

# Đánh giá tác dụng của viên nang Linh Lộc Sơn đối với một số chỉ số miễn dịch chung trên động vật thực nghiệm

## EVALUATE THE EFFECTS OF LINH LOC SON CAPSULES ON SOME GENERAL IMMUNE INDEXES IN EXPERIMENTAL ANIMALS

Nguyễn Thị Kim Ngân<sup>1</sup>, Phạm Thị Vân Anh<sup>2</sup>, Nguyễn Duy Cường<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Y Hà Nội

<sup>3</sup>Cục Y tế, Bộ Công an

### TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Đánh giá tác dụng của viên nang Linh Lộc Sơn đối với một số chỉ số miễn dịch chung trên động vật thực nghiệm.

**Đối tượng và phương pháp:** Thử nghiệm trên động vật có nhóm đối chứng. 50 chuột nhắt trắng chủng Swiss, thuần chủng được tiêm màng bụng cyclophosphamid, liều duy nhất 200 mg/kg thể trọng để gây suy giảm miễn dịch, sau đó được chia ngẫu nhiên thành 5 lô: lô 1 (Chứng sinh học), lô 2 (mô hình), lô 3 (chứng dương), lô 4,5 (uống Linh Lộc Sơn). Thời gian nghiên cứu từ tháng 05/2021-11/2021.

**Kết quả:** Đánh giá trên 5 lô chuột thử nghiệm: Lô uống Linh lộc sơn liều 8.8g/kg: Trọng lượng lách tương đối có xu hướng tăng so với lô mô hình, tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ). Lô uống Linh lộc sơn liều 17,6g/kg: Trọng lượng lách tương đối tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ( $p<0,05$ ). Trọng lượng tuyến ức tương đối ở các lô uống Linh lộc Sơn (lô 4 và lô 5) không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ( $p>0,05$ ).

**Kết luận:** Viên nang Linh lộc sơn có tác dụng tăng trọng lượng lách tương đối nhưng chưa rõ tác dụng đối với trọng lượng tuyến ức tương đối.

**Từ khóa:** Tác dụng, miễn dịch, trọng lượng lách tương đối, trọng lượng tuyến ức tương đối, Linh Lộc Sơn.

### SUMMARY

**Objective:** To evaluate the effects of Linh Loc Son capsules on some general immune indexes in experimental animals.

**Subjects and methods:** Animal trials with control groups. 50 Swiss white mice, purebred, were injected peritoneally with cyclophosphamide, a single dose of 200 mg/kg body weight to induce immunodeficiency, then they were randomly divided into 5 groups: group 1 (Biological control), group 2 (model), group 3 (positive control), groups 4 and 5 (drink Linh loc son). The study period was from May 2021 to Nov 2021.

Ngày nhận bài: 14/3/2022

Ngày phản biện: 16/3/2022

Ngày chấp nhận đăng: 4/4/2022



**Results:** Evaluation on 5 groups of trial mice: Linh loc son used Goup with dose of 8.8g/kg: Relative spleen weight tended to increase compared to the model group, however, the difference was not statistically significant ( $p>0.05$ ). Group of Linh Loc Son dose of 17.6g/kg: The relative weight of spleen increased with statistical significance compared to the model group ( $p<0.05$ ). The relative thymus weight in the groups taking Linh loc son (groups 4 and 5) was not significantly different from the model group ( $p>0.05$ ).

**Conclusion:** Linh loc son capsules has the effect of increasing the relative spleen weight but has not shown the effect on the relative thymus weight.

**Keywords:** Effect, immunity, relative spleen weight, relative thymus weight, Linh Loc Son.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Miễn dịch là lĩnh vực được ứng dụng nhiều trong y học và ngày càng phát triển khẳng định vai trò của nó trong các bệnh tự miễn hoặc suy giảm miễn dịch. Hệ miễn dịch có vai trò bảo vệ cơ thể trước các tác nhân gây bệnh. Hiện nay, bệnh lý liên quan đến suy giảm miễn dịch ngày càng gia tăng [1],[2].

Miễn dịch trị liệu có vai trò nhất định trong điều trị những bệnh lý này. Bảo vệ và nâng cao hệ miễn dịch của cơ thể có vai trò rất quan trọng trong điều trị các bệnh tự miễn, bệnh ung thư, bệnh mạn tính. Các chất kích thích miễn dịch (KTMD) có nguồn gốc rất đa dạng [2]. Các chất KTMD có nguồn gốc từ vi sinh vật, cấu thành hay chất chuyển hóa của một hoặc nhiều loại vi khuẩn, virus, ký sinh trùng, nấm như BCG,... có hiệu quả tốt trong việc tăng cường hệ miễn dịch, tuy nhiên còn nhiều tác dụng không mong muốn. Bên cạnh đó, các thuốc có nguồn gốc sinh học giá thành còn đắt, trong khi bệnh suy giảm miễn dịch thường kéo dài, nên chi phí cho một ca bệnh thường rất tốn kém kinh tế và thời gian. Thuốc có nguồn gốc hóa dược thường có độc tính cao, ảnh hưởng đến chức năng gan thận, một số trường hợp còn gặp tai biến trên lâm sàng [3],[4].

Việt Nam với nền Y học cổ truyền (YHCT) lâu đời với kinh nghiệm sử dụng các cây con làm thuốc với cùng phong phú, đặc biệt là các thuốc bổ dưỡng

tăng cường sức khỏe. Vì vậy, việc nghiên cứu tìm kiếm chất kích thích miễn dịch nguồn gốc YHCT nhằm tăng thêm sự lựa chọn cho người thầy thuốc, đồng thời cung cấp thêm phương pháp điều trị hạn chế được các tác dụng không mong muốn cho người bệnh là rất cần thiết.

Linh Lộc Sơn dựa trên bài thuốc kinh nghiệm trong đó có sự kết hợp của các vị thuốc Nhân sâm, Nhung hươu, Hoài sơn, Sâm cau, Ba kích, Hà thủ ô đồ theo lý luận y học cổ truyền có tác dụng ích khí, bổ thận sinh tinh. Do đó Linh Lộc Sơn có tác dụng tăng cường sức khỏe, tăng cường miễn dịch [5],[6]. Tuy nhiên, hiện nay chưa có nghiên cứu một cách đầy đủ về bài thuốc này. Vì vậy, để có cơ sở khoa học chính xác trước khi đưa viên nang vào thử nghiệm lâm sàng, đồng thời tiến hành những thử nghiệm trên động vật thực nghiệm nhằm minh chứng cho tác dụng của thuốc, chúng tôi tiến hành đề tài này nhằm mục tiêu: Đánh giá tác dụng của viên nang Linh Lộc Sơn đối với một số chỉ số miễn dịch chung trên động vật thực nghiệm.

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

### Chất liệu nghiên cứu

- Chất liệu nghiên cứu: viên nang cứng Linh Lộc Sơn.

- Đơn vị sản xuất: Công ty TNHH Bách Thảo Dược đạt tiêu chuẩn GMP.

**Bảng 1. Thành phần viên nang Linh Lộc Sơn**

Thành phần	Tên Latinh	Hàm lượng (mg)	Cao khô hỗn hợp (mg)	Tiêu chuẩn
Nhân sâm	<i>Rhizoma et Radix Ginseng</i>	333.3	480	Vị thuốc đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam xuất bản lần thứ 5; Viên nang đạt tiêu chuẩn cơ sở
Nhung hươu	<i>Cornu cervi pantotrichum</i>	166.6		
Hoài sơn	<i>Tuber Dioscoreae persimilis</i>	1666.6		
Sâm cau (Thân rễ)	<i>Rhizoma Curculiginis</i>	833.3		
Ba kích (rễ)	<i>Radix Morindae officinalis</i>	1666.6		
Hà thủ ô đỏ (rễ)	<i>Radix fallopiae multiflorae</i>	1666.6		
Tá dược Magnesium stearate, tal vừa đủ 1 viên nang cứng 500mg				

- Liều dùng: 1 viên nang cứng tương đương 500mg, ngày dùng 6 viên chia làm 2 lần

- Cyclophosphamid: dạng thuốc bột, biệt dược Endoxan lọ 200 mg của hãng Baxter, Đức.

- Thuốc chống dương: dạng bột, biệt dược Tetramisole hydrochloride lọ 5 g của hãng Sigma, Đức. Thuốc được dùng làm đối chứng dương trong nghiên cứu miễn dịch.

### Đối tượng nghiên cứu

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, thuần chủng, cả hai giống, nặng  $20 \pm 2$  gam do Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương cung cấp.

Động vật được nuôi trong điều kiện đầy đủ thức ăn và nước uống tại phòng thí nghiệm Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội từ 7 - 10 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu.

### Địa điểm, thời gian nghiên cứu

- Địa điểm: Bộ môn Dược lý Trường Đại học Y Hà Nội.

- Thời gian: từ tháng 05/2021 đến tháng 11/2021.

### Dụng cụ, hóa chất nghiên cứu

- Hồng cầu cừu (HCC): máu tĩnh mạch cừu

được lấy trong điều kiện vô trùng, bảo quản trong dung dịch alsever (glucose 24,6g, natricitrat 9,6g, natriclorid 5,05g, nước cất vừa đủ 1200 ml, pH 6,1), ở nhiệt độ 4°C, sử dụng trong thời hạn 2 tuần.

- Hoá chất và máy huyết học tự động Exigo - VET của hãng Exigo, Thụy Điển.

- Kit định lượng IgM, TNF- $\alpha$  của Hãng Invitrogen, 542 Flynn Camarillo, Mỹ.

- Nhũ dịch OA (Ovalbumin + Al(OH)<sub>3</sub>): dùng làm kháng nguyên gây miễn cảm cho chuột.

### Phương pháp nghiên cứu

**Thiết kế nghiên cứu:** Thử nghiệm trên động vật có nhóm đối chứng.

#### Các bước tiến hành:

Tiêm màng bụng cyclophosphamid (CY), liều duy nhất 200 mg/kg thể trọng để gây suy giảm miễn dịch [7],[8],[9].

Chuột thí nghiệm được chia ngẫu nhiên thành 5 lô:

- Lô 1 (n=10) Chứng sinh học: Uống nước cất.

- Lô 2 (n=10) Mô hình: Chuột được tiêm CY liều 200 mg/kg + uống nước cất.

- Lô 3 (n=10) Chứng dương: Chuột được tiêm



CY liều 200 mg/kg + uống levamisol liều 100 mg/kg.

- Lô 4 (n=10) CF2 liều 2 mg/kg: Chuột được tiêm CY liều 200 mg/kg + uống Linh Lộc Sơn liều 8,8g/kg/ngày (tương đương liều điều trị dự kiến trên người).

- Lô 5 (n=10) CF2 liều 4 mg/kg: Chuột được tiêm CY liều + uống Linh Lộc Sơn liều 17,6g/kg/ngày (gấp 2 lần liều điều trị dự kiến trên người).

Mô hình được tiến hành từ ngày thứ 1 đến ngày thứ 8. Chuột bắt đầu được uống nước cất, levamisol và thuốc thử liên tục từ ngày thứ 1 đến ngày thứ 7. Ngày thứ 4 của mô hình, tiêm màng bụng cyclophosphamid liều 200mg/kg ở các lô 2, 3, 4 và 5. Ngày thứ 8, giết chuột, lấy máu và các tổ chức lympho để làm xét nghiệm.

#### Phương pháp đánh giá kết quả nghiên cứu

Đánh giá tác dụng của viên nang Linh Lộc Sơn trên một số chỉ số miễn dịch chung, bao gồm: trọng lượng lách tương đối và trọng lượng tuyến ức tương đối.

Chuột được giết, được bóc lộ lách, tuyến ức. Bóc tách lấy toàn bộ lách và tuyến ức và ngâm ngay vào dung dịch nuôi tế bào. Lọc sạch các tổ chức xung quanh, dùng gạc thấm khô rồi đem cân. Ghi lại trọng lượng lách, tuyến ức của từng chuột. Trọng lượng lách, tuyến ức tương đối bằng tỷ lệ trọng lượng các cơ quan này so với trọng lượng của từng chuột tương ứng

*Chỉ số nghiên cứu:*

- Trọng lượng lách tương đối.

- Trọng lượng tuyến ức tương đối

Công thức tính là trọng lượng lách, tuyến ức tương ứng với thể trọng chuột.

Trọng lượng lách hoặc tuyến ức tương đối (%) = Trọng lượng lách hoặc tuyến ức (mg) / Thể trọng chuột (g)

#### Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được xử lý bằng phương pháp thống kê y sinh học theo T test - Student và test trước sau (Avant-après). Kết quả được trình bày dưới dạng  $\bar{X} \pm SE$ . Quy ước:

\*:  $p \leq 0,05$ ; \*\*:  $p \leq 0,01$ ; \*\*\*:  $p \leq 0,001$  so với lô chứng sinh học

$\Delta$ :  $p \leq 0,05$ ;  $\Delta\Delta$ :  $p \leq 0,01$ ;  $\Delta\Delta\Delta$ :  $p \leq 0,001$  so với lô mô hình

#:  $p \leq 0,05$ ; ##:  $p \leq 0,01$ ; ###:  $p \leq 0,001$  so với lô chứng dương

#### Đạo đức trong nghiên cứu

Việc lựa chọn động vật thí nghiệm, điều kiện nuôi, chăm sóc và sử dụng động vật đều tuân thủ chặt chẽ theo “Hướng dẫn nội dung cơ bản thẩm định kết quả nghiên cứu tiền lâm sàng thuốc tân dược, thuốc cổ truyền, vắc xin và sinh phẩm y tế” của Bộ Y tế.

Nghiên cứu được thông qua Hội đồng Y đức Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam.

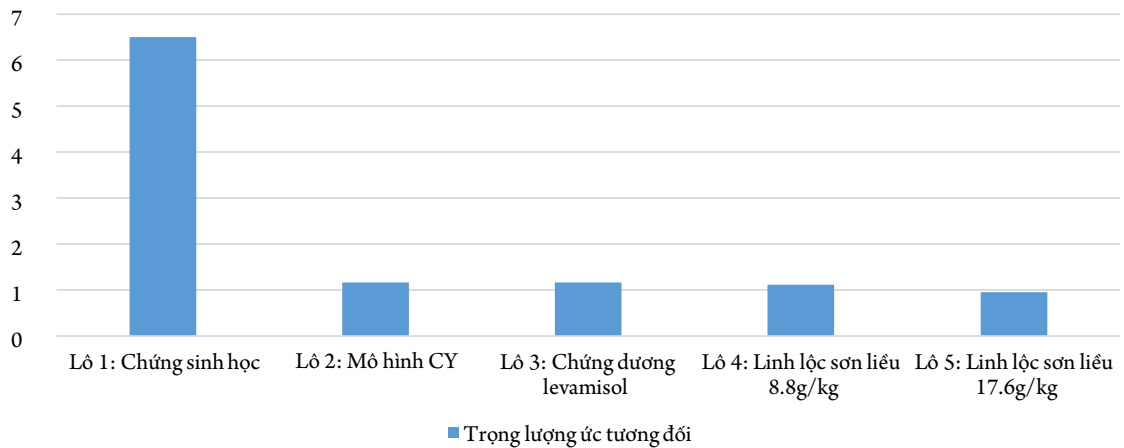
## KẾT QUẢ

Bảng 1. Ảnh hưởng của viên nang Linh Lộc Sơn trên trọng lượng lách tương đối

Lô	n	Trọng lượng lách tương đối
Lô 1: Chứng sinh học	10	7,10 ± 1,69
Lô 2: Mô hình CY	10	3,12 ± 0,62***
Lô 3: Chứng dương levamisol	10	2,67 ± 0,48***
Lô 4: Linh lộc sơn liều 8.8 g/kg	10	3,21 ± 0,42***
Lô 5: Linh lộc sơn liều 17.6g/kg	10	4,00 ± 0,84*** $\Delta$

*Chú thích:* \*\*\*: Khác biệt so với Chứng sinh học với  $p < 0,001$

$\Delta$ : Khác biệt so với Mô hình với  $p < 0,05$



Biểu đồ 1. Trọng lượng lách tương đối

Lô mô hình (lô 2): Trọng lượng lách tương đối giảm rõ rệt so với lô chứng sinh học ( $p < 0,001$ ).

Lô uống levamisol (lô 3): Trọng lượng lách tương đối không có sự khác biệt so với lô mô hình ( $p > 0,05$ ).

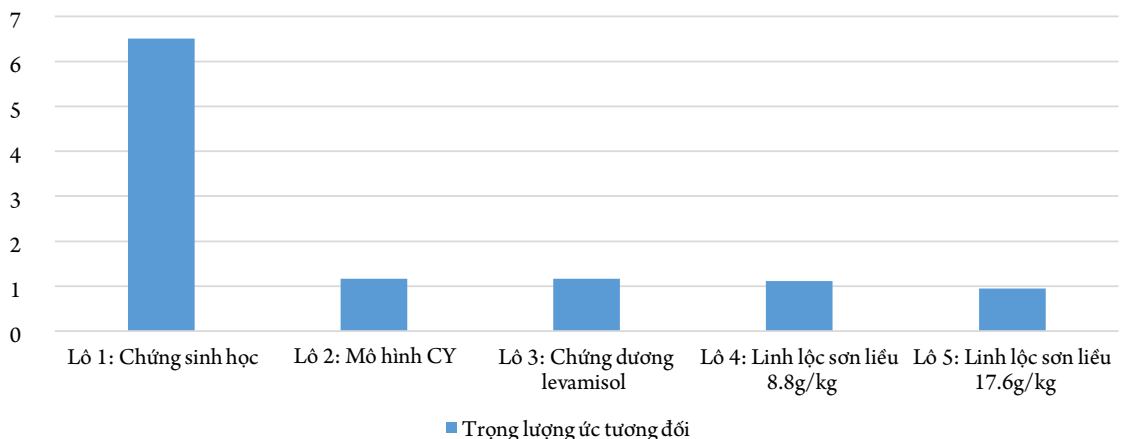
Lô uống Linh lộc sơn liểu 8.8g/kg: Trọng lượng lách tương đối có xu hướng tăng so với lô mô hình, tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

Lô uống Linh lộc sơn liểu 17.6g/kg: Trọng lượng lách tương đối tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với  $p < 0,05$ .

Bảng 2. Ảnh hưởng của viên nang Linh Lộc Sơn trên trọng lượng tuyến ức tương đối

Lô	n	Trọng lượng ức tương đối
Lô 1: Chứng sinh học	10	6,50 ± 1,56
Lô 2: Mô hình CY	10	1,16 ± 0,31***
Lô 3: Chứng dương levamisol	10	1,17 ± 0,42***
Lô 4: Linh lộc sơn liểu 8.8g/kg	10	1,11 ± 0,16***
Lô 5: Linh lộc sơn liểu 17.6g/kg	10	0,95 ± 0,21***

Chú thích: \*\*\*: Khác biệt so với Chứng sinh học với  $p < 0,001$



Biểu đồ 1. Trọng lượng lách tương đối



Lô mô hình (lô 2): Trọng lượng tuyến ức tương đối giảm rõ rệt so với lô chứng sinh học ( $p < 0,001$ ).

Lô uống levamisol (lô 3): Trọng lượng tuyến ức tương đối không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ( $p > 0,05$ ).

Các lô uống Linh lộc sơn (lô 4 và lô 5): Trọng lượng tuyến ức tương đối không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ( $p > 0,05$ ).

## BÀN LUẬN

Các cơ quan chịu trách nhiệm miễn dịch đều thuộc mô lympho, được chia thành cơ quan trung ương và cơ quan ngoại vi. Các cơ quan lympho trung ương là nơi sinh sản và biệt hóa tế bào lympho đến trưởng thành, đủ tư cách xử lý kháng nguyên. Sau đó, các tế bào lympho chuyển tới cơ quan ngoại vi, trú ngụ lâu dài và biệt hóa dưới tác dụng của kháng nguyên [10],[11].

Lách là một tổ chức lympho ngoại vi lớn, là nơi trú ngụ của các lympho bào (chủ yếu là lympho bào B) và đại thực bào. Đây cũng là nơi tập trung kháng nguyên, nhất là các kháng nguyên vào cơ thể bằng đường máu. Sau khi xâm nhập và được đại thực bào xử lý, kháng nguyên sẽ kích thích các tế bào lympho B tại lách phân chia, biệt hóa thành tương bào và sản xuất kháng thể để loại trừ kháng nguyên đó. Theo dõi trọng lượng lách đánh giá được một phần tổn thương tế bào lympho đã mãn cảm. Từ đó đối chiếu với các chỉ tiêu về cấu trúc vi thể của lách và chức năng của các lympho bào B để đánh giá đầy đủ hơn về khả năng đáp ứng miễn dịch dịch thể.

Tuyến ức là cơ quan lympho trung ương, đảm nhiệm chức năng huấn luyện, phân chia và biệt hóa các tế bào lympho T. Tế bào lympho trong tuyến ức là từ tủy xương di cư tới. Tuyến ức đã tạo một vi môi trường thuận lợi để các tế bào lympho này biệt hóa thành dòng tế bào lympho T [10],[11].

Do đó, trọng lượng tuyến ức là chỉ số quan trọng cùng với cấu trúc vi thể, chức năng của các lympho bào T để đánh giá đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào.

Khi tính trọng lượng lách và tuyến ức, chỉ số trọng lượng tương đối được sử dụng để loại trừ sự thay đổi trọng lượng lách và tuyến ức là do sự thay đổi của trọng lượng chung của cơ thể.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, ở lô mô hình, trọng lượng lách tương đối (TLLTĐ) của chuột nhắt trắng giảm rõ rệt so với lô chứng sinh học ( $p < 0,001$ ). Ở 3 lô dùng levamisol và viên nang Linh lộc sơn các liều, TLLTĐ cũng giảm có ý nghĩa so với lô chứng sinh học. So với lô mô hình, TLLTĐ ở lô viên nang Linh lộc sơn liều 8,8 g/kg có xu hướng tăng (mức tăng là 5% so với lô mô hình) và sự khác biệt là không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Ở lô dùng viên nang Linh lộc sơn liều 17,6 g/kg, TLLTĐ tăng rõ so với lô mô hình (mức tăng là 25%, gấp 5 lần so với lô Viên nang Linh lộc sơn liều 8,8 g/kg); điều đặc biệt là viên nang Linh lộc sơn liều 17,6 g/kg làm tăng rõ TLLTĐ so với lô chứng dương ( $p < 0,01$ ).

Về trọng lượng tuyến ức tương đối (TLTƯTĐ), ở lô mô hình, TLTƯTĐ giảm có ý nghĩa so với lô chứng sinh học ( $p < 0,05$ ). Ở 3 lô dùng levamisol và viên nang Linh lộc sơn các liều, TLTƯTĐ cũng giảm so với lô chứng sinh học. So với lô mô hình, viên nang Linh lộc sơn liều 8,8 g/kg và viên nang Linh lộc sơn liều 17,6 g/kg làm tăng TLTƯTĐ lần lượt là 12,5% và 25%, mức tăng ở lô viên nang Linh lộc sơn liều 17,6 g/kg gấp 2 lần so với lô viên nang Linh lộc sơn liều 8,8 g/kg. Tuy nhiên, ở cả 2 liều thuốc thử, sự khác biệt về TLTƯTĐ so với lô mô hình là không có ý nghĩa thống kê.

## KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu tác dụng của viên nang Linh

lộc sơn ở 2 mức liều 8.8g/kg và 17.6g/kg về một số chỉ số miễn dịch chung trên chuột, chúng tôi có một số kết luận sau:

- Linh lộc sơn liều 8.8g/kg có tác dụng tăng trọng lượng lách tương đối nhưng không khác biệt với lô mô hình.

- Linh lộc sơn liều 17.6g/kg có tác dụng tăng trọng lượng lách tương và có khác biệt so với lô mô hình.

- Về tác dụng tới trọng lượng tuyến ức tương đối: Linh lộc sơn chưa cho thấy sự khác biệt so với lô mô hình.

---

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bộ môn Miễn dịch – Sinh lý bệnh (2011)**, *Sinh lý bệnh và miễn dịch*, Trường Đại học Y Hà Nội, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
2. **De Tommasi et al (2000)**, *Miễn dịch thiết yếu*, Bản dịch của Roitt I.M, Trường Đại học Y Hà Nội.
3. **Bộ môn Dược lý (2013)**, *Dược lý học*, Trường Đại học Y Hà Nội, Nhà xuất bản Y học.
4. **Phạm Thị Vân Anh (2011)**, *Nghiên cứu tác dụng kích thích miễn dịch và chống oxy hóa của cao quả Nhàu (Morinda citrifolia L. Rubiaceae) trên động vật thực nghiệm*, Trường Đại học Y Hà Nội, Hà Nội.
5. **Đỗ Tất Lợi (2004)**, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học.
6. **Bộ Y tế (2018)**, *Dược điển Việt Nam, lần xuất bản thứ năm*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
7. **Sergeeva A., Ono Y., Rios R. et al. (2008)**, High titer autoantibodies to GM-CSF in patients with AML, CML and MDS are associated with active disease, *Leukemia*, 22(4), pp.783–790.
8. **Morefield GL, Jianga D, Romero-Mendez IZ, et al (2005)**, Effect of phosphorylation of ovalbumin on adsorption by aluminum-containing adjuvants and elution upon exposure to interstitial fluid, *Vaccine* 23, pp.1502–1506. (75)
9. **Katzung GB (2011)**, *Basic and Clinical Pharmacology*, twelfth edition, McGraw-Hill Companies, Inc.
10. **Văn Đình Hoa, Nguyễn Ngọc Lanh (2011)**, *Sinh lý bệnh và miễn dịch*, Trường Đại học Y Hà Nội, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
11. **Vũ Triệu An (2001)**, *Miễn dịch học*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.