

Phần A: GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

ĐẶT VẤN ĐỀ

Trứng cá (*Acnes*) là một bệnh viêm mạn tính ở đơn vị nang lông, tuyến bã. 80-90% người ở độ tuổi 13- 25 bị trứng cá và trên 30% cần điều trị. Về lâm sàng, hầu hết các trường hợp trứng cá đều có những tổn thương đa dạng: sần viêm, sần đầu đen trắng, mụn mủ, nang, kén cộm cứng dưới da. Mặc dù diễn biến của bệnh trứng cá có thể tự khỏi nhưng một số di chứng có thể tồn tại suốt đời sẹo lõm, sẹo lồi. Các thuốc điều trị trứng cá nhằm vào các cơ chế: ức chế sản xuất bã nhờn, làm mất sừng hóa cổ nang lông tuyến bã, diệt *P. acnes* và giảm phản ứng viêm là thảo dược mặc dù đã được đề cập đến nhưng tuyệt đại đa số chưa biết đầy đủ cơ chế tác dụng, tác dụng không mong muốn và độc tính.

Rễ cây Ba bét lùn tên khoa học *Mallotus nanus* Airy Shaw đã được một số đồng bào dân tộc thiểu số dùng bôi mặt điều trị bệnh trứng cá, cho tới nay trên thế giới chưa có một tài liệu nào công bố về thành phần hóa học, tác dụng sinh học và tác dụng điều trị trứng cá của rễ cây này.

Xuất phát từ thực tế đó chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: “Nghiên cứu độc tính và hiệu quả của dịch chiết từ rễ cây Ba bét lùn điều trị bệnh trứng cá thông thường -*Acne vulgaris*”. Nghiên cứu này có 3 mục tiêu sau:

1. Xác định độc tính cấp, bán trường diễn và tác dụng kích ứng da, mắt trên thực nghiệm;
2. Đánh giá tính kháng *P.acnes* và tác dụng điều trị bệnh trứng cá trên mô hình động vật thực nghiệm;
3. Đánh giá tác dụng điều trị và tác dụng không mong muốn của dịch chiết từ rễ cây Ba bét lùn (*Mallotus nanus* Airy Shaw) theo đường bôi trên da bệnh nhân trứng cá thể thông thường.

Ý nghĩa thực tiễn và đóng góp mới của luận án

- Lần đầu tiên rễ cây BBL được nghiên cứu về độc tính, tác dụng sinh học và thử nghiệm trên người.
- Mô hình gây trứng cá trên động vật thí nghiệm lần đầu tiên được triển khai ở Việt Nam.
- Lần đầu tiên thử tác dụng dịch chiết rễ cây BBL trên vi khuẩn *P.acnes* từ chủng chuẩn và 02 chủng phân lập từ bệnh nhân.
- Qua thực nghiệm và lâm sàng, dịch chiết rễ cây BBL có tác dụng chống viêm, kháng khuẩn, tiêu sừng.
- Sử dụng dịch chiết rễ cây BBL trên bệnh nhân có tác dụng làm sạch tổn thương trứng cá viêm và không viêm sau 12 tuần điều trị.

- Một phát hiện rất mới ở nghiên cứu này đó là những bệnh nhân gặp biến cố tác dụng không mong muốn càng nghiêm trọng thì khả năng sạch mụn, hết sẹo thâm, đẩy sẹo lõm càng nhanh và da có một diện mạo mới: sáng, mịn, đều màu và săn chắc.

Cấu trúc của Luận án

Luận án được chia làm 04 chương.

- Chương 1. Tổng quan (31 trang)
- Chương 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu (26 trang)
- Chương 3. Kết quả (32 trang)
- Chương 4. Bàn luận (40 trang)

Luận án có 27 bảng; 11 biểu đồ; 32 ảnh; và 170 tài liệu tham khảo (Tiếng Việt: 26; Tiếng Anh: 111; Tiếng Trung: 33)

Phần B. NỘI DUNG LUẬN ÁN

Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1 Bệnh trứng cá theo YHHD

1.1.1 Định nghĩa

Theo A.M. Layton, trứng cá là một bệnh viêm mạn tính ở đơn vị nang lông tuyến bã, được đặc trưng bởi tăng tiết chất bã, hình thành comedon (trứng cá đóng và mở), sần hồng ban và mụn mủ; trong trường hợp trứng cá trầm trọng hơn có nang và mụn mủ sâu; trong nhiều trường hợp có thể tạo sẹo. Bốn yếu tố quan trọng có liên quan đến sinh bệnh học: (i) tăng sản xuất bã nhờn, (ii) sừng hóa ống dẫn nang lông tuyến bã, (iii) cư trú bất thường của vi khuẩn *P.acnes* và (iv) viêm.

1.1.2 Nguyên nhân cơ chế bệnh sinh

1.1.2.1 Các yếu tố di truyền

1.1.2.2 Tăng tiết chất bã và vai trò của chất bã

1.1.2.3 Sừng hóa cổ nang lông tuyến bã

1.1.2.4 Đáp ứng viêm

1.1.2.5 Vai trò của *Propionibacterium acnes*

1.1.2.6 Ảnh hưởng của hormon

1.1.2.7 Các yếu tố ăn uống

1.1.2.8 Các yếu tố liên quan đến bệnh trứng cá

Tuổi, giới, yếu tố gia đình, yếu tố thời tiết, chủng tộc, yếu tố nghề nghiệp, yếu tố stress, các bệnh nội tiết, thuốc, một số nguyên nhân tại chỗ.

1.1.3 Hình thái lâm sàng của bệnh trứng cá thông thường

1.1.3.1 Các thương tổn không viêm

Vì nhân trứng cá, nhân kín (đầu trắng, đen)

1.1.3.2 Các thương tổn viêm

Sẩn viêm đỏ, mụn mủ, cục, nang

1.1.2.3 Vị trí thương tổn

Vị trí các thương tổn thường biểu hiện ở mặt, vai, ngực và lưng.

1.1.4 Phân loại mức độ bệnh trứng cá thông thường trên lâm sàng

1.1.4.1 Phân loại theo Cunliffe và cộng sự (2003)

1.1.4.2 Phân loại theo Hayashi và cs (2008)

1.1.4.3 Phân loại theo (Current Measures for the Evaluation of Acne Severity 2008)

1.1.5 Điều trị

1.1.5.1 Điều trị tại chỗ: Acid retinoic (vitamin A acid), Benzoyl peroxid, kháng sinh, Azelaic acid (C9-dicarboxylic acid), Salicylic acid, Dapsone

1.1.5.2. Điều trị toàn thân

Kháng sinh, Hormon, Isotretinoin (13-cis-retinoid acid)

1.2 Bệnh trứng cá theo YHCT

1.2.1. Bệnh trứng cá trong các tác phẩm kinh điển

1.2.2. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh

1.2.3 Biện chứng luận trị

1.2.4. Các phương pháp điều trị

1.2.4.1 Các bài thuốc điều trị

Thuốc uống, thuốc rửa, thuốc đắp, thuốc phun sương

1.2.4.2 Phương pháp không dùng thuốc

Châm cứu, hòa châm, nhĩ châm

1.3 Một số mô hình gây trứng cá trên động vật thí nghiệm

1.3.1 Mô hình tai thỏ

1.3.2 Mô hình tai chuột

1.4 Tình hình nghiên cứu điều trị trứng cá thông thường ở Việt Nam và trên thế giới

1.4.2 Nghiên cứu thảo dược điều trị bệnh trứng cá thông thường

1.5 Tổng quan nghiên cứu về cây Ba bét lùn (*Mallotus nanus*)

1.5.1 Đặc điểm cây Ba bét lùn

- Cây Ba bét lùn có tên khoa học là *Mallotus nanus* (MN), họ thầu dầu (Euphorbiaceae).

- Hai dẫn xuất mới 2-C-beta-D-glucopyranosyl benzoic acid gọi tên là: *mallonosid A* (1) và B (2) được phân lập từ lá của *Mallotus nanus* cùng với năm flavonoid đã biết đến: *kaempferin* (3), *juglanin* (4), *quercitrin* (5), *myricitrin* (6) và *rhoifolin* (7).

1.5.2 Thành phần hoá học

5 chất sạch đã được phân lập: (1) Palmitic acid, (2) Stigmast-4-en-3-one, (3) β -Sitosterol, (4) Mallonoside A, (5) Daucosterol

1.5.3 Nghiên cứu hoạt tính sinh học

1.5.3.1 Hoạt tính kháng viêm

1.5.3.2 Hoạt tính chống oxy hóa

1.5.3.3 Hoạt tính gây độc tế bào

1.5.3.4 Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định

Chương 2 . ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Chất liệu nghiên cứu

2.1.1 Chất liệu nghiên cứu trên thực nghiệm

Rễ cây Ba bét lùn (BBL) sấy khô ở nhiệt độ 55-60°C, xay bột, chiết ethanol 96% theo phương pháp chiết Soxhlet, cô cách thủy, cất quay (chân không) loại hết dung môi thu được cặn chiết toàn phần của rễ BBL.

Cặn chiết rễ BBL: 1 gam tương đương 22,7g dược liệu.

2.1.1.2 Chất liệu nghiên cứu dịch chiết BBL trên thực nghiệm

Dịch chiết rễ BBL ở các nồng độ: 0,2mg/mL, 2,2mg/mL, 4,4mg/mL, 8,8mg/mL, 17,6mg/mL.

Liều 0,05g dược liệu/0,5mL (BBL 10%): dịch chiết BBL 4,4mg/mL;

Liều 0,1g dược liệu/0,5mL (BBL 20%): dịch chiết BBL 8,8mg/mL;

Liều 0,2g dược liệu/0,5mL (BBL 40%): dịch chiết BBL 17,6mg/mL.

Hóa chất, dụng cụ phục vụ nghiên cứu đầy đủ

2.1.2 Chất liệu nghiên cứu trên lâm sàng

- Dịch chiết rễ BBL10% (0,05g dược liệu/0,5mL) được đặt tên Tiêu mụn được bào chế và kiểm nghiệm đạt tiêu chuẩn cơ sở

2.2 Đối tượng nghiên cứu

2.2.1 Đối tượng nghiên cứu trên thực nghiệm

Chuột nhắt trắng, chủng Swiss, thỏ trắng chủng Newzealand White, chuột cống trắng, trưởng thành, giống đực, chủng Wistar, chủng chuẩn *P. acnes* ATCC 6919 và 02 chủng *P. acnes* phân lập từ bệnh nhân trứng cá.

2.2.2 Đối tượng nghiên cứu trên lâm sàng

112 bệnh nhân được chẩn đoán bệnh trứng cá thông thường

Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân theo YHHD.

Theo tan 2008 (Current Measures for the Evaluation of Acne Severity).

Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân theo YHCT:

Thể phé kinh phong nhiệt và thể tỷ vị thấp nhiệt.

Tiêu chuẩn loại trừ bệnh nhân:

Bệnh nhân đang sử dụng: chất tẩy rửa trong tuần trước, acids alpha-hydroxy, retinoid tại chỗ, kháng sinh, steroid tại chỗ hoặc toàn thân trong 4 tuần trước đó, estrogen 3 tháng trước, tretinoid trong 6 tháng trước đó.

2.3 Phương pháp nghiên cứu

2.3.1 Phương pháp nghiên cứu trên thực nghiệm

2.3.1.1 Độc tính cấp

Xác định LD50 của dịch chiết từ rễ cây Ba bét lùn theo đường tiêm dưới da trên chuột nhắt trắng theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon

2.3.1.2 Kích ứng da

Theo hướng dẫn của OECD 404 và ISO 10993-10

03 thỏ NC cho mỗi nồng độ thử x 2 nồng độ thử.

- Thỏ được cạo lông ở phần lưng và hông trên diện tích 10 cm x 15cm ở cả 2 bên cột sống, bôi thuốc và bôi dung môi 0,5mL trên da kích thước (2,5 cm x 2,5 cm), rửa sạch thuốc và dung môi sau 4 giờ

- Đánh giá và tính điểm các chỉ số về ban đỏ (erythema), phù nề (oedema) từ 0-4 tại thời điểm 1 giờ, 24, 48, 72 giờ sau khi loại bỏ mẫu thử.

2.3.1.3 Kích ứng mắt

Theo hướng dẫn OECD 405.

Mẫu thuốc thử được pha với nồng độ nồng độ 0,05 g dược liệu/0,5 mL. Số lượng thỏ: 03 thỏ (đánh số từ 1 đến 3). Nhỏ 0,1 mL mẫu thuốc thử vào mắt phải thỏ số 1, mắt trái không nhỏ gì. Đánh giá tại các thời điểm 1h, 24h, 48h, 72h sau khi nhỏ thuốc. Thời gian tối đa quan sát là 21 ngày.

2.3.1.4 Độc tính bán trường diễn

Theo hướng dẫn của OECD 411 .

Thỏ được chia làm 3 lô, mỗi lô 10 con nghiên cứu trong 90 ngày: Lô chứng: Bôi cồn 20% ethanol; Lô trị 1: Bôi dịch chiết BBL liều 0,25 mL/kg/ngày; Lô trị 2: Bôi dịch chiết BBL liều 0,75 mL/kg/ngày (gấp 3 lần lô trị 1) trên 20 % diện tích da thỏ. Theo dõi thể trọng, chức phận tạo máu, chức năng gan, thận và cấu trúc vi thể gan, thận và da thỏ.

2.3.1.5 Hoạt tính kháng *P. acnes*

- Kỹ thuật lấy bệnh phẩm:
- Kỹ thuật nuôi cấy, phân lập chủng *P. acnes*.
- Kỹ thuật định danh chủng *P. acnes*.
- Kỹ thuật xác định mức độ nhạy cảm của chủng *P. acnes*.

2.3.1.6 Tác dụng của dịch chiết BBL trên trên động vật thí nghiệm

- Mô hình gây viêm kiểu TC bằng *P.acnes* trên vành tai chuột cống đực
Theo mô hình NC của Pandey Chetana và cộng sự.

Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên ra thành 6 lô mỗi lô 8 chuột.

- Lô 1 (Chứng trắng): Tiêm PBS 5%
- Lô 2 (Chứng dương): *P. acnes* bôi tetracyclin
- Lô 3 (Mô hình): *P. acnes* bôi dung môi cồn
- Lô 4 *P. acnes* bôi BBL 10%
- Lô 5 *P. acnes* bôi BBL 20%
- Lô 6 *P. acnes* bôi BBL 40%

Tiêm dưới da vành tai chuột cống trắng *P. acnes* nồng độ 10^8 vi khuẩn/mL, tiêm với thể tích 20 μ L (tai phải).

Đo độ dày tai chuột trong 2 tuần đầu, sau đó đo cách ngày đến khi độ dày tai chuột trở về bình thường. Làm giải phẫu bệnh vi thể.

Mô hình gây trứng cá bằng acid oleic trên ống tai ngoài thỏ

Theo mô hình của Zhang Xiao-dong và cộng sự.

Thỏ đực được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 8 con.

- Lô 1 (mô hình): bôi ống tai ngoài thỏ acid oleic 50% hàng ngày trong 3 tuần, sau đó bôi dung môi cồn 20% trong 2 tuần.

- Lô 2 (chứng dương 1: Locacid 0,05%): bôi ống tai ngoài thỏ hàng ngày acid oleic 50% trong 3 tuần, sau đó bôi Locacid 0,05% liên tục trong 2 tuần.

- Lô 3 (chứng dương 2: Oxy-5): bôi ống tai ngoài thô hàng ngày acid oleic 50% trong 3 tuần, sau đó bôi Oxy-5 liên tục trong 2 tuần.

- Lô 4 (thuốc thử mẫu 1): bôi ống tai ngoài thô hàng ngày acid oleic 50% trong 3 tuần, sau đó bôi dịch chiết cây BBL liên tục trong 2 tuần.

Trong suốt quá trình nghiên cứu, quan sát biến đổi lỗ chân lông ống tai ngoài. Nội soi và chụp ống tai ngoài thô vào các thời điểm: trước khi bôi thuốc, kết thúc 3 tuần bôi acid oleic 50%, và sau khi kết thúc 2 tuần bôi thuốc.

2.3.2 Phương pháp nghiên cứu trên lâm sàng

Phương pháp thử nghiệm lâm sàng so sánh kết quả trước và sau điều trị trong 112 bệnh nhân tham gia nghiên cứu.

Phác đồ điều trị

Dịch chiết từ rễ cây Ba bét lùn liều 0,05g dược liệu/0,5mL(BBL10%)

Dùng tăm bông bôi 20 giọt/ngày (tương đương 1mL) trên da mặt tránh vùng xung quanh ổ mắt. Bôi ngày 1 lần vào 21-22h.

Tiến hành nghiên cứu

- Phỏng vấn theo một mẫu bệnh án thống nhất.

- Khám lâm sàng đánh giá mức độ nặng nhẹ của bệnh. Sau đó tiến hành điều trị theo phác đồ điều trị

Đánh giá kết quả điều trị và tác dụng không mong muốn

So sánh số lượng các thương tổn không viêm và viêm trước và sau điều trị. Đánh giá mức độ sạch tổn thương, nhẹ và trung bình theo Tan 2008. Đánh giá tác dụng không mong muốn: đỏ da, khô da, bong vảy và ngứa

2.4 Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu đã được sự chấp thuận của Hội đồng Đạo đức trường Đại Học Y Hà Nội tại quyết định Chứng nhận số 68B/HĐHYHN, ngày 25/3/2017

2.5 Kỹ thuật phân tích số liệu: Phân mềm xử lý số liệu SPSS 18.0

Chương 3. KẾT QUẢ

3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp, kích ứng da, mắt và độc tính bán trường diễn trên thực nghiệm

3.1.1. Độc tính cấp

LD₅₀ của dịch chiết cây BBL là:

LD₅₀ = 11,148 (12,753 – 7,938) g dược liệu/kg

TI = LD₅₀/ED₅₀

TI = [(11,148/0,2) x 50]:12 = 232,25

3.1.2. Gây kích ứng da

Bảng 3.1. Chỉ số kích ứng (PII) trên thỏ gây kích ứng da của mẫu nồng độ 0,05g dược liệu/ 0,5 mL

Thỏ	PII
Thỏ số 1	0,67
Thỏ số 2	1,33
Thỏ số 3	0,33

Từ kết quả ở bảng 3.1, tính được chỉ số kích ứng PII của mẫu 2 nồng độ 0,05 g dược liệu/ 0,5 mL là: $PII = (0,67 + 1,33 + 0,33)/3 = 0,78$.

Dựa vào bảng phân loại kích ứng da theo PII, nồng độ 0,05 g dược liệu/0,5 mL có gây kích ứng da mức độ nhẹ.

Bảng 3.2. Chỉ số kích ứng (PII) trên thỏ gây kích ứng da của mẫu 2 nồng độ 0,2 g dược liệu/ 0,5 mL

Thỏ	PII
Thỏ số 4	3,00
Thỏ số 5	3,00
Thỏ số 6	3,33

Từ kết quả ở Bảng 3.2 tính được chỉ số kích ứng PII của mẫu nồng độ 0,2 g dược liệu/ 0,5 mL là: $PII = (3 + 3 + 3,33)/3 = 3,11$.

Dựa vào bảng phân loại kích ứng da theo PII, NĐ2 (0,2 g dược liệu/ 0,5 mL) đã gây kích ứng da mức độ vừa.

3.1.3 Gây kích ứng mắt

Khi thực hiện kích ứng mắt mẫu 2 nồng độ 0,05 g dược liệu/0,5 mL trên thỏ số 1, không quan sát thấy hiện tượng mờ đục giác mạc, tổn thương mống mắt, tổn thương đồ, phù nề kết mạc ở các thời điểm 1h, 24h, 48h và 72h sau khi nhỏ thuốc thử.

- Tiếp tục tiến hành đồng loạt trên thỏ số 2 và thỏ số 3 cũng thu được kết quả tương tự: không quan sát thấy hiện tượng tổn thương giác mạc, mống mắt, kết mạc ở các thời điểm 1h, 24h, 48h và 72h sau khi nhỏ thuốc thử.

3.1.4 Độc tính bán trường diễn

3.1.4.1 Tình trạng chung

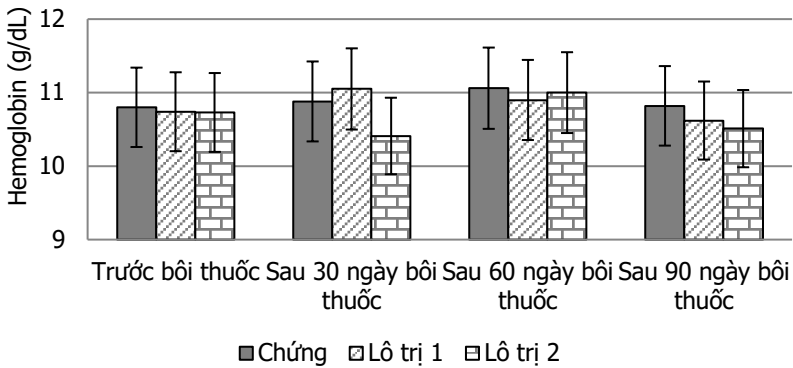
Trong thời gian thí nghiệm, thỏ ở cả 3 lô hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, mắt sáng, lông mượt, ăn uống tốt, phân khô. Trọng lượng thỏ đều tăng và không có sự khác biệt giữa lô chứng và lô bôi dịch chiết rễ cây ba bét lùn.

3.1.4.2 Đánh giá chức năng tạo máu

Bảng 3.3 Ảnh hưởng của dịch chiết rễ ba bét lùn đến số lượng hồng cầu trong máu thỏ

Thời gian	Số lượng hồng cầu (T/l) $\bar{X} \pm SD$			p (t-test Student)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước bôi thuốc	4,46 ± 0,38	4,31 ± 0,45	4,38 ± 0,57	> 0,05
Sau 30 ngày bôi thuốc	4,61 ± 0,38	4,51 ± 0,26	4,32 ± 0,50	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 60 ngày bôi thuốc	4,45 ± 0,30	4,59 ± 0,30	4,23 ± 0,42	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 90 ngày bôi thuốc	4,49 ± 0,81	4,17 ± 0,28	4,26 ± 0,37	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Số lượng hồng cầu ở cả 2 lô trị không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng ($p > 0,05$).



Biểu đồ 3.1. Ảnh hưởng của dịch chiết rễ ba bét lùn đến hemoglobin

Kết quả ở Biểu đồ 3.1 cho thấy: hàm lượng hemoglobin ở cả 2 lô trị đều không có sự khác biệt với lô chứng ($p > 0,05$).

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của dịch chiết rễ BBL đến số lượng bạch cầu trong máu thỏ

Thời gian	Số lượng bạch cầu (G/l) $\bar{X} \pm SD$	
-----------	--	--

	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	p (t- test Student)
Trước bôi thuốc	4,95 ± 0,89	4,70 ± 1,26	4,88 ± 0,83	> 0,05
Sau 30 ngày bôi thuốc	5,22 ± 1,37	5,00 ± 2,08	4,82 ± 1,39	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 60 ngày bôi thuốc	5,19 ± 1,32	4,93 ± 0,82	5,20 ± 1,15	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 90 ngày bôi thuốc	4,93 ± 0,81	4,81 ± 1,16	5,20 ± 1,26	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

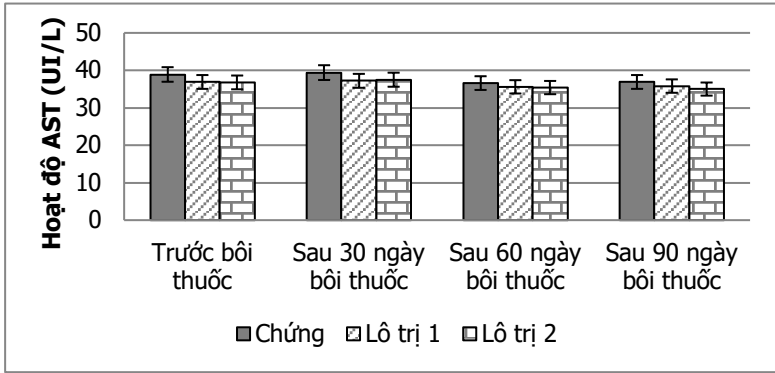
Bôi dịch chiết rễ BBL, số lượng bạch cầu ở cả 2 lô trị đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng ($p > 0,05$).

Bảng 3.5 Ảnh hưởng của dịch chiết rễ BBL đến số lượng tiểu cầu trong máu thỏ

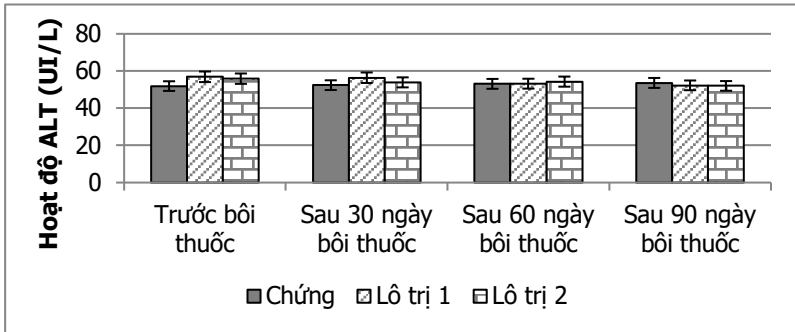
Thời gian	Số lượng tiểu cầu (G/l) $\bar{X} \pm SD$			p (t- test Student)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước bôi thuốc	318,80 ± 53,23	317,50 ± 71,92	317,33 ± 60,81	> 0,05
Sau 30 ngày bôi thuốc	324,80 ± 58,62	313,60 ± 53,91	315,10 ± 39,68	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 60 ngày bôi thuốc	317,30 ± 77,42	314,50 ± 40,30	313,40 ± 31,70	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 90 ngày bôi thuốc	310,70 ± 84,79	322,20 ± 49,92	312,70 ± 44,38	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Số lượng tiểu cầu ở cả 2 lô trị đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng (bôi tá dược) và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi bôi thuốc thử ($p > 0,05$).

3.1.4.3. Đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan



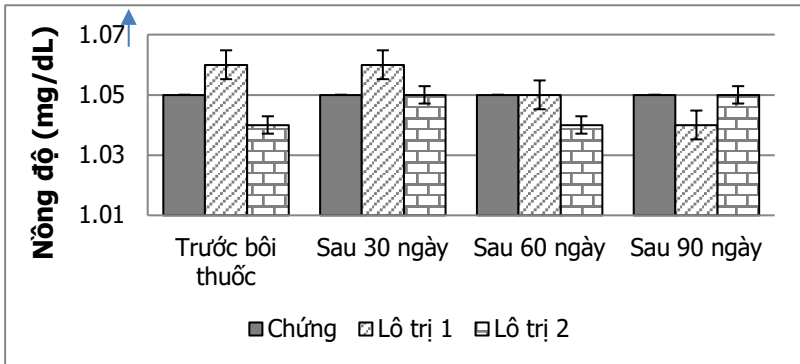
Biểu đồ 3.3. Ảnh hưởng của dịch chiết rễ BBL đến hoạt độ AST



Biểu đồ 3.4. Ảnh hưởng dịch chiết rễ BBL đến hoạt độ ALT

Hoạt độ AST, ALT trong máu chuột ở cả 2 lô trị đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng ($p > 0,05$).

3.1.4.4. Đánh giá chức năng thận



Biểu đồ 3.5. Ảnh hưởng của dịch chiết rễ BBL đến nồng độ creatinin

Dịch chiết	Nồng độ dịch chiết (mg/mL)	Thạch máu	Chocolate	KK	GC
BBL	0,2	Không mọc	Không mọc	Không mọc	Không mọc
BBL	2,2	Không mọc	Không mọc	Không mọc	Không mọc
BBL	4,4	Không mọc	Không mọc	Không mọc	Không mọc
BBL	8,8	Không mọc	Không mọc	Không mọc	Không mọc
BBL	17,6	Không mọc	Không mọc	Không mọc	Không mọc
BBL+P. acnes	0,2	Mọc	Mọc	Mọc	Mọc
BBL+P. acnes	2,2	Mọc	Mọc	Mọc	Mọc
BBL +P.acnes	4,4	Mọc	Mọc	Mọc	Mọc
BBL+P. acnes	8,8	Không mọc	Không mọc	Không mọc	Không mọc
BBL+P. acnes	17,6	Không mọc	Không mọc	Không mọc	Không mọc
Cồn 20% +P. acnes		Mọc	Mọc	Mọc	Mọc

Bôi dịch chiết rễ BBL, ở cả lô trị 1 và lô trị 2 nồng độ creatinin trong máu thỏ không có sự thay đổi khác biệt ($p > 0,05$).

3.1.4.5 Hình thái đại thể, vi thể gan thận và da thỏ

Trên mô bệnh học hình ảnh đại thể, vi thể gan, thận và da thỏ đều bình thường trước và sau điều trị 90 ngày.

3.2. Tác dụng kháng *P. acnes* và tác dụng điều trị bệnh trứng cá trên mô hình động vật thực nghiệm

3.2.1. Mức độ nhạy cảm của *P. acnes* với dịch chiết từ rễ BBL.

Bảng 3.6 Mức độ nhạy cảm của P. acnes ATCC với dịch chiết rễ BBL

Dịch chiết rễ BBL ở nồng độ 8,8 mg/mL có tác dụng ức chế chủng vi khuẩn *P. acnes* ATCC.

3.2.1.2. Mức độ nhạy cảm của *P. acnes* phân lập từ bệnh nhân với dịch chiết từ rễ BBL.

Bảng 3.7 Mức độ nhạy cảm của P. acnes phân lập từ bệnh nhân với dịch chiết rễ BBL

Dịch chiết	Nồng độ dịch chiết	Thạch máu	Chocolate	KK	GC
BBL 10% (0,05g được liệu/0,5ml)	(4,4 mg/mL)	Không mọc	Không mọc	Không mọc	Không mọc
BBL 20%(0,1g được liệu/0,5ml)	(8,8mg/mL)	Không mọc	Không mọc	Không mọc	Không mọc
BBL 10% + <i>P.acnes</i>	(4,4 mg/mL)	Không mọc	Không mọc	Không mọc	Không mọc
BBL 20% + <i>P.acnes</i>	(8,8mg/mL)	Không mọc	Không mọc	Không mọc	Không mọc

Dịch chiết rễ BBL 10%: nồng độ 4,4 mg/mL (0,05g được liệu/0,5ml) và BBL 20%: 8,8mg/mL (0,1g được liệu/0,5ml) có tác dụng ức chế sự phát triển của *P. acnes* phân lập từ bệnh nhân.

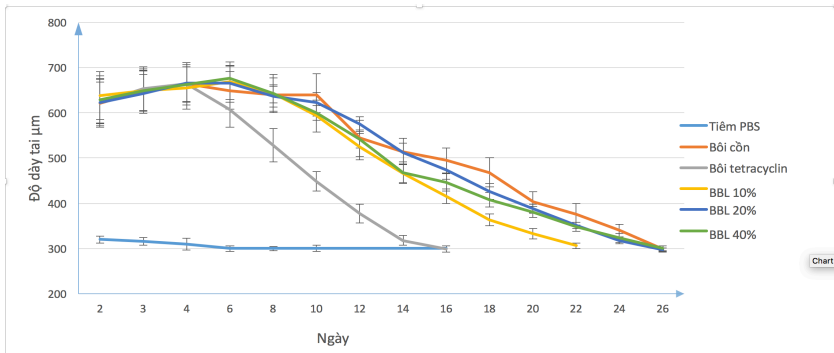
3.2.2 Tác dụng của dịch chiết rễ BBL trên mô hình gây viêm vành tai chuột cống trắng bằng *P. acnes*

Bảng 3.8. Độ dày tai chuột sau 48h gây viêm

Lô n=48	Trước nghiên cứu $\bar{X} \pm SD$	Sau 48h $\bar{X} \pm SD$	P sau-trước
Nhóm Tiêm dung môi PBS	295,34 ± 15	320,24 ± 26	> 0,05
Nhóm Tiêm <i>P.acnes</i>	293,21 ± 13 p 2-1 > 0,05	644,12 ± 95 p 2-1 < 0,001	< 0,001

Dựa vào bảng trên cho thấy độ dày tai sau 48h của nhóm tiêm vi khuẩn *P.acnes* cao gấp 2,2 lần so với trước khi tiêm ($p < 0,001$). Trong khi đó độ dày tai sau 48h của nhóm tiêm PBS không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với trước khi tiêm ($p > 0,05$).

3.2.2.3. Tác dụng của dịch chiết rễ cây BBL lên tình trạng viêm tai chuột cống trắng



Biểu đồ 3.6. Thay đổi độ dày tai chuột sau 26 ngày bôi dịch chiết BBL

Lô 1 (chứng sinh học tiêm PBS) độ dày vành tai chuột không thay đổi giữa các ngày ($p > 0,05$). Lô 2 (mô hình) bôi cồn hàng ngày, tai chuột trở về bình thường sau 26 ngày. Trong khi lô 3 (chứng dương) bôi tetracyclin, độ dày tai chuột trở về bình thường từ ngày thứ 16. Lô bôi BBL 10%, độ dày tai chuột trở về bình thường từ ngày thứ 22. Trong khi độ dày tai chuột lô bôi BBL 20% và 40%, tai chuột trở về bình thường sau 26 ngày.

3.2.3. Tác dụng của dịch chiết rễ Ba bét lùn trên mô hình trứng cá bằng acid oleic trên ống tai ngoài thỏ

Bảng 3.9 Tổng hợp kết quả giải phẫu bệnh sau 2 tuần bôi thuốc

Lô	Giải phẫu bệnh tai thỏ (bên phải)
Lô 1: Mô hình	Sừng hóa nhẹ cổ tuyến bã, tăng rõ rệt kích thước tuyến bã. Tổn thương trứng cá độ 1
Lô 2 : Bôi cồn	Sừng hóa cổ tuyến bã, tăng kích thước tuyến bã. Tổn thương trứng cá độ 1
Lô 3: Locacid 0,05%	Nang lông và tuyến bã bình thường
Lô 4: Oxy-5	Nang lông và tuyến bã bình thường
Lô 5: BBL 10%	Nang lông và tuyến bã trong giới hạn bình thường

3.3. Đánh giá tác dụng điều trị và tác dụng không mong muốn của dịch chiết từ rễ BBL theo đường bôi trên da bệnh nhân trứng cá thể thông thường.

3.3.1. Đặc điểm bệnh nhân nghiên cứu

3.3.2. Tác dụng điều trị của dịch chiết từ rễ cây BBL theo đường bôi trên da bệnh nhân trứng cá thể thông thường

Bảng 3.10 Sự thay đổi số lượng tổn thương sau 4,8 và 12 tuần điều trị

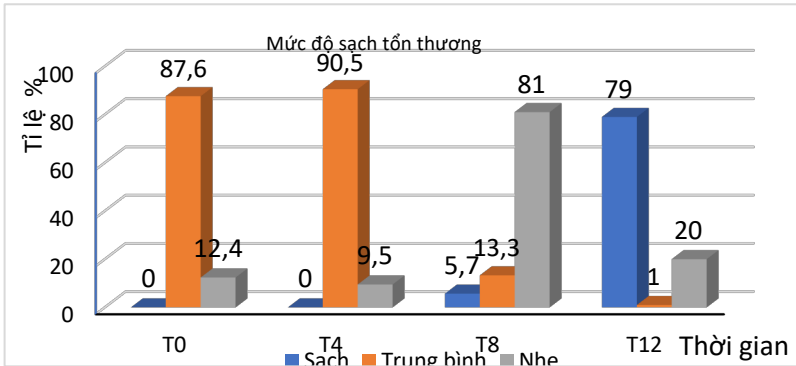
Thời gian	T0 $\bar{X} \pm SD$	T4 $\bar{X} \pm SD$	T8 $\bar{X} \pm SD$	T12 $\bar{X} \pm SD$
Sẩn không viêm	57,17±19,39	65,03±26,13	28,94±21,15	3,72±9,45
Sẩn viêm	18,17±13,22	14,57 ± 12,96	5,77± 8,73	0,85 ± 3,81
Tổng số tổn thương	75,61 ± 27,25	79,6±33,19	34,71±26,79	4,57±12,81
n	109	105	105	105

Số lượng trung bình đếm được sẩn đầu đen trắng tăng lên từ 57,17±19,39 ở lần khám ban đầu đến 65,03±26,13 ở tuần thứ 4 và sau đó giảm

nhanh đến $28,94 \pm 21,15$ ở tuần thứ 8 và gần như hết tổn thương $3,72 \pm 9,45$ ở tuần thứ 12.

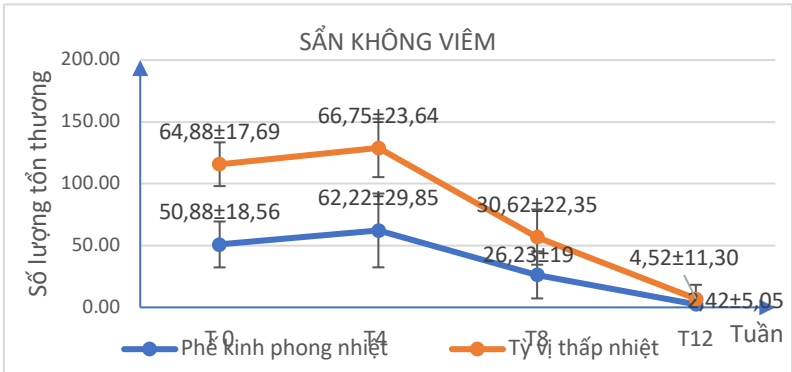
Số lượng trung bình đếm được sẩn viêm (sẩn đỏ và mụn mủ) giảm dần từ $18,17 \pm 13,22$ ở lần khám ban đầu đến $14,57 \pm 12,96$ ở tuần thứ 4 điều trị và sau đó giảm nhanh đến $5,77 \pm 8,73$ ở tuần thứ 8 và gần như hết tổn thương $0,85 \pm 3,81$ ở tuần thứ 12.

Số lượng tổn thương trung bình đếm được cả sẩn viêm và sẩn không viêm có xu hướng tăng nhẹ trong 4 tuần đầu điều trị $75,61 \pm 27,25$ ở lần khám ban đầu đến $79,6 \pm 33,19$ ở tuần thứ 4 điều trị và sau đó giảm nhanh đến $34,71 \pm 26,79$ ở tuần thứ 8 và còn rất ít tổn thương $4,57 \pm 12,81$ ở tuần thứ 12.



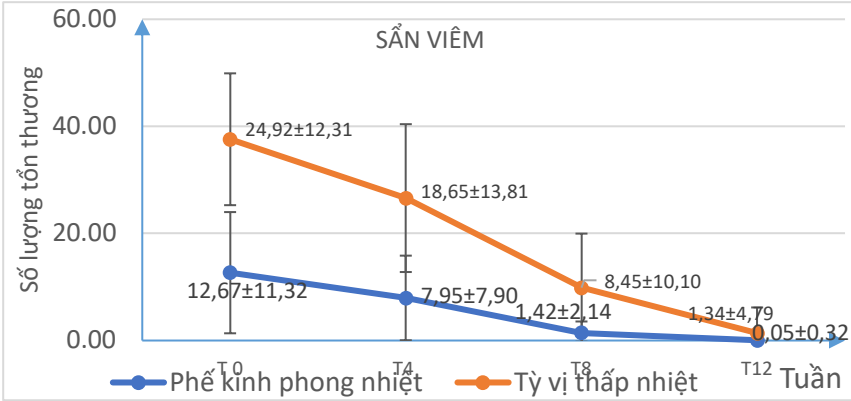
Biểu đồ 3.7 Mức độ sạch tổn thương theo (Current Measures for the Evaluation of Acne Severity 2008)

Theo thang điểm của Current Measures for the Evaluation of Acne Severity năm 2008, mức độ sạch mụn chiếm tỷ lệ 79%, 20% bệnh nhân ở mức độ nhẹ (còn một vài tổn thương) chỉ có 1% là ở mức độ trung bình (vừa).



Biểu đồ 3.8 Mối tương quan giữa sẩn đầu đen trắng với thể phế kinh phong nhiệt và thể tỷ lệ thấp nhiệt

Số lượng tổn thương không viêm trong lần thăm khám đầu tiên ở thể tý vị thấp nhiệt nhiều hơn thể phế kinh phong nhiệt và cả hai thể đều có xu hướng tăng sau 4 tuần điều trị số lượng này giảm nhanh ở tuần 8 và (26,23±19) và đến tuần thứ 12 thì số lượng tổn thương còn rất ít



Biểu đồ 3.9 Mỗi tương quan giữa sẩn viêm với thể phế kinh phong nhiệt và thể tý vị thấp nhiệt

Số lượng tổn thương viêm trong lần thăm khám đầu tiên ở thể tý vị thấp nhiệt nhiều hơn gần gấp 2 lần thể phế kinh phong nhiệt và số lượng tổn thương viêm cả hai thể đều có xu hướng giảm sau 4 tuần điều trị và số lượng này giảm nhanh ở tuần 8 và đến tuần thứ 12 thì tổn thương viêm còn rất ít.

3.3.3. Tác dụng không mong muốn của dịch chiết từ rễ cây BBL theo đường bôi trên da bệnh nhân trứng cá thể thông thường

Bảng 3.11 Đánh giá mức độ đỏ da, khô da, bong vảy da, chàm chích và ngứa

Thời gian	T 0	T4	T8	T12
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
Đỏ da	0,19±0,28	0,83±0,53	0,61±0,52	0,08±0,22
Khô da	0,17±0,26	0,97±0,44	0,95±0,54	0,32±0,39
Bong vảy	0,16±0,26	0,96±0,48	0,94±0,53	0,18±0,35
Bong rát/ Chàm chích	0,12±0,23	0,46±0,54	0,25±0,41	0,01±0,10
Ngứa	0,1±0,22	0,66±0,49	0,45±0,55	0,01±0,10
n	109	105	105	105

Bảng 3.11 Bệnh nhân có hiện tượng đỏ da, khô da, bong vảy ở mức độ cao nhất là ở tuần thứ 4, hiện tượng này duy trì đến tuần thứ 8 và giảm dần đến tuần thứ 12 thì hầu hết bệnh nhân chỉ còn phản ứng nhẹ.

Hiện tượng bông rất đỉnh điểm ở tuần thứ 4 và ở mức độ nhẹ ($0,46 \pm 0,54$), hiện tượng này giảm nhanh đến tuần thứ 12 thì hầu hết bệnh nhân không còn cảm giác bông rất ($0,01 \pm 0,10$).

Tất cả bệnh nhân đều có phản ứng ngứa ở mức độ nhẹ và trung bình. Ngứa nhiều nhất xảy ra ở tuần thứ 4 ($0,66 \pm 0,49$) sau đó giảm dần ở tuần thứ 8 ($0,45 \pm 0,55$) và giảm nhanh đến tuần thứ 12 ($0,01 \pm 0,10$) thì hầu hết bệnh nhân hết ngứa.

Chương 4. BÀN LUẬN

4.1 Tính an toàn của BBL

4.1.1 Độc tính cấp

Xác định được LD50 = 11,148 (12,753 – 7,938) gam dược liệu/kg, và chỉ số điều trị của mẫu thuốc thử là 232,25. Theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới về thuốc có nguồn gốc dược liệu với chỉ số TI > 100, đây là dược liệu ít có độc tính cấp.

4.1.2 Khả năng kích ứng da

Với mẫu thuốc thử nồng độ 1: 0,05g dược liệu/0,5 mL (BBL10%), chỉ số kích ứng trên da thỏ PII là 0,78 (bảng 3.1) tương ứng với khả năng gây kích ứng da mức độ nhẹ.

Với mẫu thuốc thử nồng độ 2, ở các thời điểm 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ, cả 3 thỏ đều có hiện tượng ban đỏ rất rõ, rất dễ nhận thấy. Thỏ số 4,5 và 6, ban đỏ còn lan rộng ra ngoài vùng tổn thương (bảng 3.2). Không quan sát thấy hiện tượng phù nề trên da ở tất cả các thỏ. Chỉ số kích ứng PII ở nồng độ 0,2 g dược liệu/ 0,5 mL là: 3,11 gây kích ứng da mức độ vừa

Điều này cho thấy mức độ kích ứng da của dịch chiết rễ BBL có thể là hiện tượng phụ thuộc liều, liều càng cao mức độ kích ứng càng nặng. Như vậy, khi dùng trên người nên bắt đầu từ nồng độ 1 (0,05 gam dược liệu/0,5 mL).

4.1.3 Khả năng kích ứng mắt

Dịch chiết từ rễ cây BBL khi dùng trên lâm sàng để điều trị trứng cá vùng mặt trong 3 tháng vì vậy cần phải đảm bảo thuốc này không gây kích ứng mắt.

Khả năng gây kích ứng mắt từ dịch chiết rễ BBL được tiến hành bằng cách nhỏ 0,1 mL mẫu thuốc thử vào túi kết mạc mắt phải của thỏ, mắt trái không nhỏ gì. Đánh giá các tổn thương giác mạc, mống mắt và kết mạc tại các thời điểm 1 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ sau khi nhỏ thuốc. Kết quả cho thấy, ở tất cả các thời điểm quan sát đều không nhận thấy các tổn thương ở giác mạc, mống mắt và kết mạc (bảng 3.6). Theo hướng dẫn của OECD, có thể thấy, dịch chiết rễ BBL 10% không gây kích ứng mắt thỏ.

4.1.4. Độc tính bán trường diễn

Theo WHO, tình trạng chung, trọng lượng cơ thể và các chỉ số huyết học là những xét nghiệm bắt buộc khi đánh giá độc tính của thuốc thử. Máu là một tổ chức rất quan trọng vì máu liên quan mật thiết với mọi bộ phận, cơ quan trong cơ thể. Về mặt bệnh lý, máu chịu ảnh hưởng của tất cả các tổ chức do nhưng đồng thời cũng bị ảnh hưởng và phản ánh tình trạng riêng của cơ quan tạo máu. Nếu thuốc có ảnh hưởng đến cơ quan tạo máu thì trước hết các thành phần của máu sẽ bị thay đổi, đặc biệt thường làm giảm số lượng bạch cầu. Các chỉ số trên của thỏ ở cả hai lô trị đều thay đổi không có ý nghĩa so với trước khi dùng thuốc và so với lô chứng ở cùng thời điểm. Như vậy dịch chiết Ba bet lùn không thể hiện độc tính lên tình trạng chung và trên cơ quan tạo máu (Bảng 3.3, 3.4, 3.5) và (Biểu đồ 3.1 và 3.2).

Trong cơ thể, gan là cơ quan đảm nhận nhiều chức năng quan trọng. Khi đưa thuốc vào cơ thể có thể gây độc với gan, làm ảnh hưởng đến chức năng gan. Vì vậy, khi đánh giá độc tính của thuốc thì nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc đối với chức năng gan là rất cần thiết. Để đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan, thường định lượng nồng độ các enzym có nguồn gốc tại gan có trong huyết thanh. Sự tăng nồng độ các enzym này thường gắn liền với độc tính của thuốc do sự hủy hoại tế bào gan. Sau 90 ngày bôi da dịch chiết Ba bet lùn, ở cả lô trị 1 và lô trị 2 hoạt độ ALT, AST đều nằm trong giới hạn bình thường (Biểu đồ 3.3, 3.4).

Thận là cơ quan bài tiết của cơ thể. Nhu mô thận rất dễ bị tổn thương bởi các chất nội sinh và ngoại sinh. Vì vậy, khi đưa thuốc vào cơ thể thuốc có thể gây độc, làm tổn thương thận, từ đó ảnh hưởng đến chức năng thận. Đánh giá chức năng thận sau khi dùng thuốc, thường dùng xét nghiệm định lượng creatinin máu. Creatinin là thành phần đạm trong máu ổn định nhất, hầu như không phụ thuộc vào chế độ ăn hoặc những thay đổi sinh lý mà chỉ phụ thuộc vào khả năng đào thải của thận. Khi cầu thận bị tổn thương, nồng độ creatinin máu tăng sớm hơn ure. Creatinin máu là chỉ tiêu tin cậy và quan trọng hơn ure máu, nên hiện nay dùng để đánh giá và theo dõi chức năng thận. Nồng độ creatinin trong máu thỏ sau dùng dịch chiết Ba bet lùn không có sự thay đổi khác biệt với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$) (Biểu đồ 3.5)

Hơn nữa xét nghiệm vi thể là tiêu chuẩn vàng để đánh giá tổn thương 2 cơ quan chính chịu trách nhiệm chuyển hóa và thải trừ thuốc. Khi dùng đường bôi da cần phải làm thêm xét nghiệm vi thể trên da. Trên tất cả các thỏ nghiên cứu, không quan sát thấy có thay đổi bệnh lý nào về mặt đại thể của các cơ quan. Hình ảnh vi thể gan, thận không có sự khác biệt giữa lô chứng và lô nghiên cứu. Hình ảnh vi thể da không gây nhiều biến đổi so với chứng.

4.2. Đánh giá khả năng kháng *P.acnes* và tác dụng điều trị bệnh trứng cá trên động vật thực nghiệm

4.2.1. Mức độ nhạy cảm của *P. acnes* với dịch chiết rễ cây BBL.

MIC của dịch chiết rễ BBL chủng chuẩn *P. acnes* ATCC là 8.8 mg/mL

MIC của BBL với *P. acnes* phân lập từ bệnh nhân là 4,4mg /mL (Bảng 3.6, 3.7), giá trị này thấp hơn $\frac{1}{2}$ so với MIC của BBL với chủng chuẩn. Điều này có thể do nước ta, việc quản lý thuốc vẫn còn rất lỏng lẻo, người dân khi bị bệnh thường không đi khám, tự mua thuốc điều trị mà không có đơn thuốc từ bác sỹ chuyên khoa, nên hầu hết các bệnh nhân bị bệnh trứng cá đã dùng các chế phẩm có hoạt tính kháng sinh trước đó, ngoài ra trong bệnh phẩm trứng cá có thể có các thành phần làm suy yếu độc lực của vi khuẩn, do đó thử nghiệm cho thấy dịch chiết BBL có hoạt tính mạnh với *P. acnes* chủng phân lập từ bệnh nhân mạnh hơn chủng chuẩn ACTC.

4.2.2 Tác dụng của Baбет lùn trên mô hình động vật thí nghiệm

Gây viêm bằng vi khuẩn *P.acnes* tại vành tai chuột cống trắng.

Chúng tôi chọn tiêm vi khuẩn sống nồng độ 10^8 vi khuẩn /mL với thể tích 20 μ l vào vành tai chuột. Bảng (3.8) cho thấy nhóm tiêm *P. acnes* đáp ứng viêm tăng lên rõ rệt, độ dày vành tai chuột sau 48h là $644,12 \pm 95 \mu$ m sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với thời điểm trước nghiên cứu ($p < 0,001$). Kết quả này có sự tương đồng với hình ảnh vi thể giải phẫu bệnh: Độ dày vành tai chuột tăng lên rõ rệt, thượng bì dày lên, nang lông tuyến bã giãn rộng, mô đệm xung huyết, tập trung bạch cầu đa nhân trung tính, tế bào lympho và trong bào. Trong khi tiêm PBS không gây nên hiện tượng viêm kiểu trứng cá trên vành tai chuột

Đáp ứng viêm của vành tai chuột với dịch chiết rễ BBL

Cặn chiết từ rễ cây Baбет lùn được pha loãng trong cồn 20⁰ ở các liều 10%, 20% và 40%. Sau khi tiến hành bôi thuốc tetracyclin ở nhóm chứng dương và các lô thử thuốc, đo kích thước độ dày tai chuột ngày một lần. Nhận thấy kích thước độ dày giảm dần giữa các ngày đo. Độ dày tai chuột khi bôi tetracyclin giảm dần và trở về bình thường ở ngày thứ 16 tiếp đến là nhóm bôi dịch chiết BBL 10% độ dày tai chuột trở về bình thường sau 22 ngày trong khi ở các nhóm khác thì độ dày tai chuột trở về bình thường sau 26 ngày Biểu đồ 3.6 cho thấy sự khác biệt giữa nhóm bôi dịch chiết BBL 10% so với nhóm bôi dung môi cồn là có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ trong khi ở nhóm bôi dịch chiết BBL 20% và 40% không có sự khác biệt. Lý giải điều này do nồng độ thuốc BBL càng cao thì có sự kích ứng da vì vậy khả năng da trở về bình thường lâu hơn. Vậy khi áp dụng trên người có thể lựa chọn dịch chiết BBL 10%.

4.2.2.3 Tác dụng BBL trên mô hình tai thỏ

Quan sát bằng hình ảnh nội soi: Tai thỏ L1 bôi Parafin nang lông tuyến bã bình thường trong khi các lô từ 2 đến 5 bôi acid oleic đều có hiện tượng nang lông sưng phồng giãn rộng tăng kích thước đáng kể có các điểm màu đen tấy nghẽn trong da sau 3 tuần gây mô hình. L2 bôi cồn sau 2 tuần vẫn còn hiện tượng nang lông tăng kích thước điểm trung bình = 3

L3, L4, L5 bôi Isotretinoin, Benzoyl peroxid và dịch chiết rễ BBL 10% hàng ngày, quan sát bằng mắt thường ảnh hưởng của thuốc với kích thước sưng đỏ của lỗ chân lông, có thể nhận thấy đáp ứng viêm trên lỗ chân lông giảm dần. Cuối tuần thứ 2 sau khi bôi thuốc, chụp nội soi ống tai ngoài (F) thỏ đồng thời đối chiếu với hình ảnh trước khi bôi thuốc và hình ảnh ống tai ngoài (T) thỏ, thì đáp ứng viêm giảm rõ rệt, lỗ chân lông không còn sưng đỏ, kích thước lỗ nhỏ hơn, vẫn còn một số lỗ chân lông kích thước chưa về bình thường, nhưng hầu như đã hết sưng đỏ tương đương thang điểm 1

Quan sát vi thể: Sau 2 tuần bôi thuốc L1 không có thay đổi gì, L2 (lô bôi cồn), lớp tế bào sừng tăng nhiều về độ dày và sừng hóa, nang tuyến bã mở rộng chưa trở về bình thường

Lô 3,4,5 sau 2 tuần điều trị bằng Isotretinoin và Benzoyl Peroxid, BBL 10% thì kết quả có sự tương đồng giữa đánh giá đại thể và vi thể là: Nang lông và tuyến bã trở về bình thường. Điều này càng chứng tỏ tác dụng Isotretinoin và Benzoyl Peroxid, BBL 10% có ảnh hưởng rõ rệt đến tác dụng tiêu sừng ở tai thỏ.

4.3 Đánh giá tác dụng điều trị và tác dụng không mong muốn của dịch chiết từ rễ BBL theo đường bôi trên da bệnh nhân trứng cá thể thông thường.

4.3.1 Tính cần thiết của nghiên cứu

Một nghiên cứu từ Hoa Kỳ chỉ ra rằng thanh thiếu niên bị trứng cá gần như 100%. Trong đó, chỉ có khoảng 20% cần sự giúp đỡ của bác sĩ. Một nghiên cứu của thanh thiếu niên ở New Zealand trứng cá ở nam 91% và nữ 79%. Trứng cá nặng đã được ghi nhận ở 6,9% nam giới và chỉ 1,1% phụ nữ.

4.3.2 Đặc điểm chung

Về giới, độ tuổi, thời gian mắc bệnh, vị trí tổn thương, thói quen sinh hoạt, type da, hình thái tổn thương trên lâm sàng...

4.3.3 Tác dụng điều trị

Một câu hỏi đặt ra là dịch chiết BBL có tác dụng như thế nào vào 4 cơ chế bệnh sinh của trứng cá. BBL có làm mất sừng hóa cổ nang lông hay không? Có diệt được *P. acnes*? có tham gia vào phản ứng viêm không? Trong nghiên cứu này chúng tôi chỉ tập trung vào nghiên cứu tác dụng chống viêm, diệt khuẩn, tiêu sừng của BBL.

Dịch chiết từ rễ BBL đã được chiết xuất và phân lập được 5 chất chính: Mallonoside A, β -sitosterol (BS), Stigmast-4-en-3-on, Daucosterol và acid Palmitic.

Trong 5 chất trên có *Mallonanoside A* chất này có công thức hóa học gần giống với công thức của Acid salicylic đã được sử dụng trên lâm sàng để điều trị trứng cá do tác dụng chống viêm, tiêu sừng và cũng gần giống với công thức hóa học của Alpha abutin là chất làm trắng và đẹp da trên thị trường hiện nay

β -sitosterol (BS) là một trong những dạng phổ biến nhất của phytosterol có tác dụng chống ung thư, chống oxy hóa, chống vi khuẩn và chống viêm

Stigmast-4-en-3-on là một phytosterol có tác dụng chống lão hóa da.

Daucosterol có trong cây lựu, cây chân trâu tím, cây cỏ ban dùng để chữa lành vết thương và nhiễm khuẩn.

BBL chứa hợp chất Phenolic có tác dụng chống ôxy hoá góp phần dọn dẹp gốc tự do chống lão hóa

Với những bằng chứng khoa học mà chúng tôi đã trình bày ở trên đã chứng minh dịch chiết BBL có khả năng chống viêm, chống ôxy hoá, diệt *P. acnes* và tiêu sừng.

Trong nghiên cứu này, 10% dịch chiết BBL được sử dụng như một liệu pháp đơn trị liệu. Đánh giá tỷ lệ thành công ở điểm kết thúc nghiên cứu là sau 12 tuần điều trị. Thành công của quá trình điều trị (làm sạch mụn 79%, mức độ nhẹ 20% (còn vài sần đầu đen trắng) chỉ có 1% ở mức độ vừa. Có sự thay đổi đáng kể tồn thương viêm và không viêm khi đếm ($p < 0.001$) ở tuần thứ 12, được xác nhận có ý nghĩa thống kê.

Khi chia nhóm theo Y học cổ truyền thể phế kinh phong nhiệt 60 bệnh nhân và tỷ lệ thấp nhiệt 49 bệnh nhân. Trong 4 tuần đầu điều trị sần đầu đen trắng, đặc biệt là sần đầu đen có xu hướng tăng lên do tác dụng bong da của thuốc làm bộc lộ những nhân sần đang chìm sâu dưới da. Ở biểu đồ 3.9 số lượng các tồn thương viêm ở nhóm tỷ lệ thấp nhiệt (24,92 \pm 12,31) nhiều hơn 2 lần thể phế kinh phong nhiệt (12,67 \pm 11,32) và số lượng tồn thương viêm cả hai thể đều có xu hướng giảm sau 4 tuần điều trị và đến tuần thứ 12 thì tồn thương viêm còn rất ít. Như vậy, BBL 10% có tác dụng tốt ở bệnh nhân có tồn thương trứng cá viêm.

Thời gian điều trị thể phế kinh phong nhiệt ở biểu đồ 3.8 và 3.9 cho thấy số lượng tồn thương không viêm và viêm trở về bình thường nhanh hơn so với thể tỷ lệ thấp nhiệt đặc biệt là các tồn thương viêm. Ở tuần thứ 8 các tồn thương viêm thể phế kinh phong nhiệt trở về gần như bình thường 1,42 \pm 2,14. Như vậy BBL 10% có tác dụng nhanh ở thể phế kinh phong nhiệt (8 tuần).

Quan sát lâm sàng cho thấy ở BN kích ứng da càng mạnh thì thời gian điều trị càng ngắn, bong da và đỏ da càng nhiều thì tổn thương trứng cá viêm và không viêm càng nhanh sạch. “Một tổn thương viêm mạn tính rất khó để điều trị, nhưng nếu ta thay thế bằng một tổn thương cấp tính mà ta điều khiển được trong thời gian 10-14 ngày sẽ dọn dẹp được tổn thương mạn tính trên da”. Khi có tổn thương viêm cấp, cơ thể sẽ huy động toàn bộ tế bào miễn dịch đến ổ viêm nhanh nhất dọn dẹp ổ viêm hoàn hảo nhất.

Các nghiên cứu đã chứng minh viêm nhiễm mạn tính sẽ sinh ra gốc tự do, trứng cá là một bệnh viêm mạn tính. Vì vậy, khi điều trị trứng cá cần kết hợp những chế phẩm có khả năng dọn dẹp gốc tự do. Dịch chiết BBL đã được chứng minh là hợp chất chứa nhiều phenolic (*Mallonanocid A* có hàm lượng lớn trong dịch chiết toàn phần rễ cây BBL).

4.3.4 Tác dụng không mong muốn

Trong nghiên cứu này, hầu hết các tác dụng không mong muốn là từ nhẹ đến nghiêm trọng. Những tác dụng không mong muốn bao gồm đỏ, khô, ngứa, châm chích và bong vảy tại vùng bôi thuốc ở các mức độ khác nhau. Tỷ lệ mắc các biến cố này đối với bệnh nhân là 100%. Các tác dụng phụ giảm bớt một cách từ từ tương tự như trong các chế phẩm bôi tại chỗ có chứa retinoid hoặc belzoyl peroxit BPO.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy các phản ứng trên da càng dữ dội thì tác dụng điều trị càng cao, da bệnh nhân càng nhanh sạch tổn thương, hết sẹo thâm, đầy sẹo lõm. Khi có phản ứng kích ứng mạnh, như là một quá trình viêm cấp tính quá trình viêm này sẽ tập chung nhiều các tế bào miễn dịch trên da, dọn dẹp ổ viêm nhanh chóng.

Một câu hỏi mà bệnh nhân sẽ đặt ra là liệu da có mỏng đi không? Có yếu đi không? Da sau điều trị có dễ bị nhạy cảm không? Câu trả lời của chúng tôi là không, vì da chúng ta có một lớp tế bào đáy được gọi là lớp tế bào sinh sản mỗi tế bào mất đi đã có tế bào khác thay thế vì vậy khi tế bào biểu bì mới hình thành chúng sẽ khoẻ mạnh hơn, chức năng hoàn hảo hơn so với các tế bào già cỗi. Hàng rào da hay chức năng rào cản trong thời gian da bị kích ứng sẽ kém hiệu quả vì chúng gần như bị phá huỷ. Vì vậy, trong giai đoạn này da cần được bảo vệ nghiêm ngặt bằng kem dưỡng ẩm và chống nắng vật lý. Khi lớp thượng bì da các tế bào đã được thay thế hoàn toàn thì chức năng rào cản sẽ trở lại bình thường, chức năng của các tế bào thượng bì lúc này là hoàn hảo. bệnh nhân sẽ có một diện mạo da mới sáng, căng, đều màu, mịn màng, không bệnh tật.

Như vậy, nhiệm vụ của bác sỹ là phải bảo vệ được tế bào đáy, điều khiển được quá trình viêm cấp tính diễn ra trong thời gian 10-15 ngày đủ để các tế bào miễn dịch hoàn thành công việc của mình.

Dịch chiết rễ BBL rất tốt trong điều trị trứng cá vừa và nhẹ; 79% bệnh nhân sạch tổn thương; số bệnh nhân còn lại tổn thương ở mức độ nhẹ theo thang điểm Tan năm 2008. Nhưng để tăng tác dụng điều trị và giảm thiểu các tác dụng không mong muốn thuốc dùng cần phải có tư vấn của bác sỹ.

4.3.5. Trứng cá ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống

Chất lượng cuộc sống trước điều trị là 11,26 và sau điều trị là 2,41 (Biểu đồ 3.12) sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

KẾT LUẬN

1. Độc tính cấp, kích ứng da, mắt và độc tính bán trường diễn.

- Về độc tính cấp:

$LD_{50} = 11,148 (12,753 - 7,938)$ g dược liệu/kg

Phạm vi an toàn của dịch chiết rễ Ba bét lùn liều 0,05g DL/0,5mL có chỉ số TI > 100, đây là dược liệu ít có độc tính cấp.

- Về khả năng gây kích ứng da:

Dịch chiết rễ Ba bét lùn nồng độ 0,05 g dược liệu/0,5 mL có chỉ số kích ứng bằng 0,78; xếp loại kích ứng da mức độ nhẹ.

- Về khả năng gây kích ứng mắt:

Dịch chiết rễ BBL không gây kích ứng mắt thỏ.

- Về độc tính bán trường diễn

Trong cả hai lô thỏ, một lô bôi BBL liều 0,25mL/kg/ngày và một lô bôi 0,75mL/kg/ngày (liều cao gấp 3 lần) liên tục trong 90 ngày, kết quả: Cả hai liều thuốc thử không làm thay đổi trọng lượng của thỏ, không ảnh hưởng đến chức năng tạo máu, chức năng gan, thận. Cấu trúc vi thể gan thận và da không khác biệt gì so với lô chứng.

2. Tác dụng kháng khuẩn và tác dụng điều trị của dịch chiết từ rễ cây ba bét lùn BBL trên động vật thí nghiệm.

MIC của dịch chiết toàn phần (BBL) với *P.acnes* ATCC là 8,8 mg/mL.

Dịch chiết rễ BBL 10% (liều 0,05g dược liệu/0,5mL) và BBL 20% (liều 0,1gdược liệu/0,5mL) có tác dụng mạnh với vi khuẩn *P.acnes* nuôi cấy từ bệnh nhân.

- Dịch chiết rễ BBL có tác dụng chống viêm đối với tác nhân gây viêm là vi khuẩn *P.acnes*, giảm thời gian, biểu hiện viêm sưng do *P.acnes* gây ra trên mô hình tai chuột.

- Dịch chiết rễ BBL làm nang lông, tuyến bã ở ống tai trở về bình thường sau 2 tuần, kết quả này tương đương với tretinoin 0,05% và Benzoyl Peroxit 5%

3. Tác dụng của dịch chiết rễ BBL trên bệnh nhân trứng cá thông thường

Tác dụng của dịch chiết BBL sau điều trị 12 tuần

+ Số lượng tổn thương không viêm giảm từ (57,17±19,39) còn (3,72±9,45). Số lượng tổn thương viêm giảm từ (18,17 ±13,22) còn (0,85±3,81) tổng số tổn thương (75,61 ± 27,25) giảm còn (4,57 ± 12,8).

+ Mức độ tổn thương: Ở tuần đầu tổn thương trung bình 87,6%, nhẹ 12,4%. Sau điều trị 12 tuần: Sạch mụn là 79%, mức độ nhẹ 20% và 1% mức độ trung bình.

Tác dụng không mong muốn

100% bệnh nhân có phản ứng đỏ da, khô da, bong vảy ở các mức độ từ nghiêm trọng cho đến nhẹ.

Hiện tượng đỏ da ở mức độ cao nhất là ở tuần thứ 4 (0,83 ± 0,53) đến tuần thứ 12 còn đỏ da nhẹ (0,08 ± 0,22).

Hiện tượng bong da đỉnh điểm ở tuần thứ 4 (0,96 ± 0,48) đến tuần thứ 12 thì bong da nhẹ (0.18 ±0,35).

Hiện tượng ngứa rất đỉnh điểm ở tuần thứ 4 và ở mức độ nhẹ (0,46±0,54), đến tuần thứ 12 cảm giác ngứa rất gần như không còn (0.01±0,10).

Ngứa nhiều nhất xảy ra ở tuần thứ 4 (0.66 ± 0.5) đến tuần thứ 12 (0.01±0.10), hầu hết bệnh nhân hết ngứa.

Chất lượng cuộc sống

Trước điều trị QoL là 11,26 và sau điều trị là 2,41 sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.