

Kết quả nghiên cứu tác dụng kích thích miễn dịch của SAPHIA ALKALI TĂNG MIỄN DỊCH D80 trên chuột nhắt trắng bị gây suy giảm miễn dịch bằng Cyclophosphamid

Đơn vị thực hiện nghiên cứu:

Bệnh viện Đa khoa Y học Cổ truyền Hà Nội



ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU:

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, thuần chủng, cả 2 giống, trọng lượng  $20 \pm 2$  gam do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Chuột 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 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU:

Thử nghiệm bằng đường uống trong 8 ngày sau đó gây độc bằng thuốc thử và kiểm tra khả năng bảo vệ tế bào của K90.

MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU:

Nghiên cứu đánh giá tác dụng bảo vệ gan và chống oxy hóa, đồng thời cung cấp dữ liệu khoa học cho nghiên cứu lâm sàng của chế phẩm Saphia Alkali K90.



KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU THEO BÁO CÁO

1

Saphia Alkali D80 liều 14,4 mg/kg (tương đương với liều dự kiến điều trị trên lâm sàng) uống liên tục trong 7 ngày có xu hướng kích thích miễn dịch trên mô hình gây suy giảm miễn dịch cấp tính bằng cyclophosphamid thông qua các chỉ số: xu hướng tăng số lượng bạch cầu ngoại vi và số lượng tuyệt đối các loại bạch cầu trong máu ngoại vi, xu hướng tăng phản ứng bì với kháng nguyên OA, xu hướng tăng nồng độ IL-2 và nồng độ TNF-a trong máu ngoại vi, cải thiện tình trạng tổn thương các cơ quan lách, tuyến ức trên hình ảnh giải phẫu bệnh vi thể so với lô mô hình.

2

Saphia Alkali D80 liều 28,8 mg/kg (gấp 2 lần liều tương đương với liều dự kiến điều trị trên lâm sàng) uống liên tục trong 7 ngày thể hiện tác dụng kích thích miễn dịch trên mô hình gây suy giảm miễn dịch cấp tính bằng cyclophosphamid thông qua các chỉ số: tăng trọng lượng lách tương đối, tăng số lượng bạch cầu ngoại vi, xu hướng tăng số lượng tuyệt đối các loại bạch cầu trong máu ngoại vi, xu hướng tăng phản ứng bì với kháng nguyên OA; tăng nồng độ IL-2, xu hướng tăng nồng độ TNF-a trong máu ngoại vi và cải thiện rõ tình trạng tổn thương các cơ quan lách, tuyến ức trên hình ảnh giải phẫu bệnh vi thể so với lô mô hình.

LIỀU LƯỢNG THỬ NGHIỆM

|                                                         |                  |
|---------------------------------------------------------|------------------|
| Số lượng bạch cầu ngoại vi                              | Tăng             |
| Số lượng tuyệt đối các loại bạch cầu trong máu ngoại vi | Tăng             |
| Phản ứng bì với kháng nguyên OA                         | Tăng             |
| Nồng độ IL-2 và nồng độ TNF-α                           | Tăng             |
| Tình trạng tổn thương các cơ quan lách, tuyến ức        | Cải thiện rõ rệt |

| Chỉ số miễn dịch        | CHỈ TIÊU THEO DỐI          |            |                    |                    | Ý NGHĨA                    |
|-------------------------|----------------------------|------------|--------------------|--------------------|----------------------------|
|                         | Mô hình gây giảm miễn dịch | Levamisole | D80 liều 14.4mg/kg | D80 liều 28.8mg/kg |                            |
| Bạch cầu                | 1,04                       | 1,66       | 1,44               | 1,58               | Tăng hàng rào miễn dịch    |
| IL-2                    | 8,06                       | 13,06      | 9,92               | 12,57              | Khả năng miễn dịch tế bào  |
| IgG                     | 198,04                     | 284,67     | 170,06             | 190,85             | Khả năng đáp ứng miễn dịch |
| Lympho bào              | Giảm nặng                  | Tăng vừa   | Tăng nhẹ           | Tăng mạnh          | Khả năng miễn dịch cơ thể  |
| Hình ảnh giải phẫu bệnh | Tổn thương                 | Cải thiện  | Cải thiện          | Cải thiện          | Mức độ tổn thương          |

KẾT LUẬN



Alka Power D80 CÓ TÁC DỤNG TĂNG CƯỜNG MIỄN DỊCH, CẢI THIỆN TỔN THƯƠNG các cơ quan.

**TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI**  
**TRUNG TÂM DƯỢC LÝ LÂM SÀNG**  
**BỘ MÔN DƯỢC LÝ**



**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG**  
**KÍCH THÍCH MIỄN DỊCH CỦA SAPHIA ALKALI**  
**TĂNG MIỄN DỊCH D80 TRÊN CHUỘT NHẮT TRẮNG**  
**BỊ GÂY SUY GIẢM MIỄN DỊCH BẰNG**  
**CYCLOPHOSPHAMID**

*Nơi tiến hành nghiên cứu:*

**Trung tâm Dược lý lâm sàng,  
Bộ môn Dược lý  
Trường Đại học Y Hà Nội**

*Thời gian tiến hành nghiên cứu:*

**11/2023-01/2024**

*Hà Nội – 2024*

## **I. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **1.1. Chất liệu nghiên cứu**

#### **1.1.1. Sản phẩm nghiên cứu**

- Tên sản phẩm nghiên cứu: Saphia Alkali Tăng miễn dịch D80. Trong nghiên cứu này, sản phẩm nghiên cứu được sử dụng với tên viết tắt là Saphia Alkali D80.

- Cơ sở chịu trách nhiệm chất lượng sản phẩm: CÔNG TY CỔ PHẦN KIỂM SAPHIA.

- Công nghệ chế tạo: KIỂM THẢO DUỢC HOẠT HÓA PHÂN TỬ.

- Thành phần:

+ Tổng hợp từ các loại cây dược liệu: được chiết xuất từ các loại thảo mộc: Nghệ, Xạ đen, Bạch hoa xà thiệt thảo, Bán chi liên, Cà gai leo, Hoàn ngọc, Cô xước, Bồ công anh, Chè đắng, Sài đất, Kinh giới, Nhân trần, Trinh nữ hoàng cung, Linh chi, Nhân sâm, Đông trùng hạ thảo.

+ Hợp chất thiên nhiên: Glycosid, Flavonoid tổng , Terpenoid

+ Khoáng hóa và vi tố lượng: Iot, Coban(co), FLour (F), Crom(Cr), Phosphor(P), Clorua, Selenium(Se), Mangan(Mn), Sắt (Fe), Đồng (Cu), Kẽm (Cu), Kẽm (Zn), Kali (K), Natri (Na), Magie, Canxi.

- Liều dùng dự kiến trên người: mỗi lần 20 mL, ngày 3 lần.

#### **1.1.2. Dụng cụ, hoá chất nghiên cứu**

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

- Levamisol dạng bột, biệt dược Tetramisole hydrochloride lọ 5 g của hãng SIGGa, Mỹ. Thuốc được dùng làm đối chứng dương trong nghiên cứu miễn dịch.

- Nhũ dịch OA (Ovalbumin +  $Al(OH)_3$ ): dùng làm kháng nguyên gây miễn cảm cho chuột.

- 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<sup>0</sup>C, sử dụng trong thời hạn 2 tuần. Sản phẩm của công ty Dược phẩm Nam Khoa.

- Hoá chất và máy huyết học tự động Exigo - VET của hãng Exigo, Thụy Điển.
- Kit định lượng IL-2, TNF- $\alpha$ , IgG của Hãng Cloud-Clone Corp, Mỹ.

## **1.2. 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 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu.

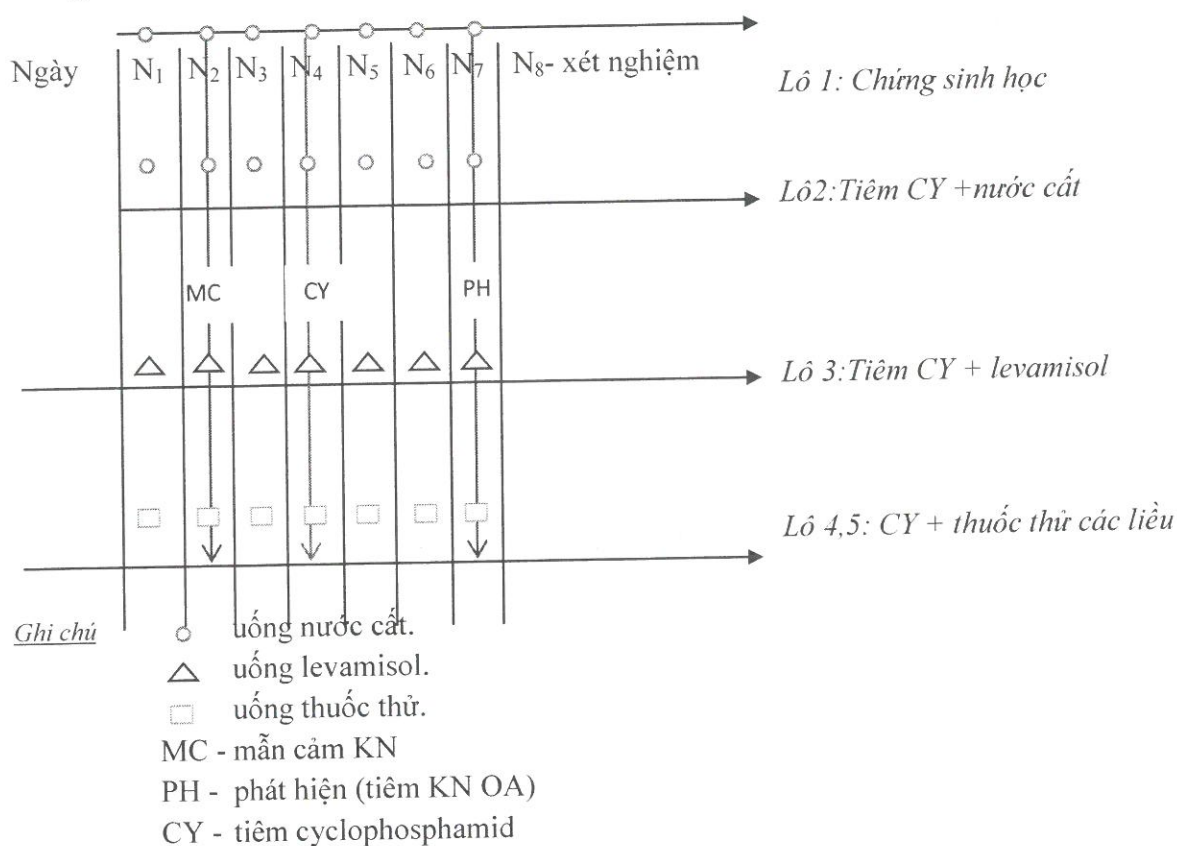
## **1.3. Phương pháp nghiên cứu**

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

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô nghiên cứu:

- Lô 1 (n=10) Chứng sinh học: Chuột uống nước cất.
- Lô 2 (n=10) Mô hình: Chuột được tiêm CY + uống nước cất.
- Lô 3 (n=10) Chứng dương: Chuột được tiêm CY + uống levamisol liều 10 mg/kg.
- Lô 4 (n=10) Saphia Alkali D80 liều thấp: Chuột được tiêm CY + uống Saphia Alkali D80 liều 14,4 mg/kg/ngày (tương đương liều điều trị dự kiến trên người, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt là 12).
- Lô 5 (n=10) Saphia Alkali D80 liều cao: Chuột được tiêm CY + uống Saphia Alkali D80 liều 28,8 mg/kg/ngày (gấp 2 lần liều điều trị dự kiến trên người).

## Sơ đồ nghiên cứu trên mô hình gây suy giảm miễn dịch bằng CY



Mô hình nghiên cứu được tiến hành trong 8 ngày. Chuột bắt đầu được uống nước cất và các thuốc liên tục từ ngày thứ 1 đến ngày thứ 7 của nghiên cứu. Trong thời gian uống thuốc:

- Ngày thứ 2: chuột ở tất cả các lô được gây mẫn cảm bằng tiêm màng bụng hồng cầu cừu 5% (0,5 mL/chuột) và tiêm dưới da gây kháng nguyên OA (Al(OH)<sub>3</sub> + ovalbumin) (0,1 mL/chuột).
- Ngày thứ 4: tiêm màng bụng CY liều 200 mg/kg cho các lô 2 đến lô 5.
- Ngày thứ 7: tiêm phát hiện bằng 50 µl kháng nguyên OA vào một bên gan bàn chân chuột, bên còn lại tiêm thể tích tương tự dung dịch NaCl 0,9%.

Sau 24 giờ tiêm phát hiện vào gan bàn chân chuột, tiến hành xác định các chỉ số nghiên cứu bao gồm:

### » Các chỉ số chung

- Trọng lượng lách, tuyến ức tương đối: được tính là trọng lượng lách, tuyến ức tương ứng với thể trọng chuột.

$$\frac{\text{Trọng lượng lách hoặc tuyến ức tương đối (\%)}}{\text{Trọng lượng lách hoặc tuyến ức (mg)}} = \frac{\text{Thể trọng chuột (g)}}{\text{Thể trọng chuột (g)}}$$

Chuột được giết bằng cách kéo đứt đốt sống cổ, mổ bụng để bộc 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.

- Số lượng bạch cầu chung, bạch cầu hạt trung tính, bạch cầu lympho, bạch cầu mono ở máu ngoại vi.

- Giải phẫu vi thể lách và tuyến ức của 30% số chuột mỗi lô. Xét nghiệm giải phẫu vi thể được tiến hành tại Khoa giải phẫu bệnh, Bệnh viện Đa khoa Đức Giang.

#### » *Các thông số đánh giá miễn dịch dịch thể và qua trung gian tế bào*

- Đánh giá miễn dịch qua trung gian tế bào thông qua phản ứng quá mẫn chậm ở gan bàn chân chuột với kháng nguyên OA. Trước khi đo kết quả phản ứng quá mẫn chậm với kháng nguyên OA, tiêm 50 µl kháng nguyên OA (liều phát hiện) vào một bên gan bàn chân chuột, bên còn lại tiêm thể tích tương tự nước muối sinh lý. Sau 24 giờ tiêm kháng nguyên phát hiện, đo bề dày hai gan bàn chân chuột bằng thước palmer. Phản ứng bì được tính bằng hiệu số chênh lệch bề dày gan bàn chân chuột 2 bên sau khi tiêm phát hiện.

- Định lượng IL-2, TNF-α và IgG ở máu ngoại vi bằng phương pháp ELISA.

#### **1.4. Xử lý số liệu**

Các số liệu nghiên cứu được biểu diễn dưới dạng  $\bar{X} \pm SD$ , xử lý thống kê theo thuật toán thống kê T-test Student bằng phần mềm Microsoft Excel 2016. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

## II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 2.1. Kết quả đánh giá tình trạng chung của hệ miễn dịch

#### » Trọng lượng lách tương đối

*Bảng 1: Ảnh hưởng của Saphia Alkali D80 lên trọng lượng lách tương đối*

| Lô                                      | n  | Trọng lượng lách tương đối (%) |
|-----------------------------------------|----|--------------------------------|
| Lô 1: Chứng sinh học                    | 10 | $6,95 \pm 1,55$                |
| Lô 2: Mô hình CY                        | 10 | $2,59 \pm 0,40^{***}$          |
| Lô 3: Chứng dương levamisol             | 10 | $3,61 \pm 1,29^{***\Delta}$    |
| Lô 4: Saphia Alkali D80 liều 14,4 mg/kg | 10 | $2,55 \pm 0,71^{***}$          |
| Lô 5: Saphia Alkali D80 liều 28,8 mg/kg | 10 | $3,32 \pm 0,97^{***\Delta}$    |

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

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

Kết quả trình bày ở bảng 1 cho thấy:

- 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 tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với  $p < 0,05$ .
- Lô uống Saphia Alkali D80 liều 14,4 mg/kg (lô 4): Trọng lượng lách tương đối không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ( $p > 0,05$ ).
- Lô uống Saphia Alkali D80 liều 28,8 mg/kg (lô 5): Trọng lượng lách tương đối tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với  $p < 0,05$ .

» Trọng lượng tuyến ức tương đối

**Bảng 2: Ảnh hưởng của Saphia Alkali D80 lên trọng lượng tuyến ức tương đối**

| Lô                                      | n  | Trọng lượng ức tương đối (%) |
|-----------------------------------------|----|------------------------------|
| Lô 1: Chứng sinh học                    | 10 | $3,25 \pm 0,96$              |
| Lô 2: Mô hình CY                        | 10 | $0,98 \pm 0,19^{***}$        |
| Lô 3: Chứng dương levamisol             | 10 | $1,05 \pm 0,36^{***}$        |
| Lô 4: Saphia Alkali D80 liều 14,4 mg/kg | 10 | $0,98 \pm 0,33^{***}$        |
| Lô 5: Saphia Alkali D80 liều 28,8 mg/kg | 10 | $0,99 \pm 0,29^{***}$        |

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

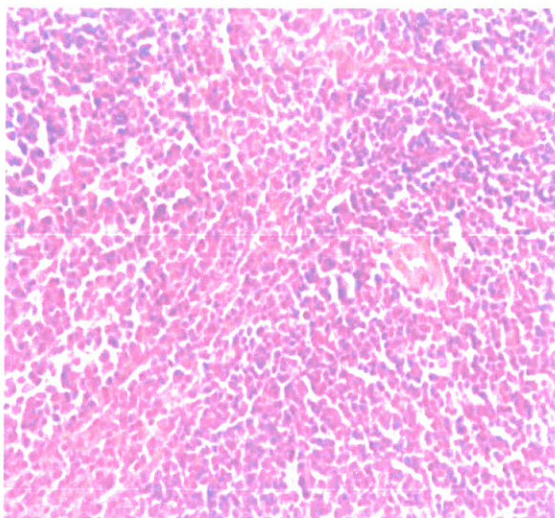
Kết quả ở bảng 2 cho thấy:

- 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 có xu hướng tăng so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).
- Các lô uống Saphia Alkali D80 (lô 4 và lô 5): Trọng lượng tuyến ức tương đối không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ( $p > 0,05$ ).

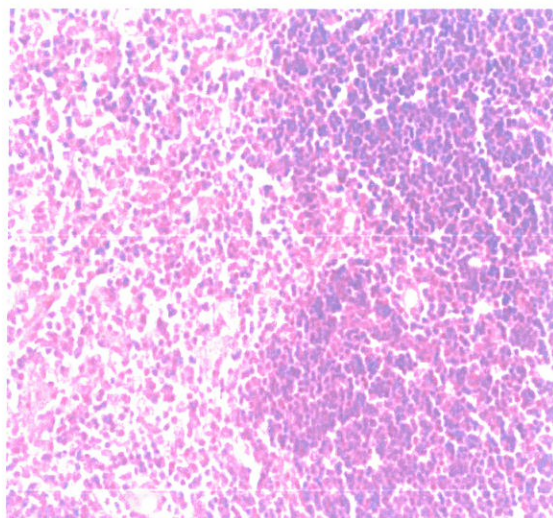
## Giải phẫu vi thể lách và tuyến ức

**Bảng 3. Kết quả giải phẫu vi thể lách và tuyến ức.**

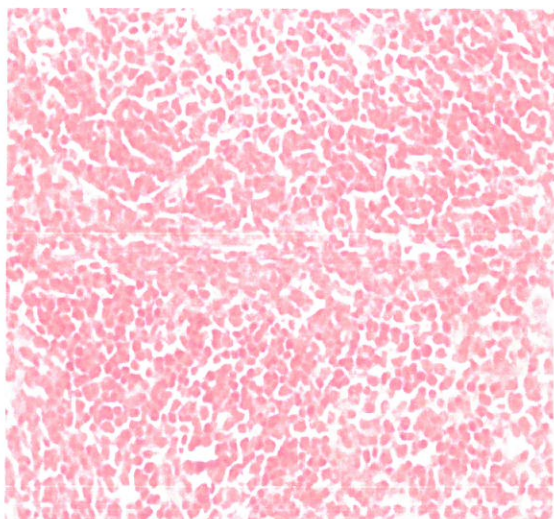
| <i>Lô<br/>nghiên<br/>cứu</i> | <i>Lách</i>                                                                           | <i>Tuyến ức</i>                                                         |
|------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| Lô 1                         | 3/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh lách bình thường.                                       | 3/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh tuyến ức bình thường.                     |
| Lô 2                         | 3/3 mẫu bệnh phẩm giảm nặng số lượng lympho bào của tủy trắng.                        | 3/3 mẫu bệnh phẩm giảm nặng số lượng lympho bào.                        |
| Lô 3                         | 3/3 mẫu bệnh phẩm tăng vừa số lượng lympho bào của tủy trắng so với mô hình.          | 3/3 mẫu bệnh phẩm tăng vừa số lượng lympho bào so với mô hình.          |
| Lô 4                         | 3/3 mẫu bệnh phẩm tăng nhẹ số lượng lympho bào của tủy trắng so với mô hình.          | 3/3 mẫu bệnh phẩm tăng nhẹ số lượng lympho bào so với mô hình.          |
| Lô 5                         | 3/3 mẫu bệnh phẩm tăng vừa đến mạnh số lượng lympho bào của tủy trắng so với mô hình. | 3/3 mẫu bệnh phẩm tăng vừa đến mạnh số lượng lympho bào so với mô hình. |



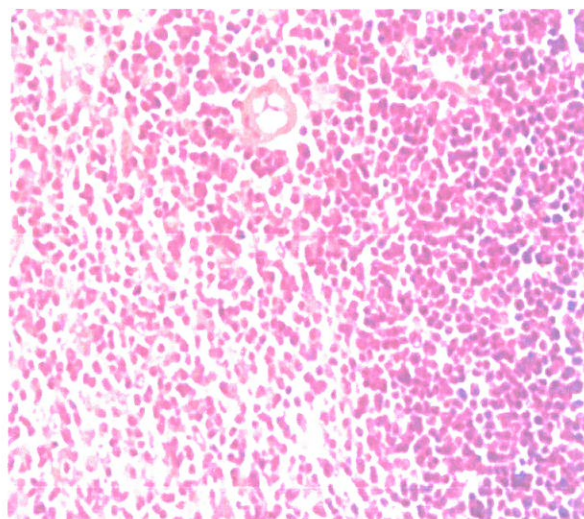
**Ảnh 1:** Hình ảnh vi thể lách chuột  
lô chứng sinh học (chuột số 7)  
(HE × 40)  
*Lách bình thường*



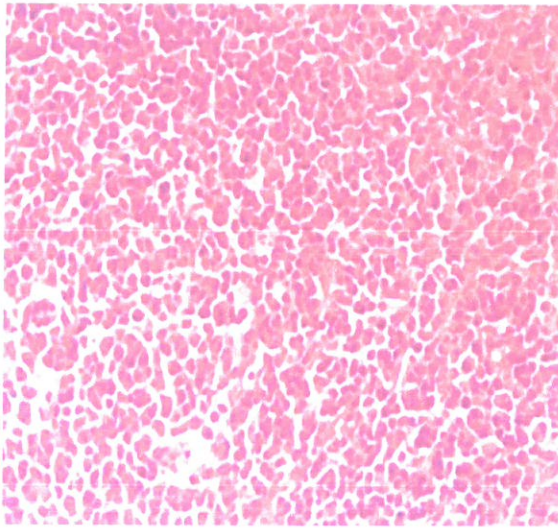
**Ảnh 2:** Hình ảnh vi thể tuyến ức  
chuột lô chứng sinh học (chuột số 7)  
(HE × 40)  
*Tuyến ức bình thường*



**Ảnh 3:** Hình ảnh vi thể lách chuột  
lô chứng sinh học (chuột số 9)  
(HE × 40)  
*Lách bình thường*

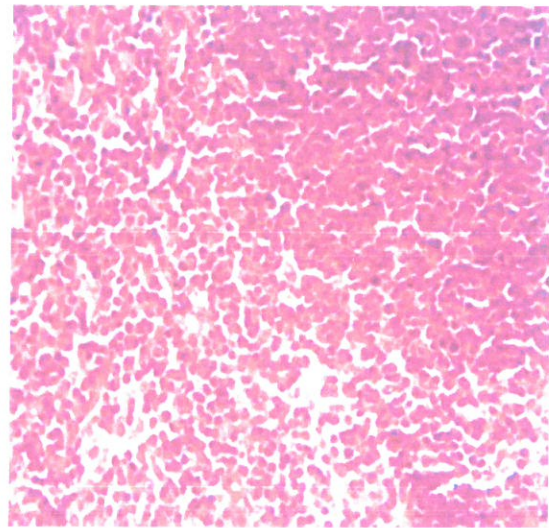


**Ảnh 4:** Hình ảnh vi thể tuyến ức chuột  
lô chứng sinh học (chuột số 9)  
(HE × 40)  
*Tuyến ức bình thường*



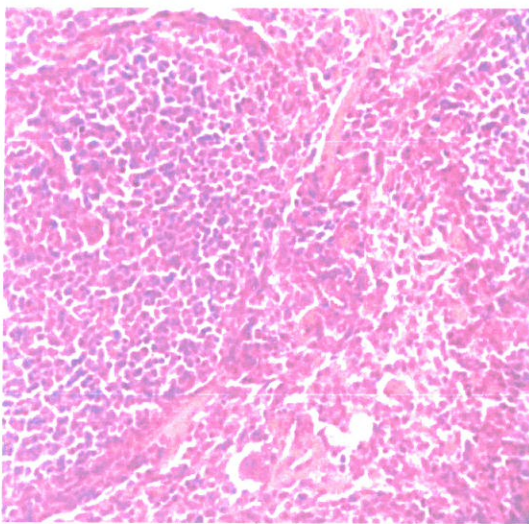
**Ảnh 5:** Hình ảnh vi thể lách chuột  
lô chứng sinh học (chuột số 10)  
(HE × 40)

*Lách bình thường*



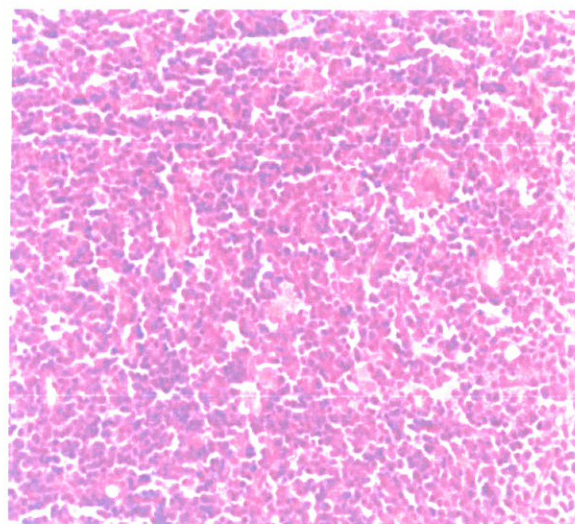
**Ảnh 6:** Hình ảnh vi thể tuyến ức  
chuột lô chứng sinh học (chuột số 10)  
(HE × 40)

*Tuyến ức bình thường*



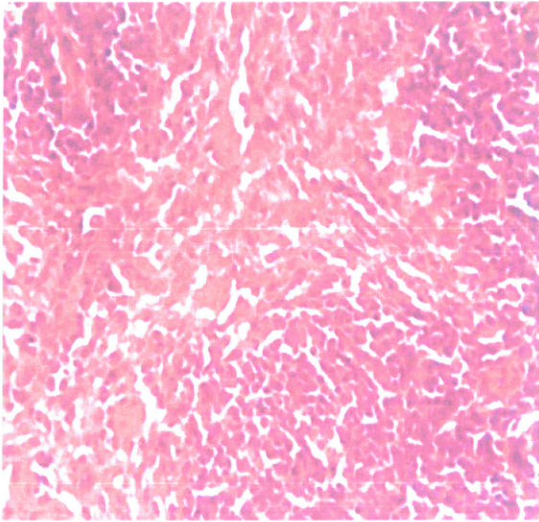
**Ảnh 7:** Hình ảnh vi thể lách chuột  
lô mô hình (chuột số 13)  
(HE × 40)

*Số lượng lympho bào của tủy trắng  
giảm nặng*



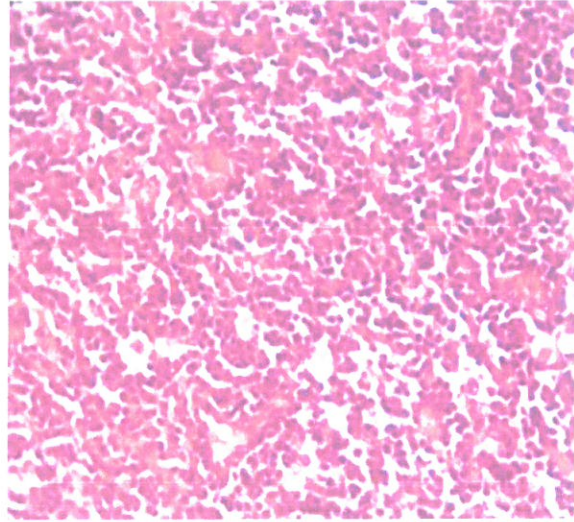
**Ảnh 8:** Hình ảnh vi thể tuyến ức  
chuột lô mô hình (chuột số 13)  
(HE × 40)

*Số lượng lympho bào của tuyến ức  
giảm nặng*



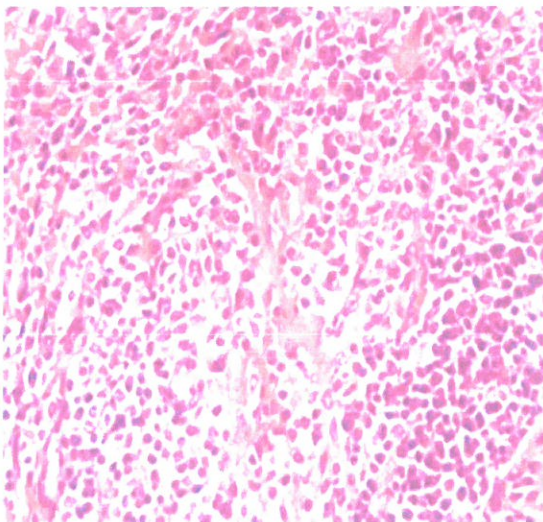
**Ảnh 9:** Hình ảnh vi thể lách chuột  
lô mô hình (chuột số 19)  
(HE × 40)

*Số lượng lympho bào của tủy trắng  
giảm nặng*



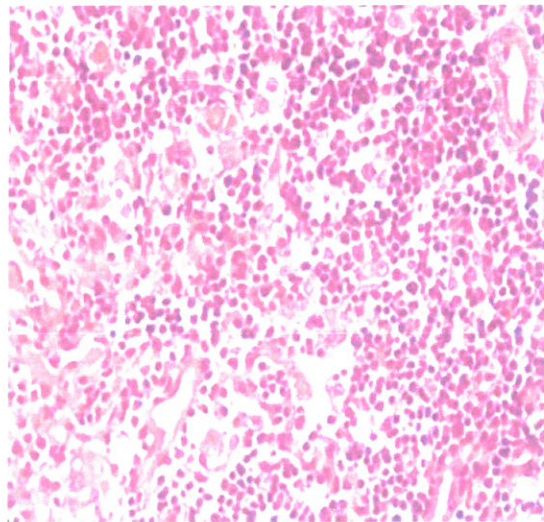
**Ảnh 10:** Hình ảnh vi thể tuyến ức  
chuột lô mô hình (chuột số 19)  
(HE × 40)

*Số lượng lympho bào của tuyến ức  
giảm nặng*



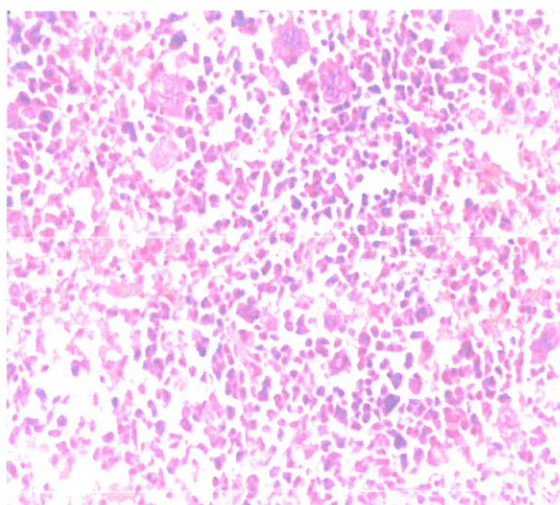
**Ảnh 11:** Hình ảnh vi thể lách chuột  
lô mô hình (chuột số 20)  
(HE × 40)

*Số lượng lympho bào của tủy trắng  
giảm nặng*



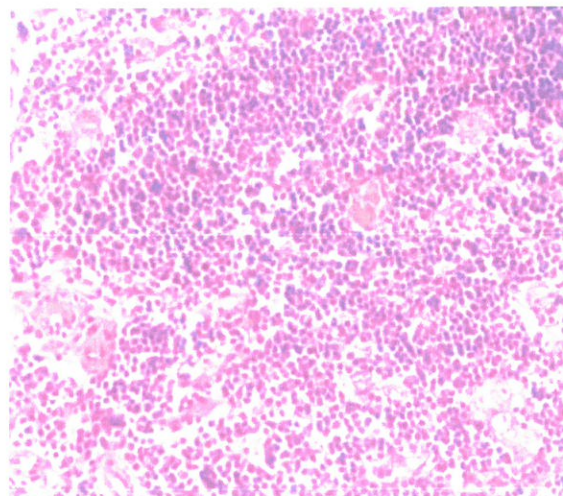
**Ảnh 12:** Hình ảnh vi thể tuyến ức  
chuột lô mô hình (chuột số 20)  
(HE × 40)

*Số lượng lympho bào của tuyến ức  
giảm nặng*



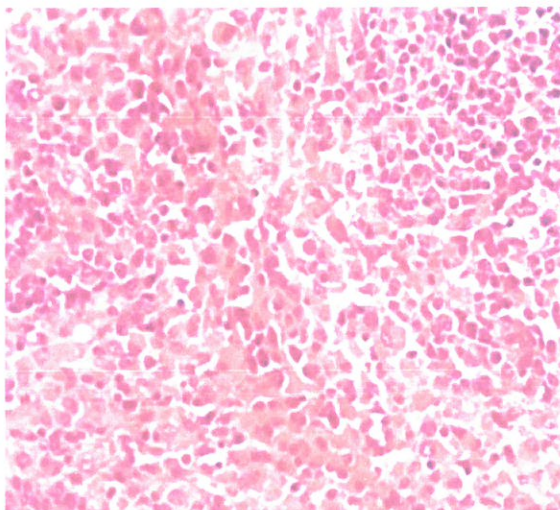
**Ảnh 13:** Hình ảnh vi thể lách chuột  
lô uống levamisol (chuột số 24)  
(HE  $\times$  40)

*Số lượng lympho bào của tủy trắng  
tăng vừa so với mô hình*



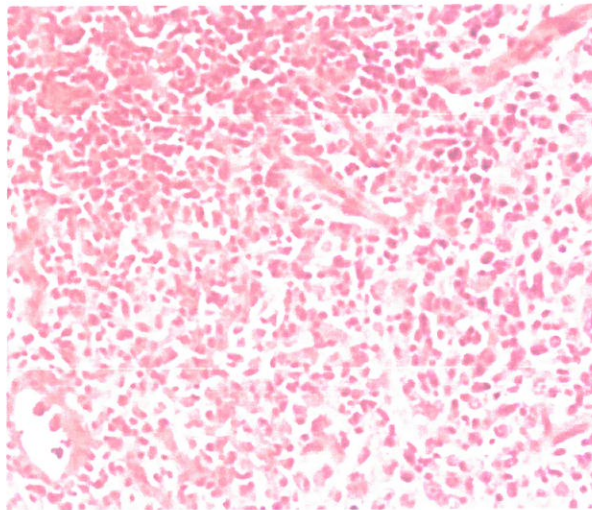
**Ảnh 14:** Hình ảnh vi thể tuyến ức  
chuột lô uống levamisol  
(chuột số 24) (HE  $\times$  40)

*Số lượng lympho bào của tuyến ức  
tăng vừa so với mô hình*



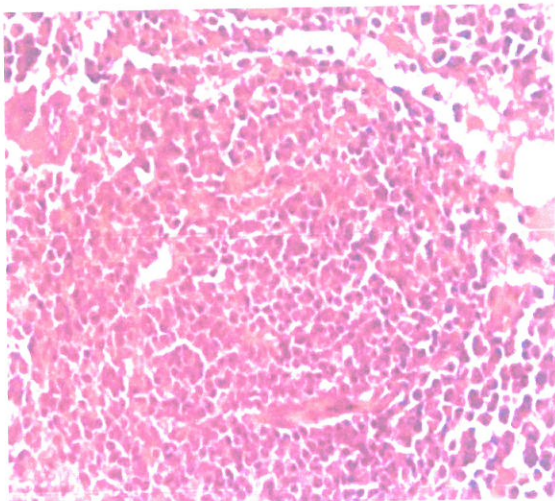
**Ảnh 15:** Hình ảnh vi thể lách chuột  
lô uống levamisol (chuột số 27)  
(HE  $\times$  40)

*Số lượng lympho bào của tủy trắng  
tăng vừa so với mô hình*



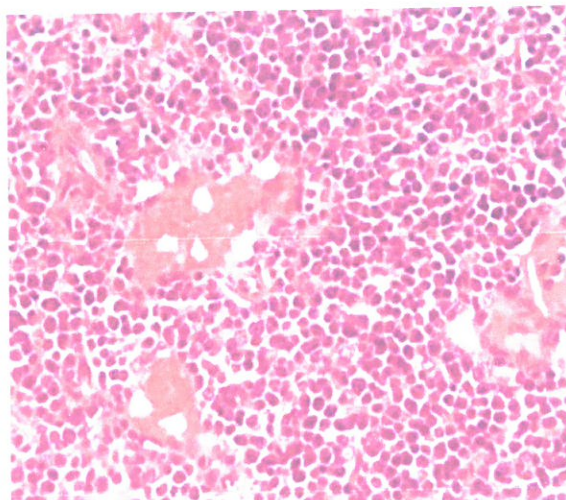
**Ảnh 16:** Hình ảnh vi thể tuyến ức  
chuột lô uống levamisol  
(chuột số 27) (HE  $\times$  40)

*Số lượng lympho bào của tuyến ức  
tăng vừa so với mô hình*



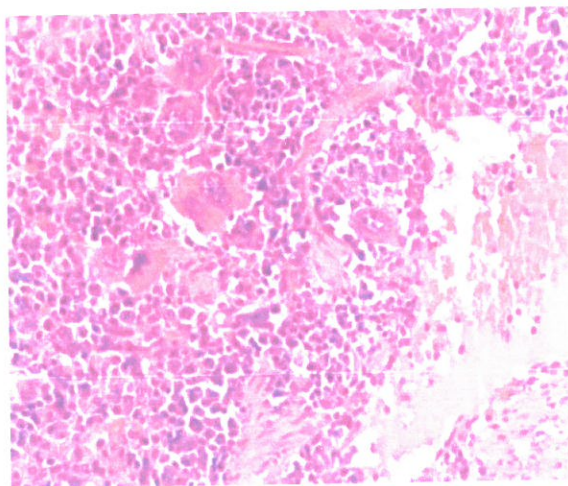
**Ảnh 17:** Hình ảnh vi thể lách chuột  
lô uống levamisol (chuột số 30)  
(HE  $\times$  40)

*Số lượng lympho bào của tủy trắng  
tăng vừa so với mô hình*



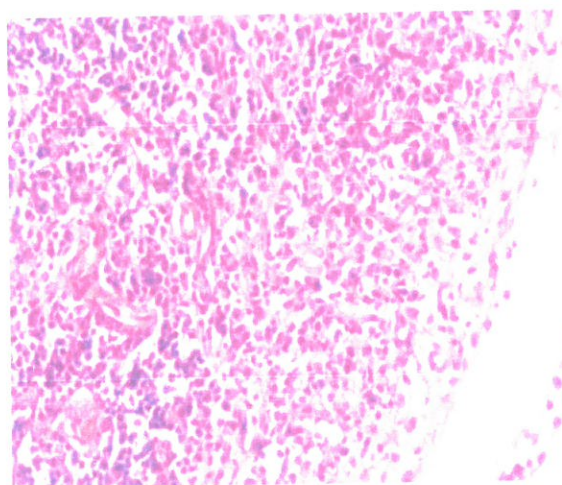
**Ảnh 18:** Hình ảnh vi thể tuyến ức  
chuột lô uống levamisol  
(chuột số 30) (HE  $\times$  40)

*Số lượng lympho bào của tuyến ức  
tăng vừa so với mô hình*



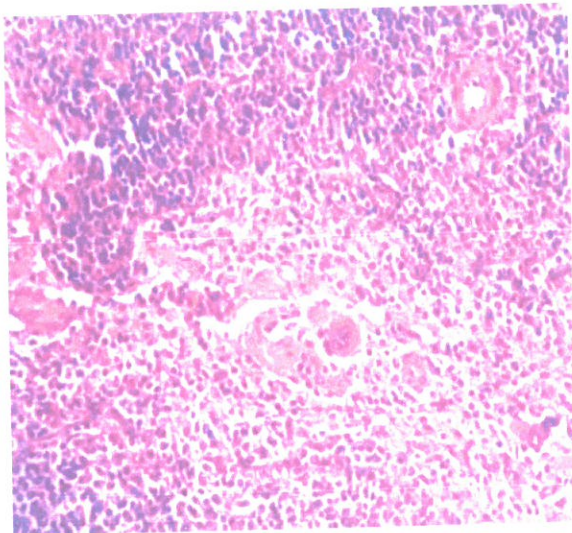
**Ảnh 19:** Hình ảnh vi thể lách chuột  
lô uống Saphia Alkali D80  
liều 14,4 mg/kg  
(chuột số 36) (HE  $\times$  40)

*Số lượng lympho bào của tủy trắng  
tăng nhẹ so với mô hình*



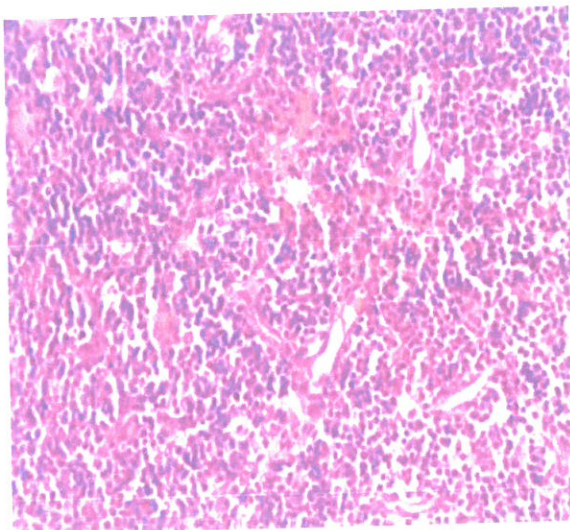
**Ảnh 20:** Hình ảnh vi thể tuyến ức  
chuột lô uống Saphia Alkali D80  
liều 14,4 mg/kg  
(chuột số 36) (HE  $\times$  40)

*Số lượng lympho bào của tuyến ức  
tăng nhẹ so với mô hình*



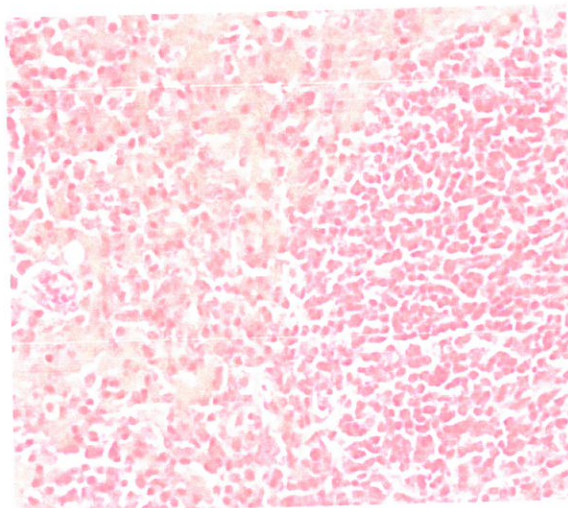
**Ảnh 21:** Hình ảnh vi thể lách chuột  
lô uống Saphia Alkali D80  
liều 14,4 mg/kg  
(chuột số 38) (HE × 40)

*Số lượng lympho bào của tủy trắng  
tăng nhẹ so với mô hình*



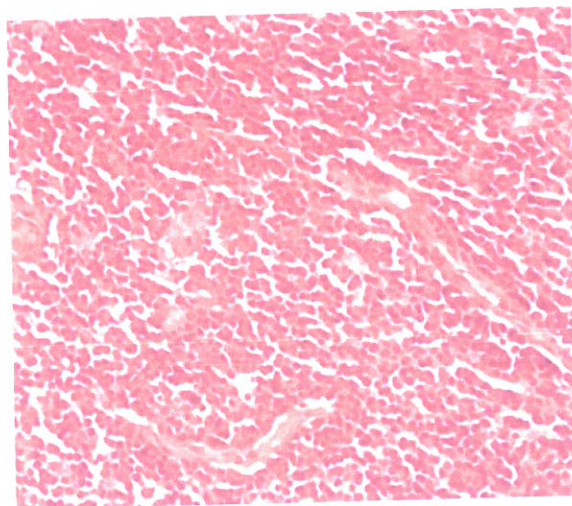
**Ảnh 22:** Hình ảnh vi thể tuyến ức  
chuột lô uống Saphia Alkali D80  
liều 14,4 mg/kg  
(chuột số 38) (HE × 40)

*Số lượng lympho bào của tuyến  
ức tăng nhẹ so với mô hình*



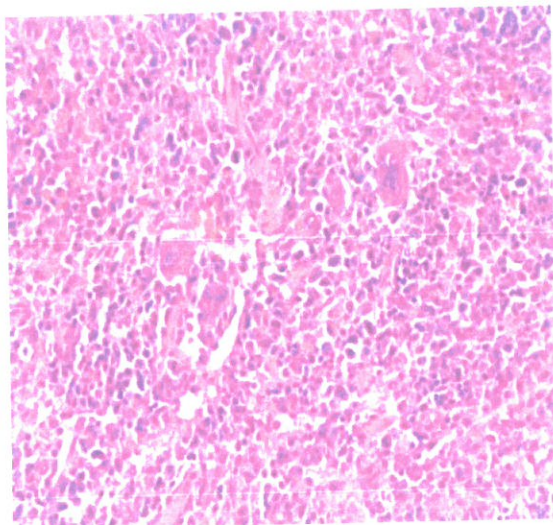
**Ảnh 23:** Hình ảnh vi thể lách chuột  
lô uống Saphia Alkali D80  
liều 14,4 mg/kg  
(chuột số 40) (HE × 40)

*Số lượng lympho bào của tủy trắng  
tăng nhẹ so với mô hình*



**Ảnh 24:** Hình ảnh vi thể tuyến ức  
chuột lô uống Saphia Alkali D80  
liều 14,4 mg/kg (chuột số 40) (HE ×  
40)

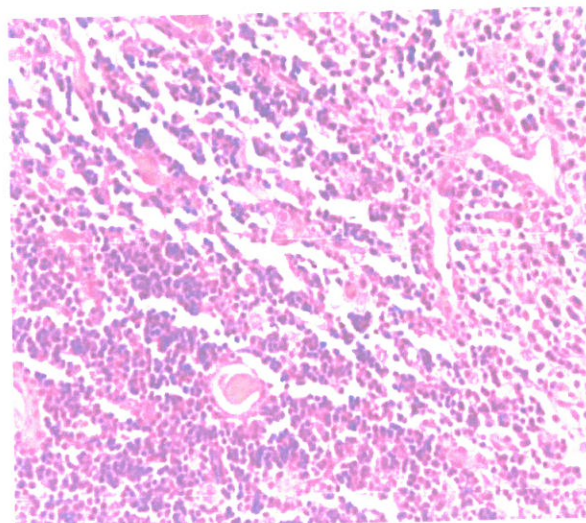
*Số lượng lympho bào của tuyến ức  
tăng nhẹ so với mô hình*



**Ảnh 25:** Hình ảnh vi thể lách  
chuột lô uống Saphia Alkali D80  
liều 28,8 mg/kg

(chuột số 46) (HE  $\times$  40)

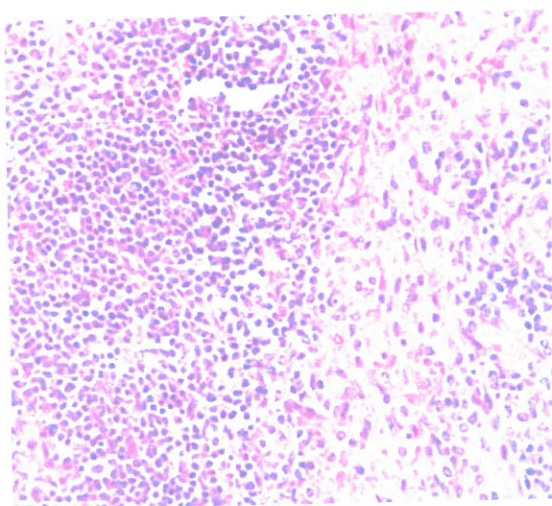
*Số lượng lympho bào của tủy trắng  
tăng vừa so với mô hình*



**Ảnh 26:** Hình ảnh vi thể tuyến ức  
chuột lô uống Saphia Alkali D80  
liều 28,8 mg/kg

(chuột số 46) (HE  $\times$  40)

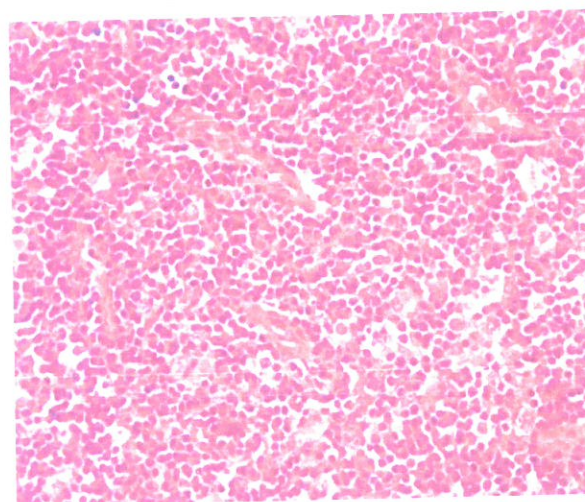
*Số lượng lympho bào của tuyến ức  
tăng vừa so với mô hình*



**Ảnh 27:** Hình ảnh vi thể lách  
chuột lô uống Saphia Alkali D80  
liều 28,8 mg/kg

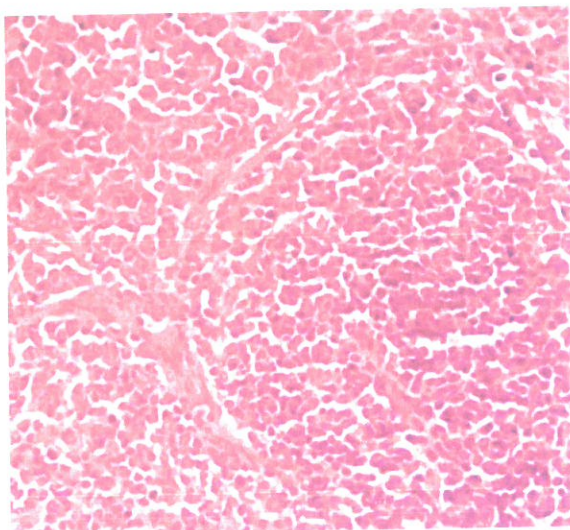
(chuột số 48) (HE  $\times$  40)

*Số lượng lympho bào của tủy trắng  
tăng mạnh so với mô hình*



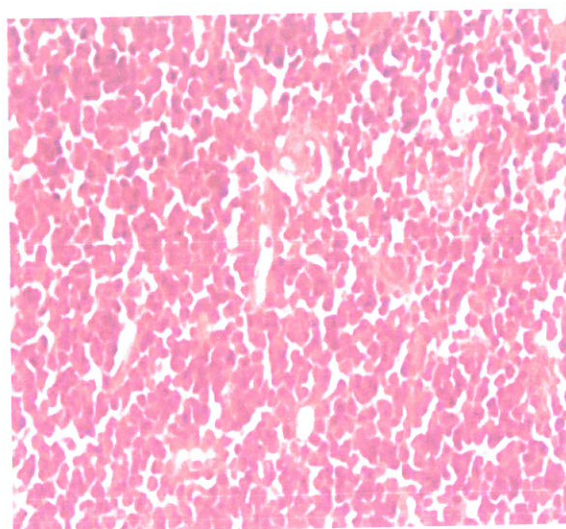
**Ảnh 28:** Hình ảnh vi thể tuyến ức  
chuột lô uống Saphia Alkali D80 liều  
28,8 mg/kg (chuột số 48) (HE  $\times$  40)

*Số lượng lympho bào của tuyến ức  
tăng mạnh so với mô hình*



**Ảnh 29: Hình ảnh vi thể lách chuột  
lô uống Saphia Alkali D80  
liều 28,8 mg/kg  
(chuột số 49)(HE × 40)**

***Số lượng lympho bào của tủy trắng  
tăng vừa so với mô hình***



**Ảnh 30: Hình ảnh vi thể tuyến ức  
chuột lô uống Saphia Alkali D80  
liều 28,8 mg/kg  
(chuột số 49)(HE × 40)**

***Số lượng lympho bào tăng mạnh so  
với mô hình***

Kết luận về giải phẫu bệnh: CY gây tổn thương rõ rệt cơ quan lympho trung ương là tuyến ức và lách. Levamisol có tác dụng cải thiện tổn thương gây ra do CY so với lô mô hình. Saphia Alkali D80 cả 2 liều đều giúp cải thiện tổn thương gây ra do CY so với lô mô hình, trong đó Saphia Alkali D80 liều 28,8 mg/kg làm tăng số lượng lympho bào nhiều hơn so với Saphia Alkali D80 liều 14,4 mg/kg.

» Số lượng bạch cầu

**Bảng 4: Ảnh hưởng của Saphia Alkali D80 lên số lượng bạch cầu**

| Lô                                      | n  | Số lượng bạch cầu (G/l)     |
|-----------------------------------------|----|-----------------------------|
| Lô 1: Chứng sinh học                    | 10 | $6,40 \pm 1,74$             |
| Lô 2: Mô hình CY                        | 10 | $1,04 \pm 0,49^{***}$       |
| Lô 3: Chứng dương levamisol             | 10 | $1,66 \pm 0,79^{***\Delta}$ |
| Lô 4: Saphia Alkali D80 liều 14,4 mg/kg | 10 | $1,44 \pm 0,62^{***}$       |
| Lô 5: Saphia Alkali D80 liều 28,8 mg/kg | 10 | $1,58 \pm 0,65^{***\Delta}$ |

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

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

Kết quả trình bày ở bảng 4 cho thấy:

- Lô mô hình (lô 2): Số lượng bạch cầu giảm rõ rệt so với lô chứng sinh học ( $p < 0,001$ ).
- Lô uống levamisol (lô 3): Số lượng bạch cầu tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với  $p < 0,05$ .
- Lô uống Saphia Alkali D80 liều 14,4 mg/kg (lô 4): Số lượng bạch cầu 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 Saphia Alkali D80 liều 28,8 mg/kg (lô 5): Số lượng bạch cầu tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với  $p < 0,05$ .

» Công thức bạch cầu

**Bảng 5: Ảnh hưởng của Saphia Alkali D80 lên công thức bạch cầu ở máu ngoại vi**

| Lô                                      | Số lượng tuyệt đối các loại BC (G/l) |                |                |
|-----------------------------------------|--------------------------------------|----------------|----------------|
|                                         | BC lympho                            | BCTT           | BC mono        |
| Lô 1: Chứng sinh học                    | 4,63 ± 1,34                          | 0,67 ± 0,25    | 1,10 ± 0,38    |
| Lô 2: Mô hình CY                        | 0,69 ± 0,47***                       | 0,23 ± 0,09*** | 0,12 ± 0,15*** |
| Lô 3: Chứng dương levamisol             | 1,12 ± 0,69***                       | 0,26 ± 0,13*** | 0,28 ± 0,21*** |
| Lô 4: Saphia Alkali D80 liều 14,4 mg/kg | 1,02 ± 0,57***                       | 0,29 ± 0,11*** | 0,13 ± 0,09*** |
| Lô 5: Saphia Alkali D80 liều 28,8 mg/kg | 0,99 ± 0,41***                       | 0,33 ± 0,13**  | 0,26 ± 0,21*** |

Chú thích: \*\*, \*\*\*: Khác biệt so với Chứng sinh học với  $p < 0,01$  và  $p < 0,001$

BC: Bạch cầu; BCTT: Bạch cầu trung tính.

Kết quả ở bảng 5 cho thấy:

- Lô mô hình (lô 2): Số lượng tuyệt đối các loại bạch cầu giảm rõ rệt so với lô chứng sinh học ( $p < 0,001$ ).
- Lô uống levamisol (lô 3): Số lượng tuyệt đối các loại bạch cầu có xu hướng tăng so với lô mô hình, tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).
- Các lô uống Saphia Alkali D80 (lô 4 và lô 5): Số lượng tuyệt đối các loại bạch cầu có xu hướng tăng so với lô mô hình, tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

## 2.2. Kết quả đánh giá miễn dịch tế bào

» *Phản ứng bì với kháng nguyên OA:*

**Bảng 6: Ảnh hưởng của Saphia Alkali D80 đến phản ứng bì với kháng nguyên OA**

| Lô                                      | n  | Phản ứng bì (%<br>tăng chiều dày bàn<br>chân chuột) |
|-----------------------------------------|----|-----------------------------------------------------|
| Lô 1: Chứng sinh học                    | 10 | 126,16 ± 29,59                                      |
| Lô 2: Mô hình CY                        | 10 | 93,94 ± 35,35*                                      |
| Lô 3: Chứng dương levamisol             | 10 | 133,53 ± 47,38 <sup>Δ</sup>                         |
| Lô 4: Saphia Alkali D80 liều 14,4 mg/kg | 10 | 108,31 ± 48,60                                      |
| Lô 5: Saphia Alkali D80 liều 28,8 mg/kg | 10 | 127,08 ± 41,36                                      |

Chú thích: \*: Khác biệt so với Chứng sinh học với  $p < 0,05$

<sup>Δ</sup>: Khác biệt so với Mô hình với  $p < 0,05$

Kết quả trình bày ở bảng 6 cho thấy:

- Lô mô hình (lô 2): Phản ứng bì giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học với  $p < 0,05$ .
- Lô uống levamisol (lô 3): Phản ứng bì tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với  $p < 0,05$ .
- Các lô uống Saphia Alkali D80 (lô 4 và lô 5): Phản ứng bì có xu hướng tăng so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

» Định lượng các cytokin trong máu

**Bảng 7: Ảnh hưởng của thuốc thử lên nồng độ IL-2 trong máu ngoại vi**

| Lô                                      | n  | Nồng độ IL-2 (pg/mL)        |
|-----------------------------------------|----|-----------------------------|
| Lô 1: Chứng sinh học                    | 10 | 23,59 ± 8,45                |
| Lô 2: Mô hình CY                        | 10 | 8,06 ± 4,00***              |
| Lô 3: Chứng dương levamisol             | 10 | 13,06 ± 4,87** <sup>Δ</sup> |
| Lô 4: Saphia Alkali D80 liều 14,4 mg/kg | 10 | 9,92 ± 4,79***              |
| Lô 5: Saphia Alkali D80 liều 28,8 mg/kg | 10 | 12,57 ± 4,30** <sup>Δ</sup> |

Chú thích: \*\*, \*\*\*: Khác biệt so với Chứng sinh học với  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$

<sup>Δ</sup>: Khác biệt so với Mô hình với  $p < 0,05$

Kết quả trình bày ở bảng 7 cho thấy:

- Lô mô hình (lô 2): Nồng độ IL-2 trong máu ngoại vi giảm rõ rệt so với lô chứng sinh học với  $p < 0,001$ .
- Lô uống levamisol (lô 3): Nồng độ IL-2 trong máu ngoại vi tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với  $p < 0,05$ .
- Lô uống Saphia Alkali D80 liều 14,4 mg/kg: Nồng độ IL-2 trong máu ngoại vi 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 Saphia Alkali D80 liều 28,8 mg/kg: Nồng độ IL-2 trong máu ngoại vi tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với  $p < 0,05$ .

**Bảng 8: Ảnh hưởng của thuốc thử lên nồng độ TNF- $\alpha$  trong máu ngoại vi**

| Lô                                      | n  | Nồng độ TNF- $\alpha$ (pg/mL) |
|-----------------------------------------|----|-------------------------------|
| Lô 1: Chứng sinh học                    | 10 | 15,67 $\pm$ 7,31              |
| Lô 2: Mô hình CY                        | 10 | 12,25 $\pm$ 5,72              |
| Lô 3: Chứng dương levamisol             | 10 | 12,95 $\pm$ 5,83              |
| Lô 4: Saphia Alkali D80 liều 14,4 mg/kg | 10 | 12,64 $\pm$ 5,30              |
| Lô 5: Saphia Alkali D80 liều 28,8 mg/kg | 10 | 12,39 $\pm$ 3,73              |

Kết quả trình bày ở bảng 8 cho thấy:

– Lô mô hình (lô 2): Nồng độ TNF- $\alpha$  trong máu ngoại vi có xu hướng giảm so với lô chứng sinh học ( $p > 0,05$ ).

– Lô uống levamisol (lô 3): Nồng độ TNF- $\alpha$  trong máu ngoại vi xu hướng tăng so với lô mô hình, tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

– Các lô uống Saphia Alkali D80 (lô 4 và lô 5): Nồng độ TNF- $\alpha$  trong máu ngoại vi xu hướng tăng so với lô mô hình, tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

### 2.3. Kết quả đánh giá miễn dịch dịch thể

**Bảng 9: Ảnh hưởng của Saphia Alkali D80 lên nồng độ IgG trong máu ngoại vi**

| Lô                                      | n  | Nồng độ IgG<br>(ng/mL)         |
|-----------------------------------------|----|--------------------------------|
| Lô 1: Chứng sinh học                    | 10 | 633,96 ± 255,94                |
| Lô 2: Mô hình CY                        | 10 | 198,04 ± 86,33***              |
| Lô 3: Chứng dương levamisol             | 10 | 284,67 ± 93,22*** <sup>Δ</sup> |
| Lô 4: Saphia Alkali D80 liều 14,4 mg/kg | 10 | 170,06 ± 80,71***              |
| Lô 5: Saphia Alkali D80 liều 28,8 mg/kg | 10 | 190,85 ± 95,68***              |

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

<sup>Δ</sup>: Khác biệt so với Mô hình với  $p < 0,05$

Kết quả trình bày ở bảng 9 cho thấy:

- Lô mô hình (lô 2): Nồng độ IgG trong máu ngoại vi giảm rõ rệt so với lô chứng sinh học với  $p < 0,001$ .
- Lô uống levamisol (lô 3): Nồng độ IgG trong máu ngoại vi tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với  $p < 0,05$ .
- Các lô uống Saphia Alkali D80 (lô 4 và lô 5): Nồng độ IgG trong máu ngoại vi không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ( $p > 0,05$ ).

### III. KẾT LUẬN

Saphia Alkali D80 liều 14,4 mg/kg (tương đương với liều dự kiến điều trị trên lâm sàng) uống liên tục trong 7 ngày có xu hướng kích thích miễn dịch trên mô hình gây suy giảm miễn dịch cấp tính bằng cyclophosphamid thông qua các chỉ số: xu hướng tăng số lượng bạch cầu ngoại vi và số lượng tuyệt đối các loại bạch cầu trong máu ngoại vi, xu hướng tăng phản ứng bì với kháng nguyên OA, xu hướng tăng nồng độ IL-2 và nồng độ TNF- $\alpha$  trong máu ngoại vi, cải thiện tình trạng tổn thương các cơ quan lách, tuyến ức trên hình ảnh giải phẫu bệnh vi thể so với lô mô hình.

Saphia Alkali D80 liều 28,8 mg/kg (gấp 2 lần liều tương đương với liều dự kiến điều trị trên lâm sàng) uống liên tục trong 7 ngày thể hiện tác dụng kích thích miễn dịch trên mô hình gây suy giảm miễn dịch cấp tính bằng cyclophosphamid thông qua các chỉ số: tăng trọng lượng lách tương đối, tăng số lượng bạch cầu ngoại vi, xu hướng tăng số lượng tuyệt đối các loại bạch cầu trong máu ngoại vi, xu hướng tăng phản ứng bì với kháng nguyên OA; tăng nồng độ IL-2, xu hướng tăng nồng độ TNF- $\alpha$  trong máu ngoại vi và cải thiện rõ tình trạng tổn thương các cơ quan lách, tuyến ức trên hình ảnh giải phẫu bệnh vi thể so với lô mô hình.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Yan H, Lu J, Wang J, et al. Prevention of Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression in Mice With Traditional Chinese Medicine Xuanfei Baidu Decoction. *Front Pharmacol*. 2021 Oct 19;12:730567.
2. Liu S, Li Z, Shao Z, et al. Effect of velvet antler on the immune activity of cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice. *Food and Agricultural Immunology*. 2022;33(1):768-779.
3. Wang S, Huang S, Ye Q, et al. Prevention of Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression in Mice with the Antimicrobial Peptide Sublancin. *J Immunol Res*. 2018 May 7;2018:4353580.
4. Xiaonan Zhou, Qun Dong, Xianzhao Kan, et al. Immunomodulatory activity of a novel polysaccharide from *Lonicera japonica* in immunosuppressed mice induced by cyclophosphamide. *PLoS ONE*. 2018; 13(10): e0204152.
5. Xuhui Chen, Shasha Wang, Guangjing Chen, et al (2020), The immunomodulatory effects of Carapax Trionycis ultrafine powder on cyclophosphamide-induced immunosuppression in Balb/c mice. *J Ethnopharmacol*. 2020;115(3):502-6.

Hà Nội, ngày 09 tháng 01 năm 2024

**Giám đốc Trung tâm Dược lý lâm sàng**



**Phạm Thị Vân Anh**