

EVALUATION THE EFFECT OF *STAHLIANTHUS THORELII* GAGNEP. TABLES ON SOME MODELS OF BLOOD CLOTTING DISORDERS

Tran Ngoc Anh*, Nguyen Van Dung, Nguyen Thi Kim Ngan, Tran Ngoc Bao Uyen, Pho Thi Hai, Nguyen Khanh Ly, Bui Thi Luyen

TNU – University of Medicine and Pharmacy

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 15/3/2021 Revised: 28/4/2021 Published: 29/4/2021	This study aims to evaluate the hemostatic effect of <i>Stahlianthus Thorelii</i> Gagnep tables on some blood clotting disorders models. Method of experimental study on mice with models of blood clotting disorders with aspirin and heparin. The test sample was a <i>Stahlianthus Thorelii</i> Gagnep. tables, evaluated with two doses of 2.4 g/kg and 4.8 g/kg of mice weight. The results showed that at both dose levels of <i>Stahlianthus Thorelii</i> Gagnep tables on aspirin and heparin models of blood clotting disorders significantly reduces bleeding time ($p < 0.5$) but didn't affect clotting time, platelet count, prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT).
KEYWORDS <i>Stahlianthus Thorelii</i> Gagnep. Tables Hemostatic Blood clotting disorders Aspirin Heparin	

ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG CỦA VIÊN HOÀN TAM THẮT NAM TRÊN MỘT SỐ MÔ HÌNH GÂY RỐI LOẠN ĐÔNG MÁU

Trần Ngọc Anh*, Nguyễn Văn Dũng, Nguyễn Thị Kim Ngân, Trần Ngọc Bảo Uyên, Phó Thị Hải, Nguyễn Khánh Ly, Bùi Thị Luyến

Trường Đại học Y Dược - ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 15/3/2021 Ngày hoàn thiện: 28/4/2021 Ngày đăng: 29/4/2021	Nghiên cứu nhằm đánh giá tác dụng cầm máu của viên hoàn tam thất nam trên một số mô hình gây rối loạn đông máu. Phương pháp nghiên cứu thực nghiệm đánh giá trên chuột nhắt trắng thông qua mô hình gây rối loạn đông máu bằng aspirin và mô hình gây rối loạn đông máu bằng heparin. Mẫu thử là viên hoàn tam thất nam, được đánh giá với hai mức liều 2,4 g/kg và 4,8 g/kg trọng lượng chuột. Kết quả cho thấy ở cả hai mức liều và trên cả hai mô hình gây rối loạn đông máu, viên hoàn tam thất nam bước đầu thể hiện tác dụng làm giảm thời gian chảy máu so với lô aspirin và lô heparin ($p < 0,05$), nhưng không ảnh hưởng đến thời gian đông máu, số lượng tiểu cầu, thời gian prothrompin (PT), thời gian thromboplastin từng phần được hoạt hóa (aPTT).
TỪ KHÓA Viên hoàn tam thất nam Cầm máu Rối loạn đông máu Aspirin Heparin	

* Corresponding author. Email: ngocanhytn@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Chảy máu là triệu chứng xảy ra khi có chấn thương, tai nạn, phẫu thuật và trong bệnh di truyền như hemophilia hoặc von-Willebrand, cũng như các bệnh mắc phải khác (rối loạn thành mạch, rối loạn số lượng và chức năng tiểu cầu, rối loạn các yếu tố đông máu và rối loạn quá trình tiêu fibrin). Dù chảy máu với bất cứ nguyên nhân nào nếu không được cầm máu và cấp cứu kịp thời sẽ dẫn đến tình trạng mất máu. Tùy thuộc vào thể tích máu bị mất đi, bệnh nhân sẽ xuất hiện các biến chứng khác nhau, nặng nhất có thể gây tử vong [1], [2].

Qua nhiều nghiên cứu, quá trình cầm máu đã được hiểu biết sâu hơn, nhờ đó gọi ra những hướng mới trong nghiên cứu và phát triển các thuốc cầm máu [3]. Một trong những phương pháp tồn tại lâu đời, đơn giản, có hiệu quả là sử dụng dược liệu. Một số nghiên cứu đã cho thấy nhiều vị dược liệu có tác dụng cầm máu [4]-[8]. Vì vậy, việc sưu tầm, tìm kiếm, nghiên cứu các vị thuốc từ nguồn dược liệu sẵn có trong nước, vừa có tác dụng cầm máu hiệu quả vừa an toàn và có giá thành phù hợp luôn là vấn đề cấp thiết và cần được quan tâm ngày nay.

Cây Tam thất nam (*Stahlianthus thorelii* Gagnep, họ Gừng *Zingiberaceae*) được sử dụng khá phổ biến trong dân gian để chữa đau nhức xương, kinh nguyệt quá nhiều, chảy máu cam, đau bụng khi hành kinh hoặc ăn uống kém tiêu, nôn mửa, trúng độc hoặc rắn độc cắn,...[9]. Để góp phần vào làm rõ hơn những tác dụng trên của tam thất nam, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu: (1) Đánh giá tác dụng cầm máu của viên hoàn tam thất nam trên mô hình gây rối loạn đông máu bằng aspirin. (2) Đánh giá tác dụng cầm máu của viên hoàn tam thất nam trên mô hình gây rối loạn đông máu bằng heparin.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

* **Nguyên liệu:** Viên hoàn tam thất nam (TTN) (gồm bột tam thất nam, mật ong) do ThS. Nguyễn Minh Thúy – Bộ môn y học dân tộc – Trường Đại học Y Dược - Đại học Thái Nguyên cung cấp.

* **Động vật thử nghiệm:** Chuột cống trắng cả 2 giống, chủng *Wistar*, 150 - 180g Học viện Quân Y cung cấp. Chuột nhắt trắng chủng *Swiss albino*, 18 - 20g, Viện vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Động vật được nuôi trong phòng thí nghiệm Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Dược – Đại học Thái Nguyên 5 ngày trước khi nghiên cứu bằng thức ăn tiêu chuẩn do Viện vệ sinh Dịch tễ Trung ương cung cấp, uống nước tự do.

* **Hóa chất và máy móc, thiết bị:** Heparin BP 5000IU/ml (Rotexmedical GMBH Arznmittelwerk-Germany), aspirin 100mg (Trophaco), bộ hóa chất đông máu (Medizin techn Investitionsprojekte GmbH – Germany). Máy xét nghiệm đông máu bán tự động URIT 610 (Trung Quốc), máy huyết học URIT 3000 vet plus (Trung Quốc).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

* Tác dụng cầm máu trên mô hình gây rối loạn đông máu bằng aspirin

Chuột nhắt trắng được chia thành các lô, mỗi lô 10 con

- Lô 1 (Lô chứng): Uống nước hàng ngày.

- Lô 2 (Lô aspirin): Uống aspirin liều 26 mg/kg.

- Lô 3 (Lô A-TTN1): Uống aspirin liều 26 mg/kg và tam thất nam liều 2,4 g/kg.

- Lô 4 (Lô A-TTN2): Uống aspirin liều 26 mg/kg và tam thất nam liều 4,8 g/kg.

Chuột được uống aspirin và TTN trong 5 ngày liên tục. Tam thất nam và aspirin được uống cách nhau ít nhất 2 giờ.

Cách đánh giá:

- Xác định thời gian chảy máu:

Ngày thứ 5, sau khi chuột ở các lô được uống thuốc 2 giờ, tiến hành cắt đuôi chuột 2 mm tính từ chóp đuôi, nhúng ngay đuôi vào cốc nước 37°C và xác định thời gian máu chảy bằng đồng hồ

bấm giây. Thời gian chảy máu được tính từ khi có giọt máu đầu tiên đến khi máu ngừng chảy. So sánh thời gian chảy máu giữa các lô.

- Xác định số lượng tiểu cầu và các chỉ số đông máu cơ bản:

Sau khi xác định được thời gian chảy máu, các lô chuột tiếp tục được nuôi và uống thuốc trong 2 ngày. Sau đó lấy máu từ xoang hốc mắt xác định số lượng tiểu cầu trên máy huyết học URIT 3000 vet plus.

* Tác dụng cầm máu trên mô hình gây rối loạn đông máu bằng heparin

Chuột nhắt trắng được chia thành các lô, mỗi lô 10 con

- Lô 1 (Lô chứng trắng): Uống nước hàng ngày.

- Lô 2 (Lô heparin): Tiêm dưới da heparin liều 1200IU/kg x 2 lần/ngày.

- Lô 3 (Lô H-TTN1): Tiêm dưới da heparin liều 1200IU/kg x 2 lần/ngày và uống tam thất nam liều 2,4g/kg.

- Lô 4 (Lô H-TTN2): Tiêm dưới da heparin liều 1200IU/kg x 2 lần/ngày và uống tam thất nam liều 4,8g/kg.

Cách đánh giá:

Xác định thời gian chảy máu tương tự như mô hình aspirin ở trên và sau đó lấy máu từ xoang hốc mắt để xác định chỉ số PT, aPTT trên máy bán tự động URIT 610.

2.3. Xử lý số liệu

Kết quả được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SE$ ($\bar{X}$: giá trị trung bình, SE: sai số chuẩn). So sánh giá trị trung bình giữa các lô bằng phân tích one-way ANOVA, hậu kiểm để so sánh giữa thử với chứng (với thiết kế nghiên cứu từ 3 lô trở lên) hoặc dùng T-TEST (với thiết kế nghiên cứu có 2 lô). Sự khác biệt được coi là có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Tác dụng của tam thất nam trên mô hình gây rối loạn đông máu bằng aspirin

Thời gian chảy máu là thông số chung nhất đánh giá quá trình cầm máu, bao gồm cả các quá trình co mạch, tạo nút tiểu cầu và đông máu. Mô hình xác định thời gian chảy máu đuôi chuột là phương pháp đơn giản được sử dụng nhiều trong các nghiên cứu tác dụng cầm máu, do đó chúng tôi lựa chọn mô hình này [10].

Sự chảy máu sẽ nghiêm trọng hơn nếu trên bệnh nhân có sự rối loạn quá trình đông cầm máu. Chính vì vậy chúng tôi tiến hành đánh giá trên đối tượng có rối loạn bằng các mô hình gây rối loạn đông máu sử dụng aspirin, heparin.

Bảng 1. Ảnh hưởng của viên hoàn tam thất nam trên thời gian chảy máu của mô hình aspirin

Lô	Liều	Số lượng	Thời gian chảy máu (giây)	% giảm so với lô aspirin
Chứng		10	178,4 ± 10,31	-
Aspirin	26 mg/kg	10	369,1 ± 35,93*	-
A-TTN1	2,4 g/kg	10	251,4 ± 21,76*#	31,8
A-TTN2	4,8 g/kg	10	246,3 ± 11,07s*#	33,3

*: $p < 0,05$ khi so sánh với lô chứng, #: $p < 0,05$ khi so sánh với lô aspirin

Nhận xét: Kết quả bảng 1 cho thấy, aspirin liều 26 mg/kg kéo dài thời gian chảy máu so với lô chứng ($p < 0,05$). Lô viên hoàn tam thất nam ở cả 2 mức liều 2,4 g/kg và 4,8 g/kg đều làm giảm thời gian chảy máu so với lô aspirin với tỷ lệ thời gian giảm tương ứng là 31,8% và 33,3%.

Bảng 2. Ảnh hưởng của viên hoàn tam thất nam đến thời gian đông máu và số lượng tiểu cầu trên mô hình aspirin

Lô	Liều	Số lượng	Thời gian đông máu (giây)	Số lượng tiểu cầu aspirin ($10^9/l$)
Chứng		10	466,2 ± 33,31	819,0 ± 38,83
Aspirin	26 mg/kg	10	604,5 ± 28,09*	882,36 ± 41,97
A-TTN1	2,4 g/kg	10	564,4 ± 34,92	875,9 ± 34,34
A-TTN2	4,8 g/kg	10	533,8 ± 25,20	851,5 ± 28,12

*: $p < 0,05$ khi so sánh với lô chứng, #: $p < 0,05$ khi so sánh với lô aspirin

Nhận xét: Kết quả bảng 2 cho thấy, aspirin liều 26 mg/kg làm kéo dài thời gian đông máu so với lô chứng ($p < 0,05$). Lô uống viên hoàn tam thất nam cả 2 mức liều 2,4 g/kg và 4,8 g/kg đều không ảnh hưởng đến thời gian đông máu và số lượng tiểu cầu.

3.2. Tác dụng của tam thất nam trên mô hình gây rối loạn đông máu bằng heparin

Bảng 3. Ảnh hưởng của viên hoàn tam thất nam trên thời gian chảy máu của mô hình heparin

Lô	Liều	Số lượng	Thời gian chảy máu (giây)	% giảm so với lô heparin
Chứng		10	178,4 ± 10,31	-
Heparin	1200IU/kg x 2 lần/ngày	10	525,9 ± 59,51*	-
H-TTN1	2,4 g/kg	10	351,1 ± 23,86*#	33,2
H-TTN2	4,8 g/kg	10	342,9 ± 23,54*#	34,8

*: $p < 0,05$ khi so sánh với lô chứng, #: $p < 0,05$ khi so sánh với lô heparin

Nhận xét: Kết quả bảng 3 cho thấy, heparin liều 1200 IU/kg x 2 lần/ngày kéo dài thời gian chảy máu so với lô chứng ($p < 0,05$). Lô uống viên hoàn tam thất nam liều 2,4 g/kg và 4,8 g/kg đều làm giảm thời gian chảy máu so với lô heparin và tỷ lệ thời gian giảm tương ứng là 33,2%, 34,8%.

Bảng 4. Ảnh hưởng của viên hoàn tam thất nam đến một số chỉ số đông máu cơ bản trên mô hình heparin

Lô	Liều	Số lượng	Thời gian đông máu (giây)	PT (giây)	aPTT (giây)
Chứng		10	466,2 ± 33,31	8,2 ± 0,41	3,2 ± 0,22
Heparin	1200IU/kg x 2 lần/ngày	10	690,5 ± 22,59*	9,8 ± 0,50*	3,9 ± 0,24*
H-TTN1	2,4g/kg	10	646,6 ± 40,72*	9,4 ± 0,64	3,4 ± 0,22
H-TTN2	4,8g/kg	10	624,3 ± 23,54*	9,2 ± 0,41	3,3 ± 0,25

*: $p < 0,05$ khi so sánh với lô chứng, #: $p < 0,05$ khi so sánh với lô heparin

Nhận xét: Kết quả bảng 4 cho thấy, heparin liều 1200 IU/kg x 2 lần/ngày kéo dài thời gian đông máu, PT và aPTT so với lô chứng ($p < 0,05$). Lô uống viên hoàn tam thất nam cả 2 mức liều 2,4 g/kg và 4,8 g/kg đều không ảnh hưởng đến thời gian đông máu, PT, aPTT so với lô heparin ($p > 0,05$).

4. Bàn luận

4.1. Tác dụng của tam thất nam trên mô hình gây rối loạn đông máu bằng aspirin

Khi thành mạch bị tổn thương, các tiểu cầu ngưng kết để tạo thành nút tiểu cầu và tham gia 1 số giai đoạn của đông máu. Aspirin là thuốc ức chế kết tập tiểu cầu thông qua ức chế tổng hợp TXA₂ (tác nhân gây ngưng kết) nên ảnh hưởng đến giai đoạn tiểu cầu và đông máu, do đó thuốc làm kéo dài thời gian chảy máu [11]. Và để đánh giá xem viên hoàn tam thất nam có ảnh hưởng đến tiểu cầu và đông máu khi bị ức chế bởi aspirin không, chúng tôi tiến hành xác định số lượng tiểu cầu và thời gian đông máu.

Kết quả cho thấy, lô uống aspirin liều 26 mg/kg đã gây kéo dài thời gian chảy máu và thời gian đông máu so với lô chứng với $p < 0,05$, nhưng lại không ảnh hưởng đến số lượng tiểu cầu, không làm giảm số lượng tiểu cầu. Như vậy, aspirin liều 26 mg/kg đã gây được rối loạn cầm máu

giúp cho việc đánh giá tác dụng cầm máu của mẫu thử, nhưng muốn đánh giá tác dụng của tam thất nam trên mô hình gây rối loạn số lượng tiểu cầu thì cần sử dụng các tác nhân khác trên mô hình khác (ví dụ mô hình gây rối loạn số lượng tiểu cầu bằng kháng huyết thanh hoặc chiếu xạ...) [12]. Lô uống viên hoàn tam thất nam liều 2,4 g/kg và liều 4,8 g/kg đã làm giảm thời gian chảy máu tương ứng 31,8% và 33,3% so với lô aspirin nhưng không làm giảm thời gian đông máu và số lượng tiểu cầu. Như vậy có thể sơ bộ đánh giá rằng, viên hoàn tam thất nam có tác dụng cầm máu nhưng ít ảnh hưởng đến quá trình đông máu. Điều này gợi mở cho nhóm nghiên cứu sau này nghiên cứu sâu hơn về cơ chế cầm máu của viên hoàn tam thất nam liên quan đến giai đoạn thành mạch và tiểu cầu như tác dụng co mạch, sự kết tập tiểu cầu, sự bám dính của tiểu cầu...

4.2. Tác dụng của tam thất nam trên mô hình gây rối loạn đông máu bằng heparin

Quá trình đông máu có sự tham gia của các yếu tố đông máu đã được hoạt hóa. Dưới tác dụng của heparin tạo phức với antithrombin III làm tăng cường tác dụng của antithrombin III lên gấp nhiều lần nên làm mất hiệu lực của thrombin, đồng thời ức chế các yếu tố đông máu IX, X, XI, XII đã hoạt hóa do đó ức chế quá trình đông máu [11]. Do đó sử dụng heparin để gây mô hình rối loạn đông máu.

Kết quả cho thấy, heparin liều 1200IU/kg x 2 lần/ngày đã gây kéo dài thời gian chảy máu, thời gian đông máu và thời gian PT, aPTT. Như vậy, chúng tôi đã gây được mô hình rối loạn đông máu bằng heparin để nghiên cứu tác dụng cầm máu của mẫu thử. Trên mô hình này, viên hoàn tam thất nam liều 2,4 g/kg và 4,8 g/kg đã làm giảm thời gian chảy máu tương ứng 33,2% và 34,8% so với lô heparin nhưng cũng không ảnh hưởng đến thời gian đông máu, PT, aPTT. Như vậy thêm một cơ sở để cho thấy viên hoàn tam thất nam có tác dụng cầm máu mà không hoặc ít ảnh hưởng đến các yếu tố đông máu.

5. Kết luận

Viên hoàn tam thất nam liều 2,4 g/kg và liều 4,8 g/kg làm giảm thời gian chảy máu so với lô aspirin và lô heparin ($p < 0,05$) nhưng không ảnh hưởng đến thời gian đông máu, số lượng tiểu cầu chỉ số PT, aPTT trên 2 mô hình gây rối loạn đông máu bằng aspirin và heparin.

6. Khuyến nghị

Chúng tôi bước đầu đã làm rõ cơ chế cầm máu của viên hoàn tam thất nam không ảnh hưởng đến số lượng tiểu cầu và sự đông máu. Với mong muốn khẳng định về tác dụng cầm máu của sản phẩm này trên lâm sàng, chúng tôi khuyến nghị tiếp tục về cơ chế cầm máu của viên hoàn tam thất nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] V. D. Vu and Q. A. Nguyen, *Resuscitation*. Medical Publishing House, Ha Noi, 2019.
- [2] T. T. Nguyen, "Study the effectiveness of interventions in the treatment of nasal bleeding," *Journal of Practical Medicine*, no. 914, pp. 150-154, 2014.
- [3] Ministry of Health, *Physiology*. Medical Publishing House, 2011, pp. 99-137.
- [4] D. T. L. Do, *Vietnamese medicinal plants and herbs*. Medical Publishing House, Ha Noi, 2009, pp. 377-957.
- [5] C. T. Nguyen, "Research on hemostatic effect on the skin in the treatment of burns and soft wounds of Herbal Agrimoniae Pilosae extract", *Military Institute of Tradition Medicine*, no. 1, 2011.
- [6] T. V. Dao, T. H. G. Nguyen, and T. H. Nguyen, "Study on hemostatic effect of Caryota mitis L., Arecaceae on experiment," *Journal of Pharmaceutical research and Drug Infomation*, no. 2, pp. 56-59, 2014.
- [7] T. V. Dao, H. L. Tran, T. H. Ngo, and H. A. Do, "Study on the effect of Caryota mitis L., Arecaceae in the direction of hemostatic drugs," *Journal of Pharmaceutical research and Drug Information*, no. 1, pp. 22-26, 2016.
- [8] W. Ying and H. Juan, "Study on hemostatic activities of the rhizome of Paris bashanensis," *Pharmaceutical Biology*, vol. 51, no. 10, pp. 1321-1325, 2013.

- [9] V. T. Nguyen, *Vietnamese medicinal plants and commonly used remedies - 4ep.* World Publishers, Ha Noi, 2020, pp. 298-300.
- [10] H. Gerhand et al., *Drug discovery and evaluation - pharmacological assay.* Springer, 2002, pp. 1053-1092.
- [11] V. P. Dao, *Clinical pharmacology.* Medical Publishing House, Ha Noi, 2020.
- [12] T. T. Pham, "Overview of some research models on hemostatic effects of drugs in experimental animals," Graduate thesis of pharmacist, Ha Noi University of Pharmacy, 2014.