

Tác dụng tăng lực và tăng cường miễn dịch của chế phẩm từ Sâm Ngọc Linh và Đông trùng hạ thảo

Nguyễn Hoàng Minh^{1*}, Chung Thị Mỹ Duyên¹, Hà Quang Thanh¹,
Nguyễn Thị Thu Hương², Trương Thị Phương Lan³ và Dương Thị Mộng Ngọc³
¹Trung Tâm Sâm và Dược liệu TP.HCM, ²Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng
³Công ty TNHH Sâm Sâm- Tỉnh Quảng Nam - Việt Nam

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Đánh giá hoạt tính sinh học của dược liệu và chế phẩm từ dược liệu là cần thiết và hữu ích nhằm tìm ra nguồn dược liệu tự nhiên và chế phẩm từ dược liệu có tác dụng bồi bổ sức khỏe cũng như hỗ trợ điều trị tăng cường miễn dịch. **Mục tiêu:** Nghiên cứu tiến hành đánh giá tác dụng tăng lực và tăng cường miễn dịch của chế phẩm được bào chế từ Sâm Ngọc Linh và Đông trùng hạ thảo (viên SATONIC). **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu đánh giá tác dụng tăng lực trên thử nghiệm chuột bơi kiệt sức của Brekhman (có hiệu chỉnh) và tác dụng tăng cường miễn dịch trên mô hình gây suy giảm miễn dịch bằng cyclophosphamid của viên SATONIC. **Kết quả:** Viên SATONIC liều 0.5 viên/kg-1 viên/kg làm tăng thời gian bơi của chuột thể hiện tác dụng tăng lực- phục hồi sức. Viên SATONIC giúp tăng khả năng thực bào, số lượng bạch cầu tổng và tăng cường đáp ứng miễn dịch tế bào, giúp làm giảm trọng lượng tương đối cơ quan lách trên chuột bị gây suy giảm miễn dịch bằng cyclophosphamid. **Kết luận:** Viên SATONIC có tác dụng tăng lực và tăng cường miễn dịch trên thực nghiệm, cho thấy tiềm năng ứng dụng trong việc nâng cao sức đề kháng của cơ thể.

Từ khóa: Sâm Ngọc Linh và Đông trùng hạ thảo, viên SATONIC, tăng lực, tăng cường miễn dịch

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việc đánh giá hoạt tính sinh học của các dược liệu theo hướng tăng cường sức khỏe thể chất và hoạt động của hệ miễn dịch là một nhiệm vụ cấp thiết và hữu ích trong chăm sóc và bảo vệ sức khỏe cộng đồng, đặc biệt là trong giai đoạn con người cần vượt qua sự tấn công của dịch bệnh. Việc tìm ra liệu pháp/sản phẩm để nâng cao sức đề kháng của cơ thể cho các bệnh nhân mắc bệnh Covid-19 nói riêng và dự phòng các bệnh nhiễm khác là điều cấp thiết [1]. Nhân sâm (*Panax ginseng* C.A. Meyer, họ Nhân sâm) ngoài tác dụng bổ toàn thân còn được chứng minh về hiệu quả tăng cường hoạt động miễn dịch [2]. Sâm Việt Nam còn gọi Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv., Vietnamese ginseng) là một trong những cây thuốc thuộc họ Nhân sâm tiêu biểu của Việt Nam đã được chứng minh có tác dụng, bổ dưỡng, kháng viêm, chống ung thư, chống stress, tăng cường hệ miễn dịch, ngăn ngừa các tổn thương oxy hóa [3 - 6]. Năm 2017, Sâm Ngọc Linh đã được xếp vào danh mục sản phẩm quốc gia thuộc “Chương trình phát triển sản phẩm quốc gia đến năm 2020” (theo quyết định số 787/QĐ – TTg ngày 05 tháng 06 năm 2017 của Thủ tướng Chính Phủ). Cao chiết từ thân rễ Sâm Việt Nam đã được chứng minh có tác dụng làm tăng chỉ số thực bào, trọng lượng tương đối của tuyến ức và tuyến

thượng thận của chuột bị suy giảm miễn dịch do stress [5]. Dương Hồng Tố Quyên và cộng sự (2015) đã chứng minh cao chiết từ Sâm Việt Nam trồng có tác dụng tăng lực, hồi phục sức [6]. Đồng thời, Đông trùng hạ thảo là vị thuốc đông y nổi tiếng về cả tác dụng sinh học và giá trị trên thị trường, đã có nhiều công trình chứng minh dược liệu này có tác dụng điều hòa miễn dịch, chống ung thư, chống oxy hóa, chống lão hóa [7 - 8]. Akira Nagata và cộng sự chứng minh Đông trùng hạ thảo có tác dụng chống mệt mỏi, chống kiệt sức trong quá trình kiểm tra bài tập thể lực ở người trưởng thành [8]. Tao Li và Wei Li chứng minh polysaccharide trích từ Đông trùng hạ thảo liều 200 mg/kg có tác dụng làm chậm sự gia tăng acid lactic, tăng dự trữ glycogen ở gan và cơ, kéo dài thời gian bơi của chuột, chống mệt mỏi của chuột trên thử nghiệm sức bền bơi của chuột [9]. Từ những cơ sở trên đưa đến câu hỏi: Liệu rằng sự phối hợp Sâm Ngọc Linh và Đông trùng hạ thảo có thể hiện tác dụng bồi bổ sức khỏe tăng cường miễn dịch hay không? Do đó, nhóm nghiên cứu hướng đến mục tiêu đánh giá tác dụng tăng lực và tăng cường miễn dịch của chế phẩm được bào chế từ Sâm Ngọc Linh và Đông trùng hạ thảo (viên nang mềm SATONIC) nhằm góp phần chăm sóc sức khỏe nhân dân và cộng đồng.

Tác giả liên hệ: Nguyễn Hoàng Minh
Email: hoangminhtkd90@gmail.com

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Viên nang mềm SATONIC (viên SATONIC), đạt tiêu chuẩn cơ sở, được cung cấp bởi Công ty TNHH Sâm Sâm, Quảng Nam, chứa 171.6 mg cao khô chiết từ hỗn hợp dược liệu gồm thân rễ Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis*) 21.45 mg và phần thảo Đông Trùng Hạ Thảo (*Cordyceps militaris*) 543.40 mg (không dùng để giá) đã được tiêu chuẩn hóa. Viên SATONIC được khảo sát tác dụng ở các liều 0.5 viên/kg và 1 viên/kg trọng lượng chuột được quy đổi tương đương với liều dự kiến sử dụng trên người (2 - 4 viên/ngày). Viên nang mềm được loại bỏ vỏ nang, phần dịch cao thu được trong ruột viên được hoà với nước cất để thử nghiệm.

2.2. Động vật nghiên cứu

Các thử nghiệm được thực hiện trên chuột nhắt trắng đực (*Swiss albino*), 5 - 6 tuần tuổi, trọng lượng 25 ± 2 gram. Chuột và thực phẩm nuôi được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế - TP. Nha Trang. Thể tích cho uống (p.o.) hay tiêm màng bụng (i.p.) là 10 ml/kg trọng lượng chuột. Các thí nghiệm trên động vật nghiên cứu được thực hiện theo "Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu" của Bộ Y tế (ban hành kèm theo quyết định số 141/QĐ - K2ĐT ngày 27/10/2015) và đảm bảo tuân thủ nguyên tắc 3 R (Reduction-Replacement-Refinement).

2.3. Hóa chất, thuốc thử nghiệm- Thiết bị

Cyclophosphamid, zymosan và ovalbumin (Sigma-Aldrich, USA); levamisol hydrochlorid (Wako Ltd. Co., Japan). Các hóa chất khác đạt tiêu chuẩn nghiên cứu.

Cân phân tích Ohaus (Mỹ), máy ly tâm (Hermle- Đức), máy đo quang phổ UV-Vis Beckman Coulter (Đức), máy phân tích huyết học Sysmex XN-330 của Nhật, máy đo thể tích phù chân chuột (Plethysmometer-Ugo, Ý).

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế thử nghiệm: Thử nghiệm *in vivo*, bố trí ngẫu nhiên, có đánh giá tác dụng so sánh với lô chứng không điều trị và lô đối chiếu.

2.4.1. Khảo sát tác dụng tăng lực- Nghiệm pháp chuột bơi kiệt sức của Brekhman [10]

Chuột được mang vào đui gia trọng bằng 5% thể trọng, cho chuột bơi trong thùng nước có dung tích 20 lít, nhiệt độ nước $29 \pm 1^\circ\text{C}$. Chuột được cho bơi lần 1, thời gian bơi tính từ khi chuột được thả vào thùng nước, bơi đến khi chìm khỏi mặt nước 20 giây và không trôi lên được nữa (T_0). Cho chuột nghỉ 5 phút, chia ngẫu nhiên các lô thí nghiệm ($n = 8$) gồm lô

chứng (uống nước cất), lô thử 1-2 (uống viên SATONIC liều 0,5 viên/kg và liều 1 viên/kg). Một giờ sau khi cho chuột uống ở các lô, ghi nhận thời gian bơi lần 2 ($T_{60\text{ min}}$). Chuột được tiếp tục cho uống nước cất và chế phẩm liên tục (mỗi ngày vào một giờ nhất định) trong 7 ngày, sau 1 giờ uống mẫu thử ở ngày thứ 7 tiến hành cho chuột bơi lần 3 ($T_{7\text{ ngày}}$). Đánh giá phần trăm thời gian bơi lần 2 so với lần 1 là: $[(T_{60\text{ min}}/T_0) \times 100]$ và phần trăm thời gian bơi lần 3 so với lần 1 là: $[(T_{7\text{ ngày}}/T_0) \times 100]$.

2.4.2. Khảo sát tác dụng tăng cường miễn dịch

Bảng 1. Bố trí các lô thí nghiệm trong mô hình chuột bị suy giảm miễn dịch

Nhóm	Lô (n=8)
CY (-)	Chứng sinh lý (uống nước cất)
	Viên SATONIC liều 1 viên/kg
CY (+)	Chứng bệnh lý (uống nước cất)
	Viên SATONIC liều 0.5 viên/kg
	Viên SATONIC liều 1 viên/kg
	Thuốc đối chiếu phù hợp từng thử nghiệm

CY (-): Không tiêm cyclophosphamid; CY (+): Tiêm màng bụng (i.p.) liều duy nhất cyclophosphamid 150 mg/kg.

a. Xác định chỉ số thực bào bằng thực nghiệm thanh thải carbon

Một giờ sau lần uống ngày thứ 5, tiêm tĩnh mạch đui chuột dung dịch mực có độ đậm tương đương với hàm lượng carbon là 751 mg/kg. Lấy máu ở đám rối tĩnh mạch hốc mắt chuột ở các thời điểm 0 phút và 5 phút. Mẫu máu được pha trong dung dịch natri carbonat 0.1% và được đo mật độ quang ở bước sóng 640 nm, chất đối chiếu được chọn trong thực nghiệm này là zymosan liều 10 mg/kg (i.p.) [4, 5]. Chỉ số thực bào được tính bằng công thức:

$$K = \frac{\ln OD_1 - \ln OD_2}{T_2 - T_1}$$

Trong đó: K là hằng số biểu hiện sự thanh thải carbon; OD_1 và OD_2 : Mật độ quang đo ở các thời điểm T_1 (0 phút) và T_2 (5 phút).

b. Khảo sát trọng lượng tương đối gan, lách, tuyến ức

Giải phẫu chuột tách và cân gan, lách, tuyến ức vào ngày thứ 10 kể từ ngày tiêm CY, thuốc đối chiếu được chọn trong thực nghiệm là levamisol liều uống 25 mg/kg [5]. Trọng lượng tương đối của các cơ quan được tính bằng công thức sau:

$$g(\%) = \frac{P_{cq}}{P_{ct}} \times 100$$

Trong đó: P_{cq} là trọng lượng của cơ quan; P_{ct} là trọng lượng cơ thể chuột tại thời điểm khảo sát.

c. Khảo sát số lượng bạch cầu và tỷ lệ % các loại bạch cầu

Lấy mẫu tĩnh mạch đuôi chuột vào ngày thứ 5 từ khi tiêm CY. Thuốc đối chiếu được chọn trong thực nghiệm là levamisol liều 25 mg/kg [5].

d. Khảo sát đáp ứng miễn dịch tế bào

Sau 1 giờ tiêm cyclophosphamid, cho chuột uống mẫu thử và liên tục các ngày tiếp theo, thuốc đối chiếu được chọn trong thực nghiệm là levamisol liều 25 mg/kg. Ngày thứ 14, gây miễn cảm bằng tiêm tĩnh mạch đuôi bằng ovalbumin với liều 0,5 mg/kg thể trọng chuột. Ngày thứ 18, tiêm nhắc lại ovalbumin với liều 2.5 mg/kg thể trọng chuột với thể tích tiêm là 50 μ l vào dưới da gang bàn chân phải [5]. Tiến hành đo thể tích chân chuột vào các thời điểm sau khi tiêm ovalbumin 4 giờ (V_1) và sau khi tiêm ovalbumin 24 giờ (V_2) trước khi tiêm ovalbumin lần 2. Chân trái không tiêm được sử dụng làm đối chiếu (V_0).

Tính % độ phù chân chuột bằng công thức:

$$\%V_4 \text{ giờ} = \frac{V_1 - V_0}{V_0} \times 100; \quad \%V_{24} \text{ giờ} = \frac{V_2 - V_0}{V_0} \times 100$$

2.5. Đánh giá kết quả

Các số liệu được biểu hiện bằng giá trị trung bình: $M \pm SEM$ (Standard error of the mean – sai số chuẩn của giá trị trung bình) và được xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One – Way ANOVA và hậu kiểm bằng Student – Newman – Keuls test (phần mềm SigmaStat 3.5, USA). Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi $p < 0.05$.

3. KẾT QUẢ

3.1. Tác dụng tăng lực

Kết quả Bảng 2 cho thấy sau khi dùng mẫu thử 60 phút, tỉ lệ thời gian bơi của các lô chuột uống chế phẩm liều 0.5 viên/kg không khác biệt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý. Trong khi đó, tỉ lệ thời gian bơi của lô chuột uống viên SATONIC liều 1 viên/kg tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p < 0.001$), đồng thời liều này thể hiện tác dụng hồi phục sức tức thời tốt hơn liều 0.5 viên/kg ($p < 0.001$).

Bảng 2. Tỉ lệ % thời gian bơi ở các thời điểm $T_{60 \text{ phút}}$, $T_{7 \text{ ngày}}$ so với T_0 ở các lô thử nghiệm

Lô (n = 8)	$T_{60 \text{ phút}}/T_0$	$T_{7 \text{ ngày}}/T_0$
Chứng sinh lý	65.90 ± 6.15	172.71 ± 14.85
Viên SATONIC liều 0.5 viên/kg	98.55 ± 9.54	$378.00 \pm 20.58^{***}$
Viên SATONIC liều 1 viên/kg	$150.17 \pm 11.07^{***}$	$448.21 \pm 27.53^{***}$

***: $p < 0.01$ so với lô chứng sinh lý trong cùng thời điểm

Sau 7 uống mẫu thử, tỉ lệ thời gian bơi của lô chuột uống chế phẩm liều 0.5 viên/kg - 1 viên/kg đều tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p < 0.001$). Trong đó, liều 1 viên/kg thể hiện tác dụng tăng lực tốt hơn

liều 0.5 viên/kg ($p = 0.012$), điều này cho thấy tác dụng tăng lực-chống nhược sức của chế phẩm có sự phụ thuộc liều.

3.2. Tác dụng tăng cường miễn dịch

3.2.1. Chỉ số thực bào

Bảng 3. Kết quả chỉ số thực bào (K) của các lô thử nghiệm

Nhóm	Lô (n=8)	K
CY(-)	Chứng sinh lý	0.296 ± 0.018
	Viên SATONIC liều 1 viên/kg	0.283 ± 0.022
CY(+)	Chứng bệnh lý	$0.197 \pm 0.012^{\#}$
	Viên SATONIC liều 0,5 viên/kg	$0.253 \pm 0.023^*$
	Viên SATONIC liều 1 viên/kg	$0.273 \pm 0.030^*$
	Zymosan liều 10 mg/kg	$0.287 \pm 0.020^*$

$^{\#}$: $p < 0.05$ so với lô chứng sinh lý; * : $p < 0.05$ so với lô chứng bệnh lý

Trong nhóm CY (-): Kết quả Bảng 3 cho thấy lô chuột uống viên SATONIC liều 1 viên/kg không ảnh hưởng đến chỉ số thực bào trên chuột bình thường ($p=0.662$).

Trong nhóm CY (+): Lô chứng bệnh lý có chỉ số thực bào sau 5 phút giảm 35.06% đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý, chứng tỏ đã gây thành công mô hình thực nghiệm thanh thải carbon để xác định chỉ số thực bào. Các lô cho uống chế phẩm ở các liều thử

thử nghiệm đều có chỉ số thực bào sau 5 phút tăng 28.43% - 38.58% đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ($p = 0.048$; $p = 0.044$; tương ứng), trở về giá trị bình thường khi so sánh với chứng sinh lý ($p = 0.514$; $p = 0.749$; tương ứng). Các lô uống viên SATONIC ở các liều thử nghiệm có chỉ số thực bào không khác biệt với nhau ($p = 0.513$) và tương đương với tác dụng của zymosan liều 10 mg/kg ($p = 0.508$; $p = 0.649$; tương ứng).

3.2.2. Số lượng bạch cầu và tỉ lệ % các loại bạch cầu

Bảng 4. Kết quả khảo sát bạch cầu tổng của các lô thử nghiệm

Nhóm	Lô (n=8)	Bạch cầu tổng/mm ³
CY(-)	Chứng sinh lý	1,0012.50 ± 511.04
	Viên SATONIC liều 1 viên/kg	9,361.25 ± 903.69
CY(+)	Chứng bệnh lý	1,165.00 ± 66.74^{###}
	Viên SATONIC liều 0,5 viên/kg	1,653.75 ± 133.30 ^{###,**}
	Viên SATONIC liều 1 viên/kg	2,063.75 ± 199.15 ^{###,***}
	Levamisol liều 25 mg/kg	1,536.25 ± 146.37 ^{###,*}

^{###}: $p < 0.001$ so với lô chứng sinh lý; ^{*}: $p < 0.05$ so với lô chứng bệnh lý; ^{**}: $p < 0.01$ so với lô chứng bệnh lý; ^{***}: $p < 0.001$ so với lô chứng bệnh lý

Bảng 5. Kết quả khảo sát công thức bạch cầu của các lô thử nghiệm

Nhóm	Lô (n=8)	% Neutrophil	% Lymphocyte	% Monocyte
CY(-)	Chứng sinh lý	5.78 ± 0.53	83.75 ± 1.88	1.55 ± 0.14
	Viên SATONIC liều 1 viên/kg	6.33 ± 0.49	79.91 ± 1.05	1.32 ± 0.12
CY(+)	Chứng bệnh lý	0.36 ± 0.13^{###}	72.94 ± 6.01	30.74 ± 0.14^{###}
	Viên SATONIC liều 0.5 viên/kg	1.55 ± 0.21 ^{###,***}	83.95 ± 4.41	23.20 ± 2.59 ^{###}
	Viên SATONIC liều 1 viên/kg	1.36 ± 0.16 ^{###,***}	79.56 ± 4.81	26.97 ± 3.29 ^{###}
	Levamisol liều 25 mg/kg	1.30 ± 0.26 ^{###,***}	78.30 ± 4.34	23.50 ± 3.26 ^{###}

^{###}: $p < 0.001$ so với lô chứng sinh lý; ^{***}: $p < 0.001$ so với lô chứng bệnh lý; ^{###}: $p < 0.001$ so với lô chứng sinh lý; ^{***}: $p < 0.001$ so với lô chứng bệnh lý

Kết quả ở Bảng 4 và 5 cho thấy:

Trong nhóm CY (-): Các lô chuột uống chế phẩm liều 1 viên/kg không ảnh hưởng đến bạch cầu tổng và tỷ lệ % lymphocyte, % monocyte trên chuột bình thường ($p = 0.541$; $p = 0.458$; $p = 0.096$; $p = 0.248$).

Trong nhóm CY (+): Lô chứng bệnh lý có bạch cầu tổng, tỷ lệ % neutrophil giảm (8.6; 16.1 lần; tương ứng) và tỷ lệ % monocyte tăng 19,3 lần; đạt ý nghĩa thống kê khi so với chứng sinh lý ($p < 0.001$). Lô chuột uống chế phẩm ở cả 2 liều thử nghiệm có số lượng bạch cầu tổng tăng 41.95% - 77.15%, đạt ý nghĩa thống kê khi so với lô chứng bệnh lý ($p = 0.005$; $p < 0.001$; tương ứng); tương đương với levamisol liều 25 mg/kg ($p = 0.754$; $p = 0.341$; tương ứng). Tương tự, các lô chuột cho

chế phẩm ở các liều thử nghiệm đều thể hiện tác dụng phục hồi (từ 275.21 - 327.00 lần) tỷ lệ % neutrophil, giảm (12.26% - 24.52%) tỷ lệ % monocyte, đạt ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô chứng bệnh lý; thể hiện tác dụng cải thiện tỷ lệ neutrophil và giảm tỷ lệ % monocyte, tương tự levamisol liều 25 mg/kg trong mô hình chuột gây suy giảm miễn dịch bằng cyclophosphamide.

Tuy nhiên, lô chuột bệnh lý có tỷ lệ % lymphocyte không khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý, chứng tỏ mô hình cyclophosphamide không ảnh hưởng lên % lymphocyte. Do đó, không đánh giá được ảnh hưởng của chế phẩm cũng như levamisol trên chỉ tiêu này.

3.2.3. Trọng lượng tương đối các cơ quan gan, lách, tuyến ức

Bảng 6. Trọng lượng tương đối các cơ quan gan, lách, tuyến ức của các lô thử nghiệm

Nhóm	Lô (n=8)	Lách (g%)	Tuyến ức (g%)	Gan (g%)
CY(-)	Chứng sinh lý	0.585 ± 0.043	0.184 ± 0.014	4.425 ± 0.182
	Viên SATONIC liều 1 viên/kg	0.468 ± 0.044	0.208 ± 0.012	4.755 ± 0.158

CY(+)	Chứng bệnh lý	1.214 ± 0.057^{###}	0.112 ± 0.014^{##}	5.412 ± 0.374[#]
	Viên SATONIC liều 0,5 viên/kg	1.098 ± 0.068	0.115 ± 0.014	5.208 ± 0.191
	Viên SATONIC liều 1 viên/kg	0.899 ± 0.073 ^{**}	0.120 ± 0.011	4.723 ± 0.183
	Levamisol liều 25 mg/kg	0.694 ± 0.060 ^{***}	0.146 ± 0.020	4.845 ± 0.172

[#]: $p < 0.05$ so với lô chứng sinh lý; ^{##}: $p < 0.01$ so với lô chứng sinh lý; ^{###}: $p < 0.001$ so với lô chứng sinh lý; ^{*}: $p < 0.05$ so với lô chứng bệnh lý; ^{**}: $p < 0.01$ so với lô chứng bệnh lý; ^{***}: $p < 0.001$ so với lô chứng bệnh lý.

Trong nhóm CY (-): Các lô chuột uống chế phẩm liều 1 viên/kg, tương tự như levamisol liều 25 mg/kg không ảnh hưởng đến trọng lượng tương đối của lách, tuyến ức, gan trên chuột bình thường.

Trong nhóm CY (+): Kết quả bảng 6 cho thấy lô chứng bệnh lý có trọng lượng tương đối của lách, gan tăng (107.52%, 39.13%, 22.31%; tương ứng) và tuyến ức giảm 39.13%; đạt ý nghĩa thống kê so với chứng sinh lý ($p < 0.001$; $p = 0.039$; $p = 0.006$; tương ứng). Các lô chuột uống chế phẩm ở liều 1 viên/kg có trọng lượng tương đối của lách giảm 25.95% đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ($p = 0.002$). Đồng thời chế phẩm liều 1 viên/kg thể hiện tác dụng phục hồi trọng lượng tương đối của lách điển hình

hơn so với liều 0.5 viên/kg ($p = 0.027$); nhưng chưa thể hiện tác dụng tương đương levamisol liều 25 mg/kg ($p = 0.023$). Kết quả cũng cho thấy mặc dù các lô chuột cho uống viên SATONIC ở các liều thử nghiệm đều có tác dụng làm giảm trọng lượng tương đối gan, phục hồi trọng lượng tương đối tuyến ức nhưng chưa điển hình khi so sánh thống kê so với chứng bệnh lý.

d. Đáp ứng kháng nguyên-kháng thể trong thực nghiệm dùng ovalbumin

Kết quả bảng 7 cho thấy lô chuột uống chế phẩm liều 1 viên/kg, tương tự như levamisol liều 25 mg/kg không ảnh hưởng trên độ phù chân chuột của nhóm chuột bình thường ở các thời điểm khảo sát.

Bảng 7. Phần trăm độ phù chân chuột của các lô thử

Nhóm	Lô (n=8)	%V ₄ giờ	%V ₂₄ giờ
CY (-)	Chứng sinh lý	77.47 ± 5.25	41.25 ± 2.04
	Viên SATONIC liều 1 viên/kg	71.63 ± 3.92	37.56 ± 2.91
CY (-)	Chứng bệnh lý	54.23 ± 5.38^{##}	25.79 ± 2.45^{##}
	Viên SATONIC liều 0,5 viên/kg	75.76 ± 2.97 ^{**}	32.56 ± 2.90
	Viên SATONIC liều 1 viên/kg	71.51 ± 4.31 ^{**}	37.24 ± 3.86 [*]
	Levamisol liều 25 mg/kg	77.57 ± 4.19 ^{**}	35.21 ± 3.58 [*]

^{##}: $p < 0.01$ so với lô chứng sinh lý cùng thời điểm

^{*}: $p < 0.05$ so với lô chứng bệnh lý cùng thời điểm; ^{**}: $p < 0.01$ so với lô chứng bệnh lý cùng thời điểm

Lô chứng bệnh lý có độ phù chân chuột giảm (30.01% và 37.47%) sau 4 giờ và 24 giờ tiêm ovalbumin lần 2, đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p = 0.005$; $p = 0.008$; tương ứng). Kết quả ghi nhận sau 4 giờ tiêm ovalbumin lần 2 cho thấy lô chuột uống chế phẩm liều 0.5 viên/kg- 1 viên/kg thể hiện tác dụng đáp ứng miễn dịch là tương đương nhau ($p = 0.51$); có độ phù chân chuột tăng (31.88%-39.71%), đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ($p = 0.005$; $p = 0.001$; tương ứng), tương tự như tác dụng của levamisole ($p = 0.956$; $p = 0.778$; tương ứng); có giá trị độ phù chân chuột trở về trị số bình thường khi so sánh với chứng sinh lý ($p = 0.789$; $p = 0.622$; tương ứng).

Tương tự, kết quả ghi nhận sau 24 giờ tiêm ovalbumin lần 2 cho thấy liều 1 viên/kg thể hiện tác dụng đáp ứng miễn dịch điển hình hơn liều 0,5 viên/kg; có độ phù chân chuột tăng 44.38%, đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ($p = 0.025$), thể hiện tác dụng đáp ứng miễn dịch tương tự levamisole ($p = 0.639$); có giá trị độ phù chân chuột trở về trị số bình thường khi so sánh với chứng sinh lý ($p = 0.358$). Điều này chứng tỏ viên SATONIC thể hiện tác dụng tăng cường phản ứng quá mẫn đáp ứng miễn dịch tế bào (quá mẫn muộn).

3. THẢO LUẬN

Phương pháp chuột bơi Brekhman là phương pháp kinh điển thường được áp dụng để đánh

giá tác dụng hồi phục sức, chống mệt mỏi của mẫu thử sau liều đơn (so sánh thời gian bơi sau 60 phút uống mẫu thử so với thời gian bơi ban đầu) và tác dụng tăng lực, tăng sức bền của mẫu thử sau các liều lặp lại (so sánh thời gian bơi sau 7 ngày uống mẫu thử so với thời gian bơi ban đầu). Khả năng chịu đựng của cơ thể phụ thuộc vào mức độ nguồn năng lượng bao gồm glycogen dự trữ, sự chuyển hóa các sản phẩm để tạo năng lượng. Trong quá trình cơ thể vận động sẽ làm tăng lượng tiêu thụ glycogen trong cơ xương và gan, tăng acid lactic gây ra tình trạng mệt mỏi. Thành phần ginsenosid có trong sâm Ngọc Linh và polysaccharide trong Đông trùng hạ thảo đã được chứng minh có tác dụng chống lại mệt mỏi, kéo dài thời gian bơi trên chuột thí nghiệm. Ginsenosid-Rb1 có khả năng làm gia tăng mức độ glycogen trong cơ xương và gan trên chuột có biểu hiện mệt mỏi sau phẫu thuật [11]. Polysaccharide trích từ Đông trùng hạ thảo có tác dụng làm chậm sự gia tăng acid lactic, tăng dự trữ glycogen ở gan và cơ [9].

Cyclophosphamid là loại thuốc được chỉ định điều trị một số bệnh ung thư nhưng có thể ức chế tủy xương và gây suy giảm miễn dịch trên động vật thử nghiệm. Kết quả thực nghiệm cho thấy cyclophosphamid đã làm suy giảm hệ miễn dịch trên lô chứng bệnh lý thông qua sự giảm chỉ số thực bào; giảm trọng lượng tương đối của lách, gan; giảm mạnh đáp ứng miễn dịch tế bào.

Trong đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu, bên cạnh hàng rào miễn dịch bảo vệ thứ nhất của cơ thể như: da, niêm mạc, dịch tiết, ho, hắt hơi, bài tiết... thì hiện tượng thực bào (hàng rào bảo vệ thứ hai) đóng một vai trò quan trọng trong việc loại bỏ nhanh các yếu tố lạ xâm nhập và trình diện kháng nguyên để hoạt hóa các tế bào lympho T. Việc gây suy giảm miễn dịch và chủ động đưa kháng nguyên (carbon) vào cơ thể chuột sẽ kích thích các tế bào thực bào hoạt động thanh thải carbon, được đánh giá bằng sự gia tăng chỉ số thực bào. Hoạt động thực bào chủ yếu được thực hiện bởi các đơn nhân thực bào. Quần thể các bạch cầu đơn nhân lớn và bạch cầu đa nhân trung tính thường tạo thành một phức hợp vồng nội mô, tạo nên hàng rào chuyên vây bắt các cấu trúc lạ. Những chất kích thích hoạt động thực bào hoặc hoạt động của hệ vồng nội mô như zymosan sẽ có sự thanh thải nhanh [12]. Lô bệnh lý uống viên SATONIC ở các liều thử nghiệm đều làm tăng chỉ số thực bào tương tự với tác dụng của zymosan.

Hệ thống miễn dịch của cơ thể bao gồm các tế bào có chức năng miễn dịch và các cơ quan miễn dịch như: gan, lách, ức. Các cơ quan này sản xuất, duy trì, điều khiển hoạt động các tế bào miễn dịch trong đáp ứng miễn dịch đặc hiệu và miễn dịch không đặc hiệu [13]. Việc

khảo sát trọng lượng tương đối của lách, tuyến ức, gan nhằm đánh giá mức độ gây tổn thương của cyclophosphamid đối với các cơ quan này và hiệu quả khôi phục chức năng miễn dịch của mẫu nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu đã cho thấy viên SATONIC thể hiện tác dụng phục hồi suy giảm trọng lượng tương đối của lách tương đương với levamisol, một chất kích thích miễn dịch.

Số lượng bạch cầu tổng và % các loại bạch cầu trong máu ngoại vi là các chỉ số mang tính định lượng, phản ánh cả hai phương thức đáp ứng miễn dịch đặc hiệu và miễn dịch không đặc hiệu, cho phép đánh giá một phần tình trạng đáp ứng miễn dịch của cơ thể [13]. Nghiên cứu cho thấy viên SATONIC có tác dụng phục hồi lại công thức bạch cầu trên cơ địa chuột bị gây suy giảm miễn dịch. Điều này cho thấy viên SATONIC có thể có tác dụng làm tăng sinh hoặc làm giảm quá trình chết các dòng tế bào miễn dịch không đặc hiệu trong máu, giúp biệt hóa các dòng tế bào mầm tại tủy xương trên cơ địa chuột bình thường và khôi phục lại công thức bạch cầu trên cơ địa chuột bị gây suy giảm miễn dịch. Cần thiết có những nghiên cứu đánh giá giả thuyết này.

Thực nghiệm ovalbumin thường được sử dụng rộng rãi cho các nghiên cứu liên quan đến miễn dịch tế bào [13]. Tính chất đặc biệt của đáp ứng miễn dịch tế bào là khả năng nhận diện và phản ứng lại với nhiều vật lạ có bản chất nhiễm trùng hoặc không nhiễm trùng. Tuy nhiên, khi phản ứng xảy ra quá mức dẫn đến rối loạn hoặc tổn thương tổ chức gọi là phản ứng quá mẫn. Phản ứng quá mẫn do trung gian tế bào được gọi là phản ứng quá mẫn muộn, xảy ra do sự tương tác giữa tế bào lympho T đã mẫn cảm và kháng nguyên, làm tiết ra lymphokin. Đại thực bào bị thu hút bởi lymphokin cùng với tế bào lympho T khi được kích hoạt sẽ phóng thích các cytokin- làm tăng tính thấm ở các mao mạch. Hiện tượng thoát dịch (chất dịch chứa protein) thấm từ mạch máu vào trong khoảng ngoại bào gây chứng phù. Phương pháp gây quá mẫn ở gang bàn chân chuột với ovalbumin là một trong các thử nghiệm kinh điển được sử dụng trong việc kiểm tra đáp ứng miễn dịch tế bào. Sự sưng phù ở gang bàn chân chuột phản ánh sự tăng đáp ứng miễn dịch dịch thể và miễn dịch qua trung gian tế bào nhằm bảo vệ cơ thể trước sự xâm nhập của tác nhân bên ngoài. Việc theo dõi mức độ sưng phù sẽ đánh giá được mức độ tổn thương và suy giảm của hệ miễn dịch qua trung gian tế bào gây bởi cyclophosphamid [13]. Kết quả thực nghiệm cho thấy cyclophosphamid sau 18 ngày tiêm làm giảm mạnh đáp ứng tế bào sau 4 giờ và sau 24 giờ tiêm ovalbumin lần 2. Viên SATONIC làm tăng đáp ứng tế bào tương tự như tác dụng của levamisol.

Sâm Việt Nam chứa nhiều ginsenosid như ginsenosid Rg1, ginsenosid Rb1, ginsenosid Rd, và đặc biệt là majonosid R2 (marker tạo sự khác biệt với các loài sâm khác). Ginsenosid Rg1 đã được chứng minh có tác dụng cảm ứng interleukin-2, tăng cường hoạt động tế bào T-CD4 và Th2, kích hoạt đại thực bào, ức chế NO; ginsenosid Rg1 kích hoạt đại thực bào, tăng sinh tế bào lympho CD4+/CD8+, cân bằng Th1/Th2, sản xuất TNF- α , tăng hoạt động cơ bắp, tính vận động tự nhiên ở chuột; ginsenosid Rd cảm ứng sự biệt hóa tế bào T điều hòa (Regulatory T cells, Treg-cells) và làm tăng sự sản sinh TGF- β 1, IL-10 và IL-35 [2, 14]. Thêm nữa, majonosid R2 là một ocotillol saponin đặc trưng chỉ có trong Sâm Việt Nam có tác dụng làm tăng chỉ số thực bào *in vitro* và *in vivo* trên chuột bị suy giảm miễn dịch do stress tâm lý [4]. Đông trùng hạ thảo với hợp chất chính là polysaccharide đã được chứng minh giúp làm tăng các cytokine tiền viêm thông qua việc kích hoạt NF-kappaB [15]. Jong Seok Lee và Eock Kee Hong (2011) đã minh chứng rằng *C.militaris* có khả năng điều hòa sự hấp thu NO, ROS, TNF- α và thực bào ở đại thực bào phúc mạc chuột và dòng tế bào đại thực bào

RAW264.7 [16]. Sự hoạt hóa đại thực bào của *C.militaris* thông qua việc kích hoạt NF- κ B và cả ba con đường MAPKs thông qua các thụ thể đại thực bào dectin-1 và TLR2 [16].

Kế thừa và phát triển trên nền tảng các nghiên cứu trước, viên nang mềm SATONIC là chế phẩm đầu tiên với thành phần chính là Sâm Ngọc Linh và Đông trùng hạ thảo được chứng minh trên thực nghiệm có tác dụng tăng lực và tăng cường miễn dịch; điều này càng làm tăng giá trị ứng dụng của chế phẩm này trong hỗ trợ sức khỏe và nâng cao sức đề kháng.

5. KẾT LUẬN

Viên nang mềm SATONIC với thành phần chính là Sâm Ngọc Linh và Đông trùng hạ thảo có tác dụng tăng lực, hồi phục sức trên nghiệm pháp chuột bơi Brekhman. Chế phẩm có tác dụng kích thích hoạt động thực bào, giúp tăng bạch cầu tổng, cải thiện tỷ lệ neutrophil; tăng cường đáp ứng miễn dịch tế bào (quá mẫn muộn) trên mô hình chuột bị suy giảm miễn dịch. Liều uống 1 viên/kg trọng lượng chuột (tương đương với liều quy đổi dự kiến trên người là 4 viên/ngày) của chế phẩm thể hiện tác dụng điển hình hơn liều 0.5 viên/kg.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A. F. Gombart and A. Pierre and S. Maggini, "A Review of Micronutrients and the Immune System—Working in Harmony to Reduce the Risk of Infection", *Nutrients*, vol. 1, no. 1, pp. 236, 2020.
- [2] M. M. Lee and Chang-Gue Son, "Overview for Immune-related Efficacies and their Mechanisms of Ginseng", *The Journal of Korean Oriental Medicine*, vol. 29, no. 5, pp. 118-125, 2008.
- [3] Q. U. Lea and H. L. La and M. C. Wuc and N. T. H. Hanh and N. D. Lam, "Phytoconstituents and Biological activities of *Panax vietnamensis* (Vietnamese Ginseng): A Precious Ginseng and Call for Further Research-A systematic review", *Natural Product Communications*, vol. 13, no. 10, pp. 1381-1384, 2018.
- [4] N. T. T. Huong and M. Kinzo and N. T. Nham and N. H. Quang, ..., W. Hiroshi, "Effects of Vietnamese ginseng on the phagocytosis *in vitro* and *in vivo*", *Phytomedicine*, vol. 4, pp. 341-346, 1996.
- [5] N. T. T. Hương và C. T. M. Duyên và D. H. T. Quỳ và N. M. Đức, "Khảo sát tác dụng của cao Sâm Việt Nam trồng trên một số chức năng miễn dịch ở động vật bị gây bởi stress cô lập", *Tạp chí Dược liệu*, vol. 21, no. (1+2), pp. 60-65, 2016.
- [6] D. H. T. Quỳ và N. T. M. Trúc và N. T. T. Hương và N. M. Đức, "Effect of Cultivated

Vietnamese ginseng Extract on Endurance Capacity in Mice", *Journal of Medicinal Materials*, vol. 20, no. 3, pp. 181-185, 2015.

[7] J. Chen and W. Zhang and T. J. Lu, ..., Kong L, "Morphological and genetic characterization of a cultivated *Cordyceps sinensis* fungus and its polysaccharide component possessing antioxidant property in H22 tumor-bearing mice". *Life Science*, vol. 78, no. 23, pp. 2742-2748, 2006.

[8] A. Nagata and T. Tajima and M. Uchida, "Supplemental anti-fatigue effects of *Cordyceps sinensis* (tochu-kaso) extract powder during three stepwise exercise of human", *Japanese Journal of Physical Fitness and Sports Medicine*, vol. 55, Issue Supplement, pp. 145-152, 2006.

[9] T. Li and W. Li, "Impact of polysaccharides from *Cordyceps* on antifatigue in mice. *Scientific Research and Essay*, vol. 4, no. 7, pp. 705-709, 2009.

[10] Brekhman I.I, "*Eleutherococcus senticosus*, The New medicinal herb of the Araliaceae Family. In: *Proceeding II-International Pharmacological Meeting, Prague*, vol. 7, pp. 97-102, 1976.

[11] S.J. Tan and N. Li and F. Zhou and Q.T. Dong, "Ginsenoside Rb1 improves energy metabolism in the skeletal muscle of an animal model of postoperative fatigue syndrome",

Journal of Surgical Research, vol. 191, no. 2, pp. 344-349, 2014.

[12] J.H. Koh and K.W. Yu and H.J. Suh and Y.M. Choi and T.S. Ahn, "Activation of macrophages and the intestinal immune system by an orally administered decoction from cultured mycelia of *Cordyceps sinensis*", *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, vol. 66, no. 2, pp. 407-411, 2002.

[13] M. Zimecski and J. Artym and S. Ryng and B. O. Mrukowicz, "RM-11: An isoxazole derivative accelerates restoration of the immune function in mice treated with cyclophosphamide", *Pharmacological Reports*, vol. 60, no. 2, pp.183-189, 2008.

[14] J. Sun and X. Song and S. Hu, "Ginsenoside Rg1 and Aluminum Hydroxide

Synergistically Promote Immune Responses to Ovalbumin in BALB/c Mice.", *Clinical and Vaccine Immunology*, vol. 15, no. 2, pp. 303-307, 2008.

[15] S. Shin and J. Kwon and S. Lee, ..., K. Kim, "Immunostimulatory Effects of *Cordyceps militaris* on Macrophages through the Enhanced Production of Cytokines via the Activation of NF-kappaB", *Immune Network*, vol. 10, no. 2, pp.55-63, 2010.

[16] Jong Seok Lee and Eock Kee Hong, "Immunostimulating activity of the polysaccharides isolated from *Cordyceps militaris*", *International Immunopharmacology*, vol.11, no.9, pp.1226-1233, 2011.

The anti-fatigue and immune enhancing effects of the herbal product from *Panax Vietnamensis* and *Cordyceps militaris*

Nguyen Hoang Minh^{*}, Chung Thị My Duyen, Ha Quang Thanh, Nguyen Thi Thu Huong, Truong Thi Phuong Lan and Duong Thi Mong Ngoc

ABSTRACT

Background: Evaluating the biological activity of medicinal herbs and herbal products has been necessary and useful in order to find out the natural sources and the products from herbs for health care with invigorating effects as well as adjuvant treatment of immune-enhancing capacity. **Objective:** The aim of the study was to investigate anti-fatigue and immune-enhancing effect of the soft capsules made from *Panax Vietnamensis* and *Cordyceps militaris* (named as SATONIC capsules). **Methods:** The anti-fatigue effect was determined by Brekhman's mouse swimming test and immune-enhancing effects were studied on a cyclophosphamide-induced immuno-suppression model in mice (at a single dose of 150 mg/kg, i.p). **Results:** The result showed that the capsules at the oral dose of 0.5 to 1 capsule/kg mouse body weight markedly increased the mouse swimming time, determining an invigorating effect on physical strength. SATONIC capsules significantly increased phagocytosis, total white blood cell count. Satonic capsules decreased relative weights of mouse spleen and activated cell-mediated immunity (delayed-type hypersensitivity response) in cyclophosphamide-treated mice. **Conclusions:** SATONIC capsules made from *Panax vietnamensis* and *Cordyceps militaris* had anti-fatigue and immune-enhancing effects in tested mice. The preparation may help boost the body's defenses.

Keywords: Satonic capsule, *Panax vietnamensis* and *Cordyceps militaris*, anti-fatigue effect, immune-enhancing activity

Received: 12/04/2023

Revised: 26/04/2023

Accepted for publication: 27/04/2023