



# **ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH VÀ TÁC DỤNG CHỐNG ĐÔNG MÁU CỦA “TRÂN CHÂU NGƯU HOÀNG HOÀN” TRÊN THỰC NGHIỆM**

**Trần Thái Hà, Đào Xuân Tĩnh, Phạm Thị Vân Anh**

**ĐẶT VẤN ĐỀ**

**TỔNG QUAN TÀI LIỆU**

**CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

**KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN**

**KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ**

## ĐẶT VẤN ĐỀ

- Theo Y học cổ truyền, các vị thuốc hành huyết - hoạt huyết hoá ứ - phá huyết trực ứ đã và đang được sử dụng trong các bệnh lý mạch máu nói chung và nhồi máu não nói riêng.
- Tác dụng hoạt huyết hoá ứ có cơ chế tương đồng với tác dụng chống đông của Y học hiện đại.
- “Trân châu ngư hoàng hoàn” là chế phẩm y học cổ truyền có nguồn gốc từ phương “Viên bổ trân châu hoàn” thuộc công thức bào chế kinh điển của Y học Tây Tạng, có tác dụng chính giúp lưu thông khí huyết, khai khiếu, tỉnh thần.

# MỤC TIÊU

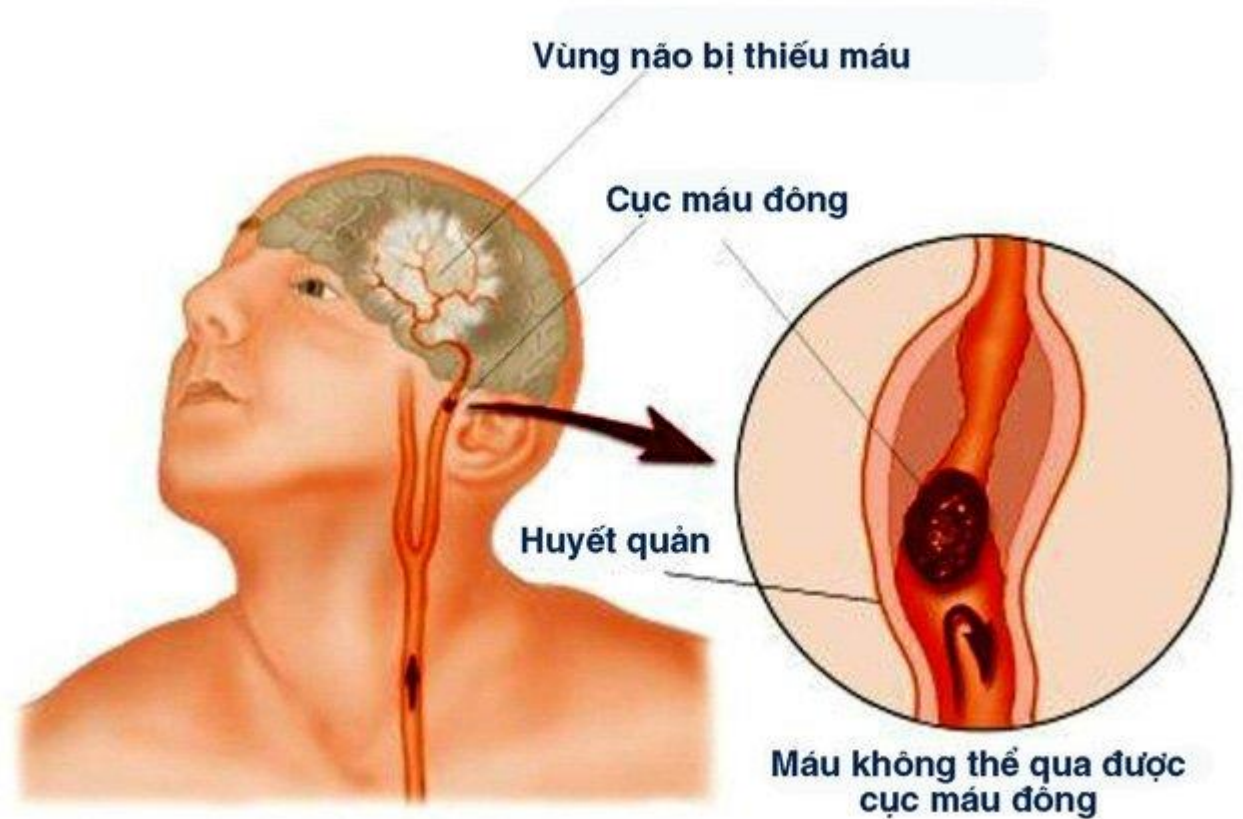
- ***Xác định độc tính cấp, độc tính bán trường diễn của “Trân châu ngư hoàng hoàn” trên động vật thực nghiệm.***
- ***Đánh giá tác dụng chống đông máu của “Trân châu ngư hoàng hoàn” trên động vật thực nghiệm.***

# TỔNG QUAN TÀI LIỆU

# NHỒI MÁU NÃO

Là hậu quả của giảm đột ngột lưu lượng tuần hoàn não do tắc một phần hoặc toàn bộ động mạch não hoặc động mạch cảnh hoặc ít gặp hơn là do tắc một tĩnh mạch não

-> Giảm hoặc mất đột ngột các triệu chứng thần kinh khu trú



# Y Học Hiện Đại

## Chẩn đoán nhồi máu não sau giai đoạn cấp

- Bệnh nhân đã được chẩn đoán nhồi máu não giai đoạn cấp.
- Tắc mạch thần kinh (Glasgow trên 10 điểm), liệt nửa người, liệt mặt trung ương, nói khó, nuốt nghẹn, rối loạn cảm giác, rối loạn cơ tròn.
- Nhồi máu não ở khu vực
- CLVT : Hình ảnh ổ giảm tỷ trọng ở nhu mô não
- MRI sọ não: Hình ảnh ổ nhồi máu giảm tín hiệu trên phim T1W, tăng tín hiệu trên phim T2W, hiệu ứng khối choán chỗ mắt sau một tháng

# Y HỌC CỔ TRUYỀN

## Chứng “<sup>ĐIỀU TRI</sup> Trúng phong”

- Trúng phong tạng phủ

➤ Trúng phong nội động kinh - Bình can và trúng phong tạng phủ.

- Phong đàm tắc trở -> Khu phong thông lạc hóa đàm

➤ Nguyên nhân: -> Thông tiện, tiết nhiệt hóa đàm

- Thể khí hư huyết ứ -> Ích khí hoạt huyết thông lạc

- Phong: nội phong, ngoại phong
- âm hư dương xung -> Tư âm tiềm dương, trấn can tức phong

- Trúng phong kinh lạc

- Dương bế -> Thanh nhiệt tức phong, tỉnh thần khai khiếu

- Đàm
- Âm bế -> Táo thấp hóa đàm, khai khiếu tỉnh thần

- Thoát chứng -> Ích khí ôn dương, phù chính cố thoát.



# Y HỌC CỔ TRUYỀN

- Y học cổ truyền quan niệm, khí huyết trong con người phải được lưu thông thì âm dương trong cơ thể mới cân bằng, chức năng các tạng phủ mới bình thường và cơ thể mới khỏe mạnh. Nếu sự lưu thông khí huyết bị trở ngại sẽ dẫn đến bế tắc và sinh bệnh.
- Các thuốc hoạt huyết hóa ứ của Y học cổ truyền được chia thành các nhóm như hành huyết - hoạt huyết tán ứ - phá huyết trục ứ, vận dụng trong nhiều trường hợp khác nhau như do chính chân huyết bị hư trệ, tức lượng máu trong cơ thể bị thiếu dẫn đến lưu thông kém; hoặc có sự ứ huyết do chấn thương, hoặc do trong lòng mạch có những mảnh huyết khối, xơ vữa cản trở sự lưu thông của máu; hoặc là do sự co thắt của lòng mạch, làm cho khí huyết lưu thông kém...
- Tác dụng hoạt huyết hoá ứ có cơ chế tương đồng với tác dụng chống đông của Y học hiện đại.

# TỔNG QUAN VỀ BÀI THUỐC VÀ CÁC VỊ THUỐC

STT	Tên vị thuốc	Tên khoa học	Hàm lượng	Tiêu chuẩn
1	Thiên trúc hoàng	Concrctio Silicae Banthusa	75mg	DĐVN V
2	Trầm hương	Aquilaria Agallocha	75mg	DĐVN V
3	Hồng hoa	Flos Carthami Tinctorii	75mg	DĐVN V
4	Ngưu hoàng	Calculus Bovis Artificialis	71,06mg	DĐVN V
5	Đan sâm	Radix Et Rhizoma Salviae Mitiorrhzae	47,09mg	DĐVN V
6	Giáng hương	Pterocarpus Indicus	47,09mg	DĐVN V
7	Trân châu	Avicula Martensii	37,67mg	DĐVN V
8	Thủy ngưu giác	Cornu Bubali	32,53mg	DĐVN V
9	Cam thảo	Radix Et Rhioma Glycyrrhiea	25mg	DĐVN V
10	Thạch斛	Herba Dendrobii	20mg	DĐVN V
11	Đông trùng hạ thảo	Cordyceps Sinensis	15,41mg	DĐVN V
12	Ngưu tất	Radix Achyranthis Bidentatae	9,42mg	DĐVN V
	Mật ong	Vừa đủ 1 viên		

# PHÂN TÍCH CÁC VỊ THUỐC



Ngưu hoàng



Thiên trúc hoàng



Đan sâm

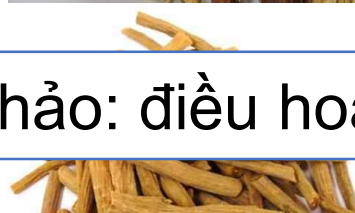


Hồng hoa

✓ Trừ đàm, thanh nhiệt, khai khiếu, tr

hoạt huyết thông kinh, tán ứ huyết, giảm đau

## Cam thảo: điều hoà các vị thuốc



✓ Bài thuốc có tác dụng chính giúp hoạt huyết hoá ứ, lưu thông khí huyết, khai khiếu, tỉnh thần.

Giáp  
điều khí, giảm  
đau

thảo. ích tinh tủy,  
cầm máu

huyết thông kinh,  
mạnh gân cốt, bổ  
can thận

dụng an thần,  
điều trị mất ngủ,  
hồi hộp

an thần, thanh nhiệt,  
ích vị sinh tân

# TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TRÊN THẾ GIỚI VÀ VIỆT NAM

## Tình hình nghiên cứu trên thế giới

- Nghiên cứu của Dương Lập Sơn trên 6075 bệnh nhân bệnh nhân đạgnão bằng thấonhỏbằng thuyềnkết hợpđiệnđảm.Kếtquảncảithểnbên Rankđốtkhảđạt86,7%truyền kết hợp đạt loại tốt (89%) so với nhóm bệnh nhận chỉ sử dụng đơn thuần y học hiện đại (67%).
- Vương Thị Kim Chi nghiên cứu trên 94 bệnh nhân nhồi máu não bằng nghiên cứu pháp của ông Đặng Thị Mai, kết hợp điện châm và châm cứu. Kết quả cải thiện máu não từ kết quả 3độđạt tốt(90%) đạt 97,28%, điểm Orgogozo tăng 61,68 điểm sau điều trị.

# **CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

# Đối tượng nghiên cứu

➤ Là một nhà sản xuất thuốc của Thụy Sĩ, sản phẩm công nghệ tiên tiến, khỏe mạnh, và XNK Thực phẩm chức năng Asean sản xuất. Công ty Đông dược Việt Y do Viện vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Đường phân phối đạt tiêu chuẩn cơ sở.

➤ Liều dùng trên người: 01 viên/ ngày, mỗi viên 1g  
➤ Chuột cống trắng chủng Wistar, cả hai với người lớn nặng 50kg, từ đó ta tính được liều giống, khỏe mạnh, cân nặng 180 -220g trên chuột nhắt trắng và chuột cống trắng. do Cơ sở động vật thí nghiệm Đan Phượng – Hà Nội cung cấp.





# Thiết bị và hóa chất nghiên cứu

- Kít định lượng các enzym và chất chuyển hóa trong máu
- Các hóa chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học.
- Máy xét nghiệm sinh hóa bán tự động
- Máy xét nghiệm huyết học ABX Micros ES 60 của Pháp.
- Rivaroxaban 20 mg, biệt dược Xarelto® - Bayer Health Care Pharmaceuticals.
- Lipopolysaccharides from Escherichia coli O55:B5 L2880-25MG của Sigma-Aldrich.
- Các dụng cụ thí nghiệm khác.



# Phương pháp nghiên cứu

## Thiết kế nghiên cứu

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



# Đánh giá độc tính cấp của Trân châu ngư hoàng hoàn

- Chuột được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con.
- Cho chuột uống thuốc với liều tăng:
  - Xác định liều thấp nhất gây chết 100% chuột
  - Liều cao nhất không gây chết chuột (gây chết 0% chuột)
- Theo dõi tình trạng chung của chuột
- Số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc.
- Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó xây dựng đồ thị để xác định LD50 của thuốc thử. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống viên hoàn Trân châu ngư hoàng hoàn

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

- **Chuột trắng**, được chọn ngẫu nhiên 30 con một lô trắng.
- **Lô 1** (chẩn đoán bệnh) (n = 10): uống dung môi pha thuốc 10mL/kg/ngày
- **Lô 2** (giảm đau) (n = 10): uống Tran châu ngưu hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày (liều có tác dụng tương đương liều dự kiến trên người, tính theo hệ số 6).
- **Lô 3** (giảm đau) (n = 10): uống Tran châu ngưu hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày (gấp 3 lần lô 1)
- Các thông số theo dõi được kiểm tra vào trước lúc uống thuốc, sau 4 tuần, 8 tuần và sau 12 tuần uống thuốc
- Chuột được uống nước hoặc thuốc thử trong 12 tuần liên tục, mỗi ngày một lần
- **Viết báo cáo**.

# Tác dụng chống đông máu trên mô hình gây đông bằng LPS trên thực nghiệm

- Lô 1 (gây đông): 7 con chuột cống nước cất + tiêm tĩnh mạch đuôi chuột nước muối sinh lý.
- Lô 2: (hai giờ) sau uống nước cất + tiêm tĩnh mạch đuôi chuột lipopolysaccharid + tiêm tĩnh mạch đuôi nước muối sinh lý.
- Lô 3: uống Rivaroxaban liều 3 mg/kg trong 7 ngày + tiêm tĩnh mạch đuôi chuột lipopolysaccharid.
- Lô 4: hai giờ sau khi uống nước cất/thuốc thử lần cuối, chuột cống được tiêm tĩnh mạch đuôi dung dịch lipopolysaccharid với liều 3 mg/kg, tiêm chậm trong 3 phút để gây đông máu. trên người, tính theo hệ số 6) trong 7 ngày + tiêm tĩnh mạch đuôi chuột lipopolysaccharid.
- Chuột cống ở tất cả các lô nghiên cứu được lấy máu vào thời điểm 4 giờ sau khi tiêm lipopolysaccharid để đánh giá các chỉ số nghiên cứu: Số lượng tiểu cầu trên người, tính theo hệ số 6) trong 7 ngày + tiêm tĩnh mạch đuôi chuột lipopolysaccharid.
- Chuột cống trắng được uống Trân châu ngưu hoàng hoàn liên tục trong 7 ngày trước khi tiêm lipopolysaccharid để gây tình trạng đông máu.

# KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

## Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của Trân Châu Ngưu Hoàng Hoàn

Lô chuột	n	Liều (ml/kg)	Liều (Viên/kg)	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	30	5,0	0	Không
Lô 2	10	45	7,5	0	Không
Lô 3	10	60	10,0	0	Không
Lô 4	10	75	12,5	0	Không

- Các lô chuột uống viên hoàn Trân châu ngưu hoàng hoàn liều từ 30 ml/kg tương đương 5,0 viên/kg đến liều tối đa 75 ml/kg tương đương 12,5 viên/kg không có biểu hiện độc tính cấp.
- Chưa xác định được LD50 do chưa có chuột chết trong quá trình nghiên cứu.
- Như vậy, Trân châu ngưu hoàng hoàn có tính an toàn cao, khoảng an toàn điều trị rộng với liều dung trên lâm sàng theo hướng dẫn của WHO

# Ảnh hưởng của Trăn châu ngưu hoàng hoàn đến thể trọng chuột

Thời gian	Lô chứng		Lô trị 1		Lô trị 2		p /t-test
	Trọng lượng	% tăng		% tăng		% tăng trong	

- Trọng lượng chuột ở cả 3 lô (lô chứng và 2 lô trị) đều tăng có ý nghĩa thống kê so với trước khi nghiên cứu. Điều này phù hợp với sinh lý phát triển của chuột trong điều kiện nuôi nhốt và được nuôi ăn bằng công cụ và khẩu phần chuyên dụng
- Nếu cân nặng chuột giảm đi hoặc thể trạng chung thay đổi trong quá trình nghiên cứu thì có thể là hậu quả của sự tác động của thuốc thử. Như vậy, kết quả nghiên cứu cho thấy Trăn châu ngưu hoàng hoàn trên cả hai lô trị đều không có ảnh hưởng đến tình trạng chung và trọng lượng của chuột

p trước – sau	< 0,001		< 0,001		< 0,001		
---------------	---------	--	---------	--	---------	--	--

- **Tình trạng chung:** Trong thời gian thí nghiệm, chuột ở các lô hoạt động bình thường, ăn uống tốt, nhanh nhẹn, lông mượt, mắt sáng, phân khô.

## Đánh giá chức năng tạo máu

Chỉ số	Thời điểm	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	$p_{c-1}$
--------	-----------	----------	----------	----------	-----------

- Kết quả cho thấy các chỉ số đánh giá chức năng tạo máu của chuột ở cả hai lô trị đều không có thay đổi có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) so với trước khi sử dụng Trân châu ngư hoàng hoàn và so với lô chứng ở cùng thời điểm. Như vậy, Trân châu ngư hoàng hoàn không gây ảnh hưởng đến chức phận tạo máu của chuột nghiên cứu.

MCV ( fl )	Trước dùng	$50,00 \pm 1,17$	$52,40 \pm 1,07$	$52,00 \pm 2,00$	> 0,05
	Sau 4 tuần	$52,40 \pm 2,76$	$51,20 \pm 2,10$	$51,70 \pm 1,83$	
	Sau 8 tuần	$51,40 \pm 3,57$	$50,90 \pm 2,77$	$51,70 \pm 2,06$	
	Sau 12 tuần	$51,60 \pm 4,36$	$51,60 \pm 1,65$	$51,30 \pm 1,64$	

## Ảnh hưởng của Trân châu ngọc hoàng hoàn đến hoạt độ AST và ALT trong máu chuột

- Kết quả cho thấy nồng độ 2 enzym này không tăng trong huyết thanh của các chuột trong 2 lô trị tại các thời điểm sau 4 tuần, 8 tuần, 12 tuần uống thuốc liên tục so với lô chứng và so với trước uống thuốc, chứng tỏ Trân châu ngọc hoàng hoàn không gây tổn thương tế bào gan của chuột.



## Ảnh hưởng của Trân châu ngọc hoàng hoàn đến chức năng thận chuột

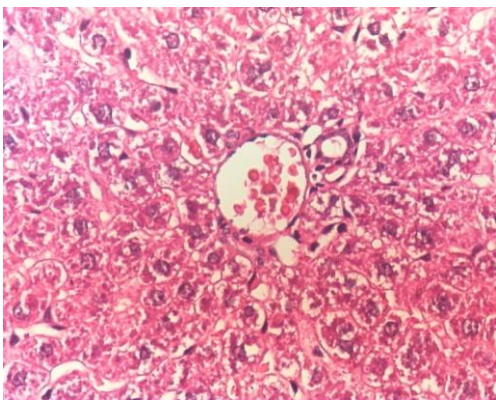
Đ. 1

- Kết quả cho thấy nồng creatinine không tăng trong huyết thanh của các chuột trong 2 lô trị tại các thời điểm sau 4 tuần, 8 tuần, 12 tuần uống thuốc liên tục so với lô chứng và so với trước uống thuốc, chứng tỏ Trân châu ngọc hoàng hoàn không gây ảnh hưởng chức năng thận của chuột.

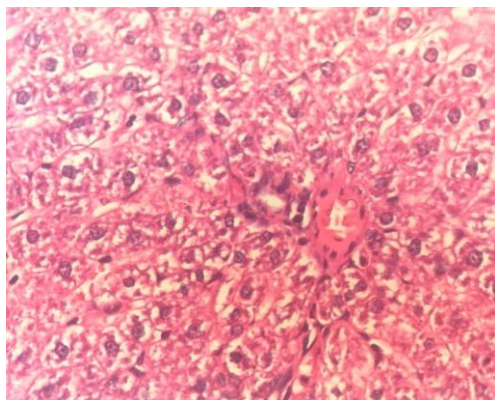
Cholesterol toàn phần (mmol/l)	Trước uống	$1,81 \pm 0,22$	$1,87 \pm 0,21$	$1,97 \pm 0,19$	> 0,05
	Sau 4 tuần	$1,65 \pm 0,23$	$1,69 \pm 0,24$	$1,82 \pm 0,25$	
	Sau 8 tuần	$1,64 \pm 0,38$	$1,63 \pm 0,35$	$1,76 \pm 0,30$	
	Sau 12 tuần	$1,86 \pm 0,39$	$1,63 \pm 0,30$	$2,02 \pm 0,28$	

## Hình ảnh đại thể và vi thể cơ quan sau 12 tuần nghiên cứu

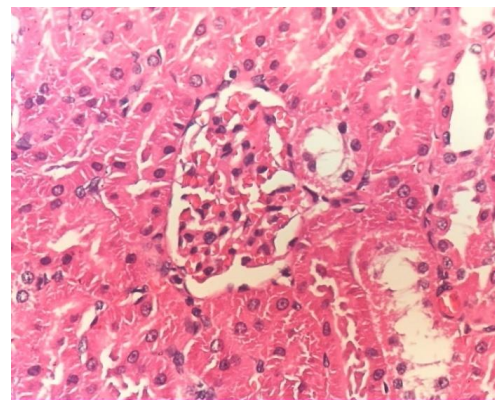
- Hình ảnh đại thể: Trên tất cả các chuột nghiên cứu, không quan sát thấy có thay đổi bệnh lý nào về mặt đại thể của các cơ quan: tim, phổi, gan, lách, tụy, thận và hệ thống tiêu hóa của chuột.
- Hình ảnh vi thể gan chuột: Tất cả các mẫu bệnh phẩm, tế bào gan có cấu trúc bình thường.
- Hình ảnh vi thể thận chuột: Tất cả các mẫu bệnh phẩm, tế bào thận có cấu trúc bình thường.



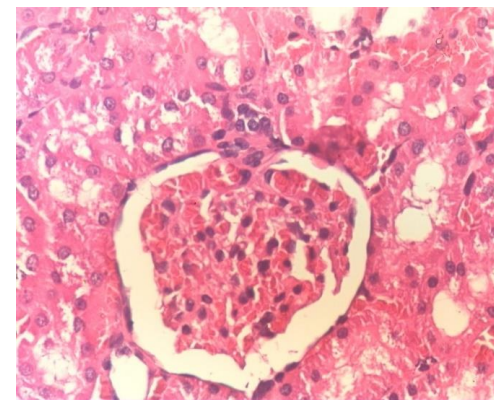
**Hình thái vi thể gan chuột lô  
trị 1 (chuột #93) (HE x 400)**



**Hình thái vi thể gan chuột lô  
trị 2 (chuột #76) (HE x 400)**



**Hình thái vi thể thận chuột lô  
trị 1 (chuột # 93) (HE x 400)**



**Hình thái vi thể thận chuột lô  
trị 2 (chuột # 76) (HE x 400)**

## Ảnh hưởng của Trăn châu ngưu hoàng hoàn đến số lượng tiểu cầu và nồng độ fibrinogen

- Số lượng tiểu cầu và nồng độ fibrinogen ở lô mô hình giảm rõ rệt so với lô chứng, chứng tỏ lipopolysaccharid gây hoạt hóa tiêu thụ tiểu cầu và fibrinogen trong quá trình đông máu.
- Số lượng tiểu cầu và nồng độ fibrinogen ở lô sử dụng Rivaroxaban tăng rõ rệt so với lô mô hình, do thuốc có khả năng ức chế trực tiếp yếu tố đông máu Xa, thường được dùng dự phòng huyết khối.
- Số lượng tiểu cầu và nồng độ fibrinogen ở lô sử dụng Trăn châu ngưu hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày tăng không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ) so với lô mô hình.
- Số lượng tiểu cầu và nồng độ fibrinogen ở lô sử dụng Trăn châu ngưu hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày tăng có ý nghĩa thống kê ( $p<0,05$ ) so với lô mô hình.
- Như vậy, Trăn châu ngưu hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày có tác dụng chống đông máu

## Ảnh hưởng của Trăn châu ngưu hoàng hoàn đến đến thời gian prothrombin (PTs), tỷ lệ prothrombin (PT %), prothrombin-INR (PT-INR), PT-INR, aPTTs và aPTT<sub>bệnh-chứng</sub>

- Lô mô hình: PTs, aPTTs kéo dài, aPTT<sub>bệnh-chứng</sub> tăng, PT-INR tăng và PT% giảm có ý nghĩa thống kê so
  - ✓ Như vậy, Trăn Châu Ngưu Hoàng Hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày có xu hướng tác dụng chống đông trên mô hình gây đông máu bằng lipopolysaccharid trên chuột cống trắng, tuy nhiên không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình.
  - ✓ Trăn Châu Ngưu Hoàng Hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày có tác dụng chống đông trên mô hình gây đông máu bằng lipopolysaccharid trên chuột cống trắng, với cơ chế tương tự Rivaroxaban liều 3mg/kg/ngày.
- kéo dài, PT-INR tăng và PT% giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ( $p < 0,05$ ).

# KẾT LUẬN

- Trăn châu ngưu hoàng hoàn ở liều tương đương liều dự kiến lâm sàng (0,12 viên/kg/ngày) và liều cao gấp 3 lần lâm sàng (0,36 viên/kg/ngày) đều không gây biểu hiện độc tính cấp và bán trường diễn trên chuột.
- Trăn châu ngưu hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày (tương đương liều lâm sàng trên người) có xu hướng tác dụng chống đông máu trên chuột, tuy nhiên số liệu chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình.
- Trăn châu ngưu hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày (gấp 3 liều lâm sàng trên người) có tác dụng chống đông máu trên chuột, số liệu có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình, với cơ chế tương tự Rivaroxaban liều 3mg/kg/ngày.

## KIẾN NGHỊ

- Từ kết quả nghiên cứu, chúng tôi xin đưa ra kiến nghị sau:
  - Thực hiện các nghiên cứu về tính an toàn và tác dụng điều trị trên lâm sàng.



**XIN TRÂN TRỌNG CẢM ƠN!**