồng thời cho thấy phối hợp hai vị thuốc không làm bộc lộ thêm độc tính mới:

- Với dây thìa canh (*Gymnema sylvestre*), ở mức thời gian dài hơn, một nghiên cứu độc tính 52 tuần của bột chiết lá *Gymnema sylvestre* đưa vào khẩu phần ăn chuột Wistar với các nồng độ 0,01; 0,1 và 1% cho thấy không có biến cố độc tính nghiêm trọng, các thay đổi quan sát được chỉ ở mức nhẹ, không liên quan điều trị hoặc có tính hồi phục, kết luận dược liệu an toàn khi sử dụng dài ngày [42]. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu ĐHHV của chúng tôi ở chỗ không thấy độc tính tích lũy trên gan, thận, huyết học sau dùng lặp lại kéo dài.

- Đối với lá mía (*Saccharum officinarum*), các nghiên cứu độc tính bán cấp (30 ngày) với dịch chiết ethanol lá mía liều 170–510 mg/kg/ngày trên chuột Wistar cho thấy các chỉ số huyết học, chức năng gan, thận (AST, ALT,

ure, creatinin) và lipid máu không thay đổi đáng kể so với lô chứng [43]. Các nghiên cứu mô bệnh học cũng ghi nhận cấu trúc gan, thận, lá lách gần như bình thường sau 30 ngày dùng lá mía [44]. Những dữ liệu này tương hợp với kết quả trên mô bệnh học gan, lách, thận trong nghiên cứu ĐHHV, củng cố nhận định rằng lá mía là dược liệu ít độc, không làm tăng độc tính của bài thuốc khi phối hợp.

Tổng hợp lại, mô hình độc tính bán trường diễn 90 ngày của chúng tôi cho thấy ĐHHV có biên độ an toàn tốt ở cả liều điều trị và liều cao gấp 3 lần, không ghi nhận dấu hiệu độc tính tích lũy trên các cơ quan đích chính (gan, thận, hệ tạo máu).

4.2. Bàn luận về kết quả đánh giá tác dụng hạ glucose máu trên mô hình gây ĐTD típ 2 ở chuột cống trắng.

Đái tháo đường type 2 đặc trưng bởi tình trạng kháng insulin kết hợp với suy giảm khả năng bù trừ của tế bào beta, do đó các mô hình động vật thường tập trung vào tái hiện kháng insulin và/hoặc rối loạn chức năng tế bào beta. Nhiều mô hình mang đặc điểm béo phì, phản ánh mối liên quan chặt chẽ giữa béo phì và bệnh. Các nhóm mô hình phổ biến gồm: (1) Mô hình béo phì đơn nguyên, chủ yếu do khiếm khuyết tín hiệu leptin, làm mất cảm giác no và gây tăng ăn – béo phì; (2) Mô hình béo phì đa nguyên, sử dụng các dòng chuột mang nhiều biến thể gen gây béo phì, rối loạn dung nạp glucose và ĐTD; (3) Mô hình gây béo phì bằng chế độ ăn giàu chất béo, tạo ra tình trạng tăng cân, tăng insulin máu, kháng insulin và suy giảm bù trừ của tế bào beta – được xem là gần với cơ chế bệnh sinh ở người hơn mô hình di truyền; (4) Mô hình không béo phì, mô phỏng nhóm bệnh nhân ĐTD type 2 không béo phì, chủ yếu do giảm khối lượng hoặc suy tế bào beta; và (5) Mô hình không dùng chuột, sử dụng các loài lớn hơn như mèo, linh trưởng, lợn và chó, vốn có nhiều đặc điểm sinh lý – bệnh lý gần với con người. Các mô hình này cho

phép nghiên cứu đa dạng cơ chế bệnh sinh và đáp ứng điều trị trong ĐTĐ type 2 [33], [34].

Mô hình động vật là công cụ quan trọng trong nghiên cứu cơ chế bệnh sinh và đánh giá liệu pháp dược lý cho ĐTĐ type 2, vốn ở người là hậu quả của đa hình gen kết hợp với yếu tố môi trường như thừa năng lượng và lối sống ít vận động. Trong những năm gần đây, mô hình ĐTĐ type 2 được gây bằng chế độ ăn giàu chất béo (HFD) để tạo kháng insulin, sau đó tiêm streptozotocin (STZ) liều thấp nhằm gây tổn thương nhẹ tế bào beta mà không làm mất hoàn toàn khả năng tiết insulin, ngày càng được sử dụng rộng rãi. Ở chuột Wistar, liều STZ gây ĐTĐ type 2 dao động từ 30 mg/kg khi kết hợp với HFD đến 65 mg/kg trong một số mô hình khác. Trong mô hình của chúng tôi, chuột mắc ĐTĐ type 2 thể hiện giảm cân, ăn uống tăng, glucose máu tăng và insulin máu giảm, những dấu hiệu đặc trưng của bệnh. Với khẩu phần HFD gồm cholesterol, dầu dừa, fructose, mỡ lợn, bột ngô, men bia, CaCO_3 trong 4 tuần và STZ 35 mg/kg, chúng tôi xây dựng mô hình ĐTĐ type 2 trên chuột Wistar với tỷ lệ thành công > 70%. Tính ổn định của mô hình cũng phù hợp với kết quả thử nghiệm tại Đại học Công nghệ Chiết Giang (2018), trong đó STZ 35 mg/kg được đánh giá là tối ưu để tạo mô hình ổn định, trong khi liều 25 mg/kg cho sự ổn định thấp hơn [45]. Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy liều 35 mg/kg mang lại mô hình bền vững về glucose máu và các chỉ số sinh học cho đến thời điểm sinh thiết.

Sau khi nuôi với chế độ giàu năng lượng trọng lượng của chuột tăng dần. Thời điểm To (ngay trước khi cho uống thuốc), trọng lượng, lượng thức ăn, nước uống tiêu thụ của chuột ở các lô gây ĐTĐ đều cao hơn so với lô chứng (bảng 3.3), tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Nhưng thông qua chỉ số đánh giá sự kháng insulin đều cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa đối thống kê giữa các lô gây ĐTĐ so với lô chứng. Như vậy, việc kết

hợp giữa chế độ ăn và tiêm STZ đã gây được tình trạng kháng insulin ở chuột. Đồng thời tại thời điểm T0, glucose máu ở các lô gây ĐTĐ tăng cao và nồng độ insulin máu giảm. Đây là những biểu hiện rõ nét của tình trạng ĐTĐ type 2 với sự kết hợp của tình trạng kháng insulin và sự suy giảm chức năng tuyến tụy. Tại thời điểm Tc (1h sau uống thuốc lần cuối), lô mô hình có cân nặng giảm, tiêu thụ nước uống và thức ăn tăng so với lô chứng với $p < 0,01$. Điều này cho thấy diễn biến của ĐTĐ type 2 trở nên rõ rệt tại thời điểm Tc.

Trong nghiên cứu này, bài thuốc ĐHHV với hai liều 2,48 và 4,96 g/kg/ngày đều làm giảm rõ rệt glucose máu đói, insulin huyết tương và chỉ số HOMA-IR, đồng thời làm tăng QUICKI và HOMA- β so với lô mô hình, các thông số gần trở về mức tương đương lô chứng. Điều này cho thấy ĐHHV không chỉ có tác dụng hạ đường huyết đơn thuần mà còn cải thiện tình trạng kháng insulin và nâng đỡ chức năng tế bào β tụy. Việc cải thiện đồng thời HOMA-IR (chỉ số đánh giá đề kháng insulin), HOMA- β (chức năng tế bào β) và QUICKI (chỉ số nhạy cảm insulin) phù hợp với quan niệm hiện nay coi đây là các chỉ số gián tiếp hữu ích để đánh giá kháng insulin và chức năng tế bào β cả trên người và mô hình động vật [46].

Kết quả này tương đồng với nhiều nghiên cứu về dây thìa canh (*Gymnema sylvestre*), một vị dược liệu chính trong bài thuốc. Các nghiên cứu thực nghiệm trên chuột đái tháo đường do streptozotocin/alloxan gây ra cho thấy dịch chiết *Gymnema sylvestre* có khả năng giảm glucose máu, cải thiện rối loạn lipid và phục hồi cấu trúc tiểu đảo tụy, gợi ý tác dụng kích thích bài tiết insulin và tái sinh tế bào β [47]. Một số nghiên cứu gần đây còn ghi nhận khi phối hợp *Gymnema sylvestre* với metformin hoặc probiotics trên mô hình đái tháo đường thực nghiệm, sự giảm đường huyết và cải thiện rối loạn chuyển hoá còn rõ hơn so với dùng metformin đơn thuần, đồng thời có lợi trên lipid máu và chức năng thận [48]. Như vậy, mức giảm glucose, insulin và

HOMA-IR kèm tăng QUICKI, HOMA- β trong nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với xu hướng chung mà các tác giả khác ghi nhận đối với *Gymnema sylvestre*, củng cố vai trò của vị dược liệu này trong kiểm soát tăng glucose máu và cải thiện kháng insulin.

Về cơ chế, các tổng quan và tài liệu dược lý cho thấy gymnemic acid và các saponin trong dây thìa canh có thể: (i) giảm hấp thu glucose tại ruột, (ii) tăng bắt giữ glucose tại mô ngoại vi, (iii) tăng biểu hiện/bài tiết insulin, và (iv) thúc đẩy tăng sinh, phục hồi tế bào β tụy [49], [50]. Điều này phù hợp với quan sát trong nghiên cứu: khối lượng tương đối tụy tăng, hình thái tiểu đảo tụy được phục hồi so với lô mô hình, cho thấy sự bảo vệ cấu trúc và chức năng tụy. Sự gắn kết giữa cải thiện mô học tụy và các chỉ số chức năng (HOMA- β , insulin, glucose) gợi ý rằng tác dụng hạ glucose máu của ĐHHV có phần quan trọng đến từ bảo vệ và phục hồi tế bào β , chứ không chỉ do tăng nhạy cảm insulin ngoại vi.

Bên cạnh dây thìa canh, lá mía, vị dược liệu phối hợp trong ĐHHV, cũng đã được ghi nhận có tiềm năng chống đái tháo đường. Nghiên cứu trên động vật cho thấy dịch chiết ethanol lá mía khô có tác dụng chống tăng đường huyết do alloxan gây ra, góp phần cải thiện đường huyết trên mô hình thực nghiệm [51]. Ngoài ra, các nghiên cứu về dịch chiết giàu polyphenol từ mía cho thấy chế phẩm này có hàm lượng polyphenol cao, hoạt tính chống oxy hoá mạnh, có khả năng ức chế hấp thu glucose/fructose trên tế bào ruột Caco-2 và phục hồi sản xuất insulin trên mô hình tế bào β rối loạn chức năng [52], [53]. Những bằng chứng này gợi ý rằng sự phối hợp dây thìa canh – lá mía trong ĐHHV có thể tạo tác dụng hiệp đồng, vừa giảm hấp thu glucose ở ruột, vừa cải thiện chức năng tế bào β tụy và tình trạng kháng insulin, từ đó tăng hiệu quả hạ glucose máu trên mô hình T2DM.

Một điểm đáng chú ý là hiệu quả hạ glucose máu giữa hai liều ĐHHV

2,48 và 4,96 g/kg/ngày không có sự khác biệt rõ rệt và tương đương với thuốc tham chiếu, cho thấy tác dụng của bài thuốc đạt ngưỡng tối ưu ngay ở liều thấp hơn, và việc tăng liều không đem lại lợi ích rõ rệt về kiểm soát glucose. Xu hướng “hiệu quả bão hoà” này cũng được ghi nhận trong một số nghiên cứu với *Gymnema sylvestre*, khi tăng liều cao hơn không làm tăng tương ứng mức giảm đường huyết [54]. Điều này gợi ý rằng ĐHHV có thể có “cửa sổ liều điều trị” tương đối rộng, liều thấp hơn vẫn cho hiệu quả tốt, đồng thời về mặt an toàn – nếu được tiếp tục khẳng định trong các nghiên cứu độc tính – có thể là lợi thế khi phát triển chế phẩm trên lâm sàng.

4.3. Về mức độ phù hợp của hai vị thuốc Thìa canh và Lá mía đối với tác dụng hạ đường huyết

Thìa canh có chứa gymnemic acid có khả năng ức chế hấp thu Glucose ở ruột, tăng nhạy cảm Insullin, kích thích tái tạo tế bào β tụy và giảm cảm giác thèm ngọt nên có tác dụng hạ đường huyết nhanh, có bằng chứng lâm sàng rõ ràng.

Lá mía có tác dụng chống oxy hoá mạnh, giảm đề kháng Insullin và ức chế α -glucosidase mức độ nhẹ, tác dụng hạ đường huyết có nhưng nhẹ hơn Thìa canh, phù hợp làm vị thuốc hỗ trợ.

Điều này cũng hoàn toàn phù hợp về mặt Y lý Y học cổ truyền. Tiêu khát (Đái tháo đường) trong Y học cổ truyền chủ yếu do âm hư nội nhiệt, vị nhiệt thương tân, nhưng diễn tiến lâu dài thường dẫn đến Tỳ khí hư, khí hóa thủy cốc bất lợi, làm đường huyết tăng cao. Việc lựa chọn dược liệu trong điều trị phải dựa trên tính vị – quy kinh, từ đó định hướng tác dụng đối với tạng phủ, kinh lạc và cơ chế bệnh sinh. Thìa canh vị đắng, tính hàn, vừa giúp thanh nhiệt, giáng hỏa, tiêu khát; vừa hỗ trợ kiện Tỳ Vị, một mặt khu tà, một mặt phù chính, tương hợp với nghiên cứu hiện đại về tăng nhạy cảm Insullin. Lá mía vị ngọt, tính hàn, công năng thiên về thanh nhiệt, sinh tân rất tốt

nhưng không mạnh về điều hoá khí như Thìa canh, chuyên trị về các chứng khát do hao tân dịch. Vị đắng giáng, vị ngọt hoãn, vừa giáng hoả xuống lại sinh tân lên, điều hoà Tỳ Vị, hỗ trợ kiểm soát đường huyết từ gốc đến ngọn. Nếu dùng hai vị thuốc kết hợp cùng nhau, phù hợp nhất cho thể Phế Vị nhiệt thịnh hoặc có kèm triệu chứng của Tỳ hư. Nếu dùng riêng biệt, Thìa canh thích hợp để trị gốc, thiên về khí hoá, không phù hợp khi tỳ vị hư hàn, đại tiện lỏng, hoặc người dùng thuốc hạ đường huyết mạnh (dễ gây hạ đường huyết); Lá mía thích hợp để trị tiêu, thiên về thanh nhiệt, sinh tân, Không phù hợp với tỳ vị hư hàn, người dễ tiêu chảy hoặc đầy bụng.

KẾT LUẬN

Về độc tính cấp, bán trường diễn

Độc tính cấp: Chưa xác định được LD₅₀ đường uống của bài thuốc ĐHHV trên chuột nhắt trắng. Chuột đã được cho uống đến liều 60 g/kg, không có chuột chết hay biểu hiện độc tính cấp. Liều dung nạp tối đa 60g/kg ở chuột nhắt trắng gấp khoảng 12,2 lần liều dự kiến có tác dụng (đã quy đổi từ người sang chuột nhắt với hệ số quy đổi 12,3).

Độc tính bán trường diễn: Chuột cống trắng uống ĐHHV liên tục 90 ngày với liều 2,48 g/kg/ngày (liều quy đổi điều trị) và 7,44 g/kg/ngày (gấp 3 lần). Kết quả cho thấy tình trạng chung, cân nặng, các chỉ số huyết học (RBC, WBC, PLT, Hb, Hct, MCV), sinh hóa máu (AST, ALT, albumin, creatinin, cholesterol toàn phần) và mô bệnh học gan, lách, thận đều không khác biệt so với lô chứng. Như vậy, ĐHHV an toàn ở cả hai mức liều trong 90 ngày thử nghiệm bán trường diễn.

Về tác dụng hạ glucose máu của bài thuốc ĐHHV

Bài thuốc ĐHHV liều 2,48 và 4,96 g/kg/ngày cải thiện rõ rệt tình trạng tăng glucose máu, kháng insulin và rối loạn lipid máu trên chuột mô hình đái tháo đường typ 2. ĐHHV giúp giảm glucose, insulin, HOMA-IR; tăng QUICKI, HOMA- β ; đồng thời cải thiện TC, TG, LDL-C, Non-HDL-C và phục hồi HDL-C. Khối lượng tương đối của tụy và hình thái tiểu đảo tụy được cải thiện đáng kể so với lô mô hình, đạt mức tương đương lô chứng. Hiệu quả giữa hai liều ĐHHV tương tự thuốc tham chiếu.

KHUYẾN NGHỊ

Tiếp tục nghiên cứu cơ chế tác dụng hạ glucose máu của bài thuốc ĐHHV ở mức tế bào và phân tử, đặc biệt tập trung vào các con đường tín hiệu liên quan đến insulin và quá trình viêm - oxy hóa.

Tiến hành chuẩn hóa quy trình bào chế, xác định thành phần hóa học đặc trưng làm cơ sở cho phát triển chế phẩm dùng trên người.

Bài thuốc ĐHHV phù hợp điều trị trong giai đoạn sớm và trung bình của tiêu khát, các chứng thuộc phạm vi Phế Vị nhiệt thịnh có hoặc không kèm theo Tỳ khí hư, không thay thế hoàn toàn thuốc điều trị chuẩn

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ezzati M, et al. Global, regional, and national burden of diabetes from 1990 to 2021, with projections of prevalence to 2050: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet*. 2024; 393(10190): 1513-1534.
2. World Health Organization. Urgent action needed as global diabetes cases increase four-fold over past decades. WHO News Release. 2024 Nov 13.
3. Dang AK, Vu BN, et al. Progress toward universal health coverage in Vietnam: Evidence on dispensing trends of diabetes medications from 2015 to 2021. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2024; 212: 111691
4. Bộ Y tế (2009), "Lão khoa Y học cổ truyền", *Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam*, tr. 117-145.
5. Tiêu Ngọc Chiến (2014), "Nghiên cứu tính an toàn, tác dụng hạ đường huyết trên thực nghiệm và đái tháo đường typ 2 mức độ nhẹ bằng cao lỏng Thập vị giáng đường phươg", *Luận văn Tiến sĩ - Đại học Y Hà Nội*.
6. Quan Thế Dân (2014), "Nghiên cứu tác dụng của bài thuốc Bổ dương hoàn ngũ điều trị đái tháo đường tít 2 có biến chứng thận trong thực nghiệm và trên lâm sàng", *Luận văn Tiến sĩ - Đại học Y Hà Nội*.
7. Đỗ Tất Lợi (2004), "Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam", *Nhà xuất bản Y học*, tr. 215–217.
8. Lê Văn Thư (2013), "Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng điều trị của bài thuốc Tế sinh thận khí hoàn gia vị trên bệnh nhân có biến chứng suy thận mạn", *Luận văn Thạc sĩ - Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam*.
9. Nguyễn Bá Tĩnh (2004), "Tuệ Tĩnh toàn tập", *Nhà xuất bản Y học*, tr. 243–248 .

10. American diabetes association (2020), "Standards of Medical Care in Diabetes" Diabetes Care. 2020; 43(Suppl 1): S1–S212.
11. Đại học Y Hà Nội (2012), "Bệnh học nội khoa - Tập 2", *Nhà xuất bản Y học*, tr. 45 – 92.
12. Bộ Y tế (2017), "Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị Đái tháo đường type 2", (*Ban hành kèm theo Quyết định số 3319/QĐ-BYT ngày 19/7/2017 của Bộ trưởng Bộ Y tế*).
13. American diabetes association (2010), "Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus". Diabetes Care. 2010; 33(Suppl 1): S62–S69.
14. Nicholas J. Wareham Nita Gandhi Forouhi (2014), "Epidemiology of diabetes", *Medicine (Abingdon)*. 42(12): 698–702
15. Tạ Văn Bình(2019), "*Nội tiết và các bệnh chuyển hóa*", Nhà xuất bản Y học, tr. 133–165
16. Nguyễn Thị Bay (2007), "Bệnh học và điều trị Nội khoa (kết hợp Đông - Tây y)", *Nhà xuất bản Y học*, tr. 327-366.
17. Bộ Y tế (2014), "Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh Nội tiết - Chuyển hóa", (*Ban hành kèm theo Quyết định số 3879/QĐ-BYT ngày 30 tháng 09 năm 2014 của Bộ trưởng Bộ Y tế*, tr. 174-187.
18. American diabetes association (2019), "Standards of Medical Care in Diabetes - 2020 Abridged for Primary Care Providers", *Clinical Diabetes*. 2020; 38(1): 10–38.
19. Wei Lan Xiang (2018), "Correlation analysis of TCM syndromes in patients with type 2 diabetes with damp heat constitution", *Master degree - Guangxi university of traditional medicine*.
20. Zheng Hongguang (2019), "糖尿病肾病 130 例中医证型分类研究", *Global Traditional Chinese Medicine*; 12(6): 897–901.
21. Zeng Jinghui (2019), "基于证候标准的 2 型糖尿病中医状态系统化管理研究", *Jiangxi university of traditional medicine*.

22. Pangbo (2012), "施今墨学派名老中医诊治糖尿病学术思想与经验传承研究", *Beijing university of traditional medicine*.
23. Gong Qing (2012), "三阴三阳体质初量表的编制及 2 型糖尿病三阴三阳体质相关性分析", *Beijing university of traditional medicine*.
24. Zhao Xiao Hua (2016), "The Mining study under the big data information of type 2 diabetes and complications", *Doctor's Degree - Guangzhou university of traditional medicine*.
25. Li Min (2014), "The Research of Tongue Feature in two deficiency of Diabetes based on digital technology", *Master degree - Changsha university of science & technology*.
26. Xiaoxiao Zhao Zichao Wang, Xiaoying Liu (2018), "Anti-diabetic activity evaluation of a polysaccharide extracted from *Gynostemma pentaphyllum*", *International journal of biological macromolecules*. 126, 209-214.
27. Robert J. Gasperini Dino Premilovac, Sarah Sawyer (2017), "A New Method for Targeted and Sustained Induction of Type 2 Diabetes in Rodents", *Scientific Reports*. 7: 40863.
28. Jason Kim (2013), "STZ-induced type 1 diabetes model ", *National Mouse Metabolic Phenotyping Centers (NMMPC)*. Online resource. Available from: NMMPC.
29. Vũ Việt Hằng (2013), "Nghiên cứu tác dụng của chế phẩm “Giáng chỉ tiêu khát linh” điều trị RLLPM trên động vật ĐTD typ 2 thực nghiệm ", *Luận văn Tiến sĩ - Đại học Y Hà Nội*.
30. Bộ Y tế (2015). *Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu*, Thông tư số 141/QĐ-K2ĐT ngày 27/10/2015, Hà Nội.
31. R Rivera-Ramírez, F., Escalona-Cardoso, G. N., Garduño-Siciliano, L.,

- Galaviz-Hernández, C., & Paniagua-Castro, N. (2011). Antiobesity and hypoglycaemic effects of aqueous extract of *Ibervillea sonora* in mice fed a high-fat diet with fructose. *Journal of biomedicine & biotechnology*, 2011, 968984.
32. Heydemann A. (2016). An Overview of Murine High Fat Diet as a Model for Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of diabetes research*, 2016, 2902351.
33. Moien Abdul Basith Khan; Muhammad Jawad Hashim; Jeffrey Kwan King (2020), "Epidemiology of Type 2 Diabetes - Global Burden of Disease and Forecasted Trends", *Journal of epidemiology and global health*. 10(1): 107–111.
34. Cổng thông tin điện tử Bộ Y tế : Việt Nam hiện tỷ lệ người mắc bệnh đái tháo đường đang gia tăng nhanh
35. Zhang XX, et al. (2025) “The Therapeutic Effect and Mechanism of Traditional Chinese Medicines for Dissipating Thirst Syndrome in Diabetes Mellitus: A Meta-analysis” *Frontiers in Endocrinology*. 2025; 16: 1298456.
36. Lê Minh Hoàng, Tôn Chi Nhân, Huỳnh Thanh Vũ và cộng sự. Nghiên cứu tác dụng hỗ trợ hạ đường huyết của bài thuốc ngũ vị tiêu khát trên bệnh nhân đái tháo đường típ 2. *Tạp chí Y Dược học Cần Thơ*. 2024;73:103-109.
37. Bộ Y tế. *Dược điển Việt Nam V*. NXB Y học, 2017.
38. Viện Dược liệu. *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*. Tập II, NXB KH&KT, 2004.
39. Viện Dược liệu. *Danh lục các loài cây thuốc Việt Nam*. NXB KH&KT, 2006.
40. Shanmugasundaram E.R., et al. “Use of *Gymnema sylvestre* leaf extract

- in the control of diabetes mellitus.” *Journal of Ethnopharmacology*, 1990; 30(3):281–294. [PubMed PMID: 2263840]
41. Persaud S.J., et al. “Effects of *Gymnema sylvestre* on insulin secretion and pancreatic β -cell regeneration.” *Phytotherapy Research*, 1999; 13(6):601–608.
 42. Liu B., et al. “Chemical constituents and pharmacological activities of *Gymnema sylvestre*.” *Phytochemistry Reviews*, 2021; 20:1077–1100.
 43. Baskaran K., et al. “Antidiabetic effect of a leaf extract from *Gymnema sylvestre* in non-insulin-dependent diabetes mellitus patients.” *Journal of Ethnopharmacology*, 1990; 30(3):295–305.
 44. Al-Romaiyan A., et al. “A novel mechanism of action of *Gymnema sylvestre* on glucose uptake.” *Journal of Endocrinology*, 2010; 206(2):163–172.
 45. Shanmugasundaram K.R., et al. “Regeneration of islets of Langerhans in diabetic rats treated with *Gymnema sylvestre* leaf extract.” *Phytotherapy Research*, 1983; 1(1):1–4.
 46. Kumar S., et al. “Antihyperlipidemic and antioxidant potential of *Gymnema sylvestre* leaf extract.” *Pharmacognosy Research*, 2012; 4(1):40–45.
 47. Tiwari P., et al. “Pharmacological aspects of *Gymnema sylvestre*—an update.” *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2014; 15(5):453–460.
 48. *Cây thuốc Việt Nam – Viện Dược liệu Việt Nam*, 2010.
 49. Trần Văn Ổn, et al. “Nghiên cứu phân lập và đánh giá tác dụng hạ đường huyết của Dây thìa canh lá to (*Gymnema latifolium*).” *Tạp chí Dược học*, 2012; (9):21–27.
 50. VTV1 – Chương trình Khoa học & Đời sống. “Phát hiện Dây thìa canh lá to – Dược liệu Việt Nam mới hỗ trợ điều trị tiểu đường,” 2018.
 51. Ramaraj R., et al. “Nutraceutical potential of sugarcane leaf extracts: A

- review.” *Industrial Crops and Products*, 2021; 169:113637. [PubMed PMID: 33987541]
52. Li C., et al. “Hypoglycemic and antioxidant activities of polysaccharides from sugarcane leaves.” *Carbohydrate Polymers*, 2020; 240:116270. [PubMed PMID: 31785716]
 53. Zhang Y., et al. “Polyphenols from sugarcane leaves alleviate metabolic syndrome by modulating gut microbiota and bile acid metabolism.” *Frontiers in Nutrition*, 2022; 9:886527. [PMC9098227]
 54. Chen L., et al. “Chemical composition and antioxidant capacity of sugarcane leaf extract.” *Food Chemistry*, 2019; 295:197–204.
 55. Janikula M. “Policosanols: A new treatment for cardiovascular disease?” *Alternative Medicine Review*, 2002; 7(3):203–217.
 56. Singh D.K., et al. “Policosanols: A review of pharmacological and clinical aspects.” *Plant Foods for Human Nutrition*, 2020; 75:215–226.
 57. WHO. *Guidelines on Good Agricultural and Collection Practices (GACP) for Medicinal Plants*. Geneva: World Health Organization, 2003.
 58. Gou JX, Zhou J, Li Y, et al. Investigation on phenomics of traditional Chinese medicine in diabetes mellitus. *Human Genomics*. 2023;17(1):68.
 59. Li X, Zhang J, Wang Y, et al. Study on the evolution of traditional Chinese medicine syndromes in patients with type 2 diabetes mellitus at the heat stage. *Chinese Journal of Integrative Medicine*. 2021; 27(11): 836–843.
 60. Chen HQ. 中医药治疗 2 型糖尿病的研究进展. *中医学*. 2025;14(5):1886–1891.
 61. Wang Q, Zhu YB. Association of traditional Chinese medicine body

constitution with insulin resistance and risk of diabetes mellitus. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2017;2017:4824151.

62. Wu S, Lu A, Sawant A, et al. The diagnostic study of Chinese medicine syndromes for diabetes mellitus: development and validation of an instrument. *Journal of Ethnopharmacology*. 2018;219:66–75.
63. Zhang J, Jiang Y, Zhang H. Correlation between TCM syndrome elements and modern symptoms of type 2 diabetes mellitus. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2021;2021:8753860.
64. Yang G, Wang H, Pan X, et al. Clinical observation on nourishing kidney Yin and clearing deficiency heat treatment for type 2 diabetes. *Chinese Journal of Integrative Medicine*. 2017;23(10):740–747.
65. Wang X, Zhou M, Wang X, et al. Syndrome differentiation and treatment based on Yin-Yang theory for patients with diabetes mellitus. *Journal of Traditional Chinese Medicine*. 2019;39(2):214–222.
66. Lê Ngọc Diễm, Nguyễn Ngọc Anh Thư, Lê Minh Hoàng. Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và một số yếu tố liên quan theo Y học cổ truyền ở bệnh nhân Đái tháo đường típ 2 tại Bệnh viện Y học cổ truyền Thành phố Cần Thơ. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 532(2), 2024.

PHỤ LỤC

PHIẾU KẾT QUẢ GIÁM ĐỊNH MẪU
(Kết quả giám định chỉ có giá trị với mẫu gửi phân tích)

Số: 1302.V.25....

Mẫu giám định: Mẫu mía (tên gọi do người gửi mẫu cung cấp)
Số lượng mẫu: 01 mẫu (Ký hiệu mẫu: MT.04.03)
Ngày lấy mẫu: 10/04/2025.
Người yêu cầu: Phạm Hồng Ngọc.
Địa chỉ: Tổ đường 5/4, Quán Toan, Hồng Bàng, Hải Phòng.
Nội dung yêu cầu: Xác định tên khoa học.
Phương pháp giám định: So sánh hình thái, đối chiếu khóa phân loại.
Cán bộ giám định: ThS. Nguyễn Quỳnh Nga, DS. Đào Việt Quốc.
Kết quả:

Yêu cầu	Kết quả
Tên khoa học:	<i>Saccharum officinarum</i> L.
Tên Việt Nam:	Mía, Cam giá.
Họ thực vật:	Họ Hòa thảo – Poaceae.

(Chi tiết theo Phụ lục 1, 2 đính kèm)

TT. TÀI NGUYÊN DƯỢC LIỆU
Giám đốc

Phạm Thanh Huyền

Hà Nội, ngày 18 tháng 4 năm 2025

KT. VIỆN TRƯỞNG
PHÓ VIỆN TRƯỞNG

Phan Thùý Hiền

Phụ lục 1. Kết quả giám định

Mẫu giám định: Mẫu mía (tên gọi do người gửi mẫu cung cấp).

Số lượng mẫu: 01 mẫu có ký hiệu MT.04.03 (mẫu được lưu trong vòng 6 tháng tại Trung tâm Tài nguyên dược liệu kể từ ngày trả kết quả giám định).

Nội dung yêu cầu: Xác định tên khoa học.

Phương pháp giám định: So sánh hình thái, đối chiếu khóa phân loại và bản mô tả trong các tài liệu chuyên ngành.

Cán bộ giám định: ThS. Nguyễn Quỳnh Nga; DS. Đào Việt Quốc.

Kết quả:

Sau khi phân tích mẫu có ký hiệu MT.04.03 kể trên, tham khảo các tài liệu hiện có kết hợp đối chiếu với hình ảnh tiêu bản của loài *Saccharum officinarum* L. được lưu giữ tại phòng tiêu bản Bảo tàng Lịch sử Tự nhiên Quốc gia Pháp (MNHN-P-P00777501), đã xác định được tên khoa học của mẫu, cụ thể như sau:

Yêu cầu	Kết quả
Tên khoa học:	<i>Saccharum officinarum</i> L.
Tên Việt Nam:	Mía, Cam giá
Họ thực vật:	Họ Hòa thảo – Poaceae.
Tài liệu tham khảo: 1. Nguyễn Tiến Bân - chủ biên (2005). <i>Danh lục các loài thực vật Việt Nam</i>. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội. 2. Phạm Hoàng Hộ (2000). <i>Cây cỏ Việt Nam: quyển III</i>, tr. 689. Nhà xuất bản trẻ, TP HCM. 3. Viện Dược liệu (2016). <i>Danh lục cây thuốc Việt Nam</i>. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật. 1191 trang. 4. Chen Shouliang et al. <i>Flora of China. Vol. 22 (Poaceae)</i>, pp 570. Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis.	

Phụ lục 2. Ảnh mẫu giám định



TIÊU CHUẨN CƠ SỞ DƯỢC LIỆU LÁ MÍA

1. Nguồn gốc: Lá mía (*Saccharum officinarum* L) được thu hái vào tháng 12/2024 tại Thạch Thành, Thanh Hóa.

2. Yêu cầu chất lượng

2.1. Mô tả: Dược liệu là phần phiến lá của lá mía, đã phơi hay sấy khô của cây mía (*Saccharum officinarum* L). Phiến lá có hình lưỡi mác, màu xanh hoặc màu xanh thẫm. Phiến lá có một gân giữa màu sáng.

2.2. Mất khối lượng do làm khô: Không quá 13,0%.

2.3. Tạp chất: Không được có đất, cát, sỏi.

2.4. Tro toàn phần: Không quá 10,0%.

2.5. Tro không tan trong acid hydrocloric: Không quá 3,0%.

2.6. Định tính: Phải có phép thử định tính của lá mía.

2.7. Giới hạn kim loại nặng: Không quá 10 ppm.

3. Phương pháp thử

3.1. Tính chất

Thử bằng cảm quan, chế phẩm phải đạt các yêu cầu đã nêu.

3.2. Mất khối lượng do làm khô

Thử theo ĐĐVN V, phụ lục 9.6 (xác định mất khối lượng do sấy khô): dùng 1,0 g mẫu thử, sấy trong tủ sấy ở 105°C, áp suất thường trong 4 giờ.

3.3. Tạp chất

Thử theo ĐĐVN V, phụ lục 12.11.

3.4. Tro toàn phần

Thử theo ĐĐVN V, phụ lục 9.8.

3.5. Tro không tan trong acid hydrocloric

Thử theo ĐĐVN V, phụ lục 9.7.

3.6. Định tính

Theo phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4- ĐĐVN V)

3.7. Giới hạn kim loại nặng

Thử theo ĐĐVN V, phụ lục 9.4.8, phương pháp 3, sử dụng 1g mẫu thử và 2ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

4. Đóng gói, ghi nhãn, bảo quản

Đóng trong bao bì kín, chống ẩm, có nhãn đúng quy định.

Bảo quản nơi khô ráo, thoáng mát, tránh ánh sáng.

Hà Nội, ngày 12 tháng 03 năm 2025

CÔNG TY CP DƯỢC PHẨM PHÚ TÍN



GIÁM ĐỐC
ThS.BS. *Đinh Minh Mẫn*

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ DỊCH CHIẾT BÀI THUỐC ĐHHV

1. Nguồn gốc: Dịch chiết bài thuốc ĐHHV được bào chế theo phương pháp chiết xuất dược liệu với nước cất, chiết nóng (100°C, 2 lần), dịch chiết được loại tạp, cô dưới áp suất thấp thành cao lỏng 1:1, sau đó cô quay chân không thành cao lỏng 5:1.

Công thức bài thuốc:

TT	Tên vị thuốc	Tên khoa học	Khối lượng
1.	Dây thìa canh	<i>Gymnema Sylvestre</i>	12g
2.	Lá mía	<i>Saccharum officinarum</i> L	12g
Tổng cộng			24g

2. Yêu cầu chất lượng

2.1. Tính chất: Dịch lỏng, màu nâu, không có nấm mốc, mùi thơm dược liệu, vị ngọt hơi đắng.

2.2. Định tính: Phải có phép thử định tính của các dược liệu thành phần (Dây thìa canh, Lá mía).

2.3. 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; Không quá 10^2 CFU vi khuẩn Gram âm dung nạp mật trong 1 g. Không có *Salmonella* trong 10 g. Không có *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* trong 1 g. Phụ lục 13.6, “Thử giới hạn nhiễm khuẩn”- ĐĐVN V.

3. Phương pháp thử

3.1. Tính chất

Thử bằng cảm quan, chế phẩm phải đạt các yêu cầu đã nêu.

3.2. Định tính

Theo phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4- ĐĐVN V)

3.3. Độ nhiễm khuẩn

Tiến hành thử theo phương pháp đĩa thạch, Phụ lục 13.6, “Thử giới hạn nhiễm khuẩn”- DDVN V.

4. Đóng gói, ghi nhãn, bảo quản

Đóng trong chai nhựa kín.

Nhãn rõ ràng, đúng quy chế.

Bảo quản nơi khô ráo, thoáng mát, tránh ánh sáng.

Hà Nội, ngày 12 tháng 03 năm 2025

CÔNG TY CP DƯỢC PHẨM PHÚ TÍN



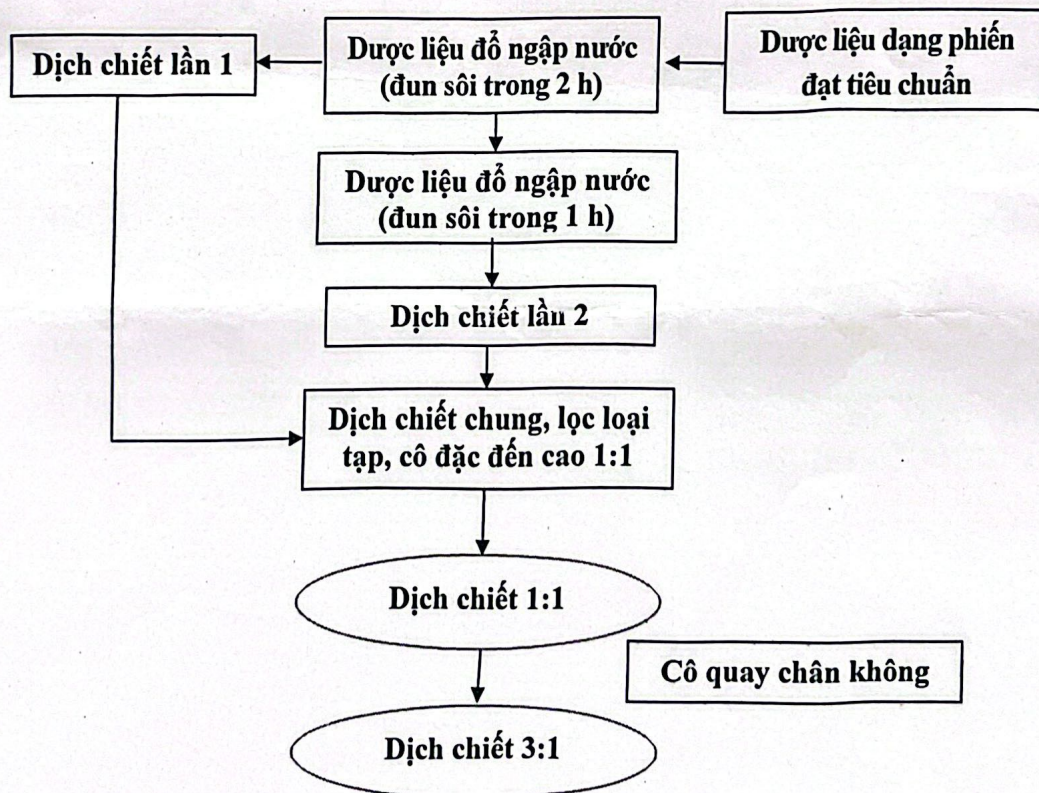
GIÁM ĐỐC
ThS.BS. *Dinh Minh Mẫn*

QUY TRÌNH BẢO CHẾ
DỊCH CHIẾT BÀI THUỐC ĐHHV
(bào chế tại công ty cổ phần dược phẩm Phú Tín)

1. Thành phần bài thuốc ĐHHV

STT	Tên vị thuốc	Tên khoa học	Hàm lượng
1	Dây thìa canh	<i>Gymnema Sylvestre</i>	12g
2	Lá mía	<i>Saccharum officinarum</i> L	12g
Tổng bài thuốc			24g

2. Sơ đồ quy trình bào chế dịch chiết



Hình 1. Quy trình bào chế dịch chiết bài thuốc ĐHHV

3. Thuyết minh chi tiết quy trình:

3.1. Giai đoạn chuẩn bị:

- Kiểm tra vệ sinh và khả năng vận hành các máy móc và thiết bị liên quan,
- Kiểm tra và cân được liệu,
- Chuẩn bị bao bì,
- Kiểm tra hồ sơ lô sản xuất kèm theo.

3.2. Giai đoạn chiết xuất:

- Dược liệu dạng phiến đạt tiêu chuẩn, sau khi được cân theo tỷ lệ của bài thuốc được chuyển vào hệ thống chiết.

- Cho nước cất vào bình chiết, ngập trên dược liệu, đậy nắp kín, cài đặt các thông số và tiến hành chiết xuất theo điều kiện sau:

+ Lượng nước cất dùng chiết (lít): gấp 10 lần khối lượng dược liệu (kg).

+ Nhiệt độ chiết: 100°C.

+ Thời gian và số lần chiết: lần 1 đun sôi trong 120 phút, lần 2 đun sôi trong 60 phút.

Trong quá trình chiết xuất cần kiểm tra và kiểm soát tốt các thông số về nhiệt độ, thời gian và hoạt động của hệ thống chiết.

- Thu và xử lý dịch chiết:

Sau lần chiết đầu tiên, bơm dịch chiết sang bình trung gian qua hệ thống lọc dịch chiết. Sau đó cấp dung môi (nước cất) cho lần chiết thứ 2 và tiếp tục chiết xuất.

3.3. Quá trình cô đặc

+ Dịch chiết lần 1 và lần 2 được gộp chung và được chuyển từ bình chiết sang bình đựng trung gian nhờ bơm áp suất giảm và được lọc qua bộ lọc. Cô đặc dịch chiết đến dịch chiết 1: 1 ở điều kiện nhiệt độ 60°C, áp suất chân không 50 bar.

+ Dịch chiết 1:1 đem cất quay chân không để thu lấy dịch chiết 3:1.

Ngày 12 tháng 03 năm 2025

CÔNG TY CP DƯỢC PHẨM PHÚ TÍN



GIÁM ĐỐC
ThS.BS. Đinh Minh Mẫn

CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

GIẤY XÁC NHẬN

Bộ môn Dược lý, Viện Đào tạo Dược, Học viện Quân y xác nhận học viên **Phạm Hồng Ngọc** thực hiện nội dung nghiên cứu thực nghiệm của đề tài luận văn *“Nghiên cứu độc tính cấp, bán trường diễn và tác dụng hạ Glucose máu của bài thuốc ĐHHV trên thực nghiệm”* tại Bộ môn từ 05/2025 đến 09/2025.

Các nội dung nghiên cứu:

- Đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của bài thuốc ĐHHV trên động vật thực nghiệm
- Đánh giá tác dụng hạ glucose máu của bài thuốc ĐHHV trên chuột cống gây đái tháo đường típ 2.

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

Hà Nội, ngày 09 tháng 12 năm 2025
Chủ nhiệm Bộ môn



Đại tá
Vũ Đình Phú

Đại tá PGS.TS Nguyễn Hoàng Ngân