

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ ĐỘC TÍNH BÁN TRƯỜNG
DIỄN CỦA VIÊN NANG PHONG THẤP 3T**Nguyễn Văn Dũng¹, Trần Thị Thu Trang²Nguyễn Văn Cường³, Phạm Thị Phụng³¹ Bệnh viện YHCT Đà Nẵng, ² Trường Đại học Y Hà Nội.³ Viện Y học cổ truyền Quân đội**Tóm tắt**

Phong thấp 3T gồm 8 vị thuốc đạt tiêu chuẩn dược điển Việt Nam IV, được bào chế dưới dạng viên nang đạt tiêu chuẩn cơ sở để điều trị đau vai gáy do thoái hóa cột sống cổ. Nghiên cứu được thực hiện nhằm mục tiêu đánh giá độc tính cấp trên chuột nhắt trắng và sự ảnh hưởng đến thể trạng, cân nặng, chức năng hệ thống tạo máu chuột cống thực nghiệm. Kết quả Viên nang Phong thấp 3T không có độc tính cấp theo đường uống và chưa chưa xác định được LD50 trên chuột nhắt trắng. Viên nang Phong thấp 3T không ảnh hưởng đến thể trạng chung cũng như các thông số đánh giá chức năng tạo máu của chuột cống trắng khi cho chuột uống liều 1,05g/kg/ngày và liều 3,15g/kg/ngày liên tục trong 4 tuần.

Từ Khóa: Phong thấp 3T, độc tính cấp, vai gáy.

Abstract

The 3T Rheumatoid Arthritis Capsules with 8 herbal ingredients are produced under the Vietnam Pharmacopoeia IV standards. **Objectives:** 1. To study the acute toxicity and investigate the LD50 of the 3T Rheumatoid Arthritis Capsules on experimental basis. 2. To evaluate of the effects of the 3T Rheumatoid Arthritis Capsules on the general condition, hematological indices and liver and kidney functions of the rats. **Results:** 1. The 3T Rheumatoid Arthritis Capsules had no acute toxicity at the dose of 15.6g of medicinal herbs/kg and no mortality was observed. 2. After 4 weeks, the 3T Rheumatoid Arthritis Capsules at the doses of 1.05g/kg/day and 3.15g/kg/day (3 times higher than dose 1) had no effects on the hematological parameters, liver and kidney functions and no morphological damages were shown on the macroscopic and microscopic images of liver and kidney of the rats.

Keywords: 3T Rheumatoid Arthritis Capsules, acute toxicity, hematology, liver and kidney function.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đau vai gáy là tình trạng đau cấp hoặc mạn tính tại cột sống cổ. Bệnh do nhiều nguyên nhân gây ra nhưng thường gặp nhất là do thoái hóa cột sống cổ (THCSC) [1]. Điều trị đau vai gáy do THCSC chủ yếu là dùng thuốc phối hợp vật lý trị liệu, xoa bóp bấm huyệt và châm cứu. Điều trị phẫu thuật được cân nhắc khi điều trị nội khoa không hiệu quả hoặc có các triệu chứng chèn ép thần kinh, chèn ép tủy thể hiện trên lâm sàng và chẩn đoán hình ảnh [1]. Theo y học cổ truyền (YHCT), đau vai gáy nằm trong phạm vi của chứng tý với bệnh danh Lạc chẩm. Điều trị Lạc chẩm theo YHCT bao gồm khu phong, tán hàn, trừ thấp, thông kinh hoạt lạc, bổ can thận, nhằm phù chính khu tà, giảm đau và khôi phục lại hoạt động sinh lý bình thường của vùng cổ gáy [2]. Viên nang “Phong thấp 3T” bao gồm 08 vị dược liệu, được xây dựng từ hai chế phẩm hoàn Mã tiền chế và hoàn Tứ vật đào hồng để hỗ trợ điều trị bệnh đau vai gáy do thoái hóa cột sống cổ. Tại Đơn vị cột sống của Bệnh viện Y học cổ truyền Đà Nẵng, hai chế phẩm trên đã được sử dụng điều trị hơn 500 bệnh nhân mắc bệnh lý cột sống, thần kinh, cơ xương khớp, đạt kết quả tốt. Để nâng cao hiệu quả điều trị, nhóm nghiên cứu đã kết hợp hai sản phẩm trên và tiến hành

thực hiện đề tài “Nghiên cứu tính an toàn và tác dụng của viên nang Phong thấp 3T trên bệnh nhân đau vai gáy do thoái hóa cột sống cổ”. Để đánh giá tính an toàn giai đoạn tiền lâm sàng, nghiên cứu đã được tiến hành bước 1 với hai mục tiêu:

1. Xác định độc tính cấp và liều chết 50% của viên nang Phong thấp 3T trên chuột nhắt trắng.

2. Đánh giá ảnh hưởng của viên nang Phong thấp 3T lên tình trạng chung, các chỉ số huyết học và chức năng gan thận trên chuột thực nghiệm.

II. CÁT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu nghiên cứu

Thuốc nghiên cứu: Viên nang Phong thấp 3T sản xuất tại Khoa Dược - Bệnh viện YHCT Đà Nẵng, đạt tiêu chuẩn cơ sở.

Công thức bào chế cho 1 viên nang Phong thấp 3T: Đương quy 85mg, Xuyên khung 64mg, Sinh địa 85mg, Xích thược 85mg, Đào nhân 43mg, Hồng hoa 43mg, Thiên niên kiện 85mg, Mã tiền chế 6,4mg, tá dược vừa đủ.

Hóa chất: Dung dịch xét nghiệm máu ABX Minidil LMG của hãng ABX - Diagnostics, định lượng trên máy Vet abcTM Animal Blood Counter.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

- Nghiên cứu độc tính cấp: 60 chuột nhắt trắng chủng Swiss trọng

lượng 18 - 22g do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp.

- Nghiên cứu độc tính bán trường diễn: 30 chuột cống trắng chủng *Wistar* khỏe mạnh, nặng 180 - 220g, cả hai giống do Ban chăn nuôi Học viện Quân y cung cấp.

Động vật dùng trong nghiên cứu được nuôi trong điều kiện thí nghiệm của khoa Nghiên cứu thực nghiệm – Viện Y học cổ truyền Quân đội 5-7 ngày trước nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn dành riêng cho chuột (do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp), nước sạch uống tự do.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Nghiên cứu độc tính cấp trên chuột nhắt trắng

Xác định LD50 của viên nang Phong thấp 3T trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon và theo hướng dẫn của WHO, Chuột nhắt được chia thành các lô, mỗi lô 10 con [3].

Cách tiến hành:

- Chuột nhịn ăn 15 giờ trước khi thí nghiệm, nước uống cung cấp đầy đủ.

- Cho chuột uống bằng kim cong đầu tù, đưa thẳng vào dạ dày chuột.-

- Thể tích thuốc cho uống là 0,25ml/10g thể trọng chuột.

- Liều quy định trên thực nghiệm chính thức: 3,2g; 6,3g; 9,4g; 12,5g; 15,6g thuốc/kg thể trọng.

- Theo dõi liên tục biểu hiện sinh lý của chuột thí nghiệm trong vòng 24h đầu. Mổ chuột chết tìm hiểu nguyên nhân gây chết và nhận xét đại thể.

- Sau 72h, mổ 1/3 số chuột còn sống, nhận xét đại thể.

- Theo dõi tình trạng chung của chuột trong 7 ngày tiếp theo.

2.3.2. Nghiên cứu và độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng

Đánh giá độc tính bán trường diễn của viên nang “Phong thấp 3T” trên chuột cống trắng bằng đường uống theo hướng dẫn của WHO [3].:

Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên làm 3 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô chứng (n=10): uống nước cất liều 1,0ml/100g thể trọng/ngày

- Lô thử 1 (n=10): uống thuốc thử “Phong thấp 3T” liều 1,05g/kg thể trọng /ngày (*liều có tác dụng tương đương trên người, tính theo hệ số 7*).

- Lô thử 2 (n=10): uống thuốc thử “Phong thấp 3T” liều 3,15g/kg thể trọng/ngày (*gấp 3 lần lô thử 1*).

Chuột được uống nước cất và thuốc thử “Phong thấp 3T” liên tục trong 4 tuần, mỗi ngày một lần vào buổi sáng.

Các chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình nghiên cứu:

- Tình trạng chung, thể trọng của chuột.

- Đánh giá chức phận tạo máu thông qua số lượng hồng cầu, huyết sắc tố, hematocrit, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu.

- Đánh giá chức năng gan thông qua định lượng một số enzym và chất chuyển hoá trong máu: ALT, AST, Albumin.

- Đánh giá chức năng thận thông qua định lượng nồng độ Ure, Creatinin huyết thanh.

Các thông số theo dõi được kiểm tra vào trước lúc uống thuốc, sau 2 tuần uống thuốc, và sau 4 tuần uống thuốc. Các xét nghiệm sinh hóa, huyết học được tiến hành tại Bộ môn Sinh lý lao động – Học viện quân y.

Mô bệnh học:

+ Sau 4 tuần uống thuốc,

chuột được mổ để quan sát đại thể toàn bộ các cơ quan.

+ Kiểm tra ngẫu nhiên cấu trúc vi thể gan, thận của 30% số chuột ở mỗi lô và những chuột có tổn thương đại thể về gan, thận.

+ Các xét nghiệm vi thể được thực hiện tại Khoa Giải phẫu bệnh – Bệnh viện Quân y 103.

2.3.4. Xử lý số liệu

Các số liệu nghiên cứu được xử lý thống kê theo phương pháp t-test Student và test trước sau (Avant-After). Số liệu được biểu diễn dưới dạng: $\bar{X} \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

2.3.5. Thời gian - Địa điểm nghiên cứu

Thời gian: 02/2016 - 09/2016.

Địa điểm: Khoa Nghiên cứu thực nghiệm - Viện Y học cổ truyền Quân đội.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Nghiên cứu độc tính cấp

Bảng 1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp

Nhóm chuột	Liều dùng (g/kg chuột)	Số chuột thí nghiệm	Số chuột chết	Tỷ lệ chuột chết (%)
1	ĐC	10	0	0
2	3,2	10	0	0
3	6,3	10	0	0
4	9,4	10	0	0
5	12,5	10	0	0
6	15,6	10	0	0

Liều thực nghiệm:

- Liều thấp nhất cho chuột uống trong thực nghiệm: 0,032g thuốc

cho 10g thể trọng chuột tương đương với 3,2g thuốc/1kg thể trọng chuột.

- Liều cao nhất có khả năng cho chuột uống trong thực nghiệm: 0,156g thuốc cho 10g thể trọng chuột tương đương với 15,6g thuốc/1kg thể trọng chuột.

Diễn biến thực nghiệm:

- Sau khi uống thuốc chuột hoạt động bình thường.

- Các biểu hiện sinh lý: bình thường.

- Không nhận thấy biểu hiện ngộ độc nào trên chuột thí nghiệm trong thời gian theo dõi. Sau 72 giờ các thí nghiệm đều không có chuột chết.

- Mô chuột trong các lô: tim, gan, thận, phổi tươi nhuận; dạ dày, ruột hết thuốc.

Sau 7 ngày, ở các lô thí nghiệm đều không có chuột chết,

Bảng 2. Ảnh hưởng của viên nang Phong thấp 3T đến thể trọng chuột ($\bar{X} \pm SD$)

Thời gian	Lô chứng (n=10)	Lô thử 1 (n=10)	Lô thử 2 (n=10)	p
Trước uống thuốc	197,4±27,4	180,1±22,3	179,9±30,6	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	207,3±23,4	208,4±24,6	213,2±34,8	> 0,05
p (trước - sau)	< 0,05	< 0,05	< 0,05	> 0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	212,8±25,3	210,1±23,4	220±32,7	> 0,05
p (trước - sau)	< 0,05	< 0,05	< 0,05	

Nhận xét: Sau 2 tuần và 4 tuần uống Phong thấp 3T, trọng lượng chuột ở cả 3 lô (lô chứng và 2 lô thử) đều tăng so với trước khi nghiên cứu ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt về mức độ tăng

các biểu hiện sinh lý bình thường. Không xác định được liều gây chết 50% số động vật thí nghiệm (LD50) của thuốc viên nang Phong thấp 3T, mặc dù cho chuột uống với thể tích và liều cao nhất có thể là 15,6g thuốc/kg thể trọng.

3.2. Đánh giá ảnh hưởng của viên nang Phong thấp 3T lên tình trạng chung, các chỉ số huyết học và chức năng gan thận trên chuột thực nghiệm

3.2.1 Tình trạng chung và thể trọng chuột

Trong suốt thời gian thí nghiệm, chuột ở cả 3 lô ăn uống, hoạt động bình thường, không thấy biểu hiện đặc biệt ở cả 3 lô chuột trong suốt thời gian nghiên cứu.

trọng lượng chuột giữa lô chứng và các lô dùng thuốc thử tại thời điểm nghiên cứu ($p > 0,05$).

3.2.2. Ảnh hưởng viên nang Phong thấp 3T đến chức năng tạo máu

Bảng 3. Ảnh hưởng của viên nang Phong thấp 3T đến số lượng hồng cầu trong máu chuột cống trắng ($\bar{X} \pm SD$)

Thời gian	Số lượng hồng cầu (Tetra/lit)			P
	Lô chứng (n=10)	Lô thử 1 (n=10)	Lô thử 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	7,17 ± 0,85	7,74 ± 0,87	7,75 ± 0,70	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	6,84 ± 1,28	7,23 ± 0,75	7,18 ± 0,78	> 0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	6,73 ± 0,87	7,09 ± 0,97	7,08 ± 0,86	> 0,05
p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: Sau 2 tuần và sau 4 tuần uống thuốc, số lượng hồng cầu của chuột cống trắng ở lô thử 1 và lô thử 2 không có sự khác biệt khi so sánh với lô chứng và giữa các lô dùng thuốc thử tại cùng thời điểm theo dõi ($p > 0,05$).

Bảng 4. Ảnh hưởng của viên nang Phong thấp 3T đến hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột cống trắng ($\bar{X} \pm SD$)

Thời gian	Hàm lượng huyết sắc tố (g/dl)			P
	Lô chứng (n=10)	Lô thử 1 (n=10)	Lô thử 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	12,64 ± 1,31	12,30 ± 1,60	12,49 ± 3,97	> 0,05
Sau 2 tuần	11,81 ± 1,17	12,63 ± 1,61	12,74 ± 1,23	> 0,05
Sau 4 tuần	11,56 ± 1,45	12,13 ± 0,89	12,46 ± 0,92	> 0,05
p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Bảng 5. Ảnh hưởng của viên nang Phong thấp 3T đến hematocrit trong máu chuột cống trắng ($\bar{X} \pm SD$)

Thời gian	Hematocrit (%)			P
	Lô chứng (n=10)	Lô thử 1 (n=10)	Lô thử 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	31,9 ± 3,8	32,9 ± 4,3	34,6 ± 5,8	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	29,0 ± 3,5	31,9 ± 3,1	30,8 ± 2,8	> 0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	29,2 ± 3,5	30,4 ± 2,1	30,4 ± 2,4	> 0,05
p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Bảng 6. Ảnh hưởng của viên nang Phong thấp 3T đến số lượng bạch cầu trong máu chuột cống trắng ($\bar{X} \pm SD$)

Thời gian	Số lượng bạch cầu (Giga/lit)			p
	Lô chứng (n=10)	Lô thử 1 (n=10)	Lô thử 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	9,79 ± 2,39	9,53 ± 3,24	10,04 ± 3,30	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	10,33 ± 3,12	9,81 ± 3,10	9,89 ± 3,22	> 0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	10,41 ± 2,88	10,11 ± 1,74	11,43 ± 2,65	> 0,05
p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Bảng 7. Ảnh hưởng của Phong thấp 3T đến công thức bạch cầu trong máu chuột cống trắng ($\bar{X} \pm SD$)

Thời gian	Công thức bạch cầu (%)	Lô chuột			p
		Lô chứng (n=10)	Lô thử 1 (n=10)	Lô thử 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	Lympho	74,04 ± 2,99	72,57 ± 5,30	75,28 ± 4,28	> 0,05
	Trung tính	14,71 ± 3,63	16,98 ± 3,67	15,42 ± 3,59	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	Lympho	73,43 ± 2,26	72,96 ± 2,29	75,98 ± 3,40	> 0,05
	Trung tính	14,06 ± 1,86	15,33 ± 3,29	15,81 ± 2,11	> 0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	Lympho	72,85 ± 5,07	71,54 ± 5,54	71,44 ± 5,18	> 0,05
	Trung tính	16,65 ± 4,31	19,01 ± 2,76	17,35 ± 1,50	> 0,05
p		> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Bảng 8. Ảnh hưởng của Phong thấp 3T đến số lượng tiểu cầu trong máu chuột cống trắng ($\bar{X} \pm SD$)

Thời gian	Số lượng tiểu cầu (Giga/lit)			p
	Lô chứng (n=10)	Lô thử 1 (n=10)	Lô thử 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	404,25± 123,37	419,56 ± 95,97	386,71± 82,69	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	391,63± 102,85	316,10 ± 69,79	378,00± 65,19	> 0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	413,33 ± 91,62	413,10 ± 76,48	420,33± 92,42	> 0,05

p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
----------	--------	--------	--------	--

Nhận xét: Kết quả ở các bảng 3, 4, 5, 6,7 và 8 cho thấy sau 4 tuần uống thuốc Phong thấp 3T, tất cả các xét nghiệm đánh giá chức năng tạo máu (số lượng hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu)

ở cả lô thử 1 và lô thử 2 đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

3.2.3. Ảnh hưởng của viên nang Phong thấp 3T đến chức năng gan

Bảng 9. Ảnh hưởng của viên nang Phong thấp 3T đến hoạt độ AST trong máu chuột cống trắng ($\bar{X} \pm SD$)

Thời gian	Hoạt độ AST (U/lit)			p
	Lô chứng (n=10)	Lô thử 1 (n=10)	Lô thử 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	167,46 ± 36,59	161,93 ± 39,40	167,96 ± 29,26	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	193,90 ± 38,18	178,66 ± 38,16	192,49 ± 35,03	> 0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	171,48 ± 34,55	196,90 ± 37,22	187,67 ± 25,94	> 0,05
p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Bảng 10. Ảnh hưởng của viên nang Phong thấp 3T đến hoạt độ ALT trong máu chuột cống trắng ($\bar{X} \pm SD$)

Thời gian	Hoạt độ ALT (U/lit)			p
	Lô chứng (n=10)	Lô thử 1 (n=10)	Lô thử 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	65,59 ± 12,46	60,74 ± 7,73	58,09 ± 9,41	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	63,44 ± 13,25	56,31 ± 10,52	53,42 ± 11,67	> 0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	57,35 ± 13,90	54,85 ± 8,54	47,17 ± 9,92	> 0,05
p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: Kết quả ở bảng 9, 10 cho thấy sau 4 tuần uống viên nang Phong thấp 3T, các xét nghiệm đánh giá chức năng gan

(hoạt độ AST, ALT) trong máu chuột ở cả lô thử 1 và lô thử 2 không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa hai

thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

3.2.4. Ảnh hưởng của viên nang Phong thấp 3T đến chức năng thận

Bảng 11. Ảnh hưởng của viên nang Phong thấp 3T đến hàm lượng creatinin trong máu chuột cống trắng ($\bar{X} \pm SD$)

Thời gian	Creatinin($\mu\text{mol/L}$)			P
	Lô chứng (n=10)	Lô thử 1 (n=10)	Lô thử 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	1,04 \pm 0,08	1,04 \pm 0,08	1,04 \pm 0,08	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	1,03 \pm 0,07	1,04 \pm 0,05	1,02 \pm 0,08	> 0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	1,04 \pm 0,10	1,06 \pm 0,10	1,05 \pm 0,10	> 0,05
P	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: Nồng độ creatinin trong máu chuột ở cả lô thử 1 và lô thử 2 đều không có sự thay đổi khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

3.2.5. Ảnh hưởng của viên nang Phong thấp 3T lên hình thái gan, thận chuột thực nghiệm

** Hình ảnh đại thể thận chuột cống trắng thực nghiệm*



Hình 1: Đại thể thận chuột cống trắng lô đối chứng (03)



Hình 2: Đại thể thận chuột cống trắng lô thử 1 (15)



Hình 3: Đại thể thận chuột cống trắng lô thử 2 (25)

** Hình ảnh đại thể gan chuột cống trắng thực nghiệm*



Hình 4: Đại thể gan chuột cống trắng lô đối chứng (03)

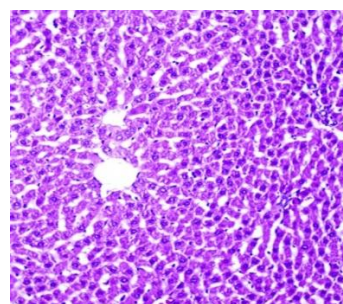
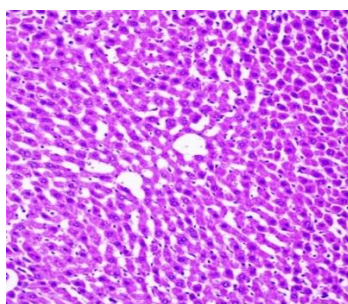
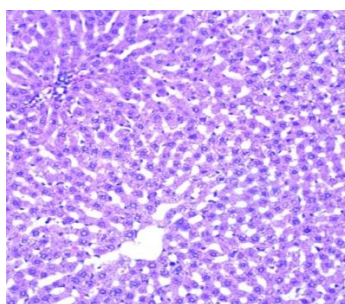
Hình 5: Đại thể gan chuột cống trắng lô thử 1 (15)

Hình 6: Đại thể gan chuột cống trắng lô thử 2 (25)

Nhận xét: Sau 4 tuần uống viên nang Phong thấp 3T, quan sát hình ảnh đại thể gan, thận của chuột giữa các lô chứng, lô thử 1 và lô thử 2 uống (liều 1,05g/kg và

liều 3,15g/kg thể trọng/ngày) không thấy có sự khác biệt về hình ảnh đại thể gan, thận chuột thực nghiệm.

*** Hình thái vi thể gan chuột cống trắng thực nghiệm**

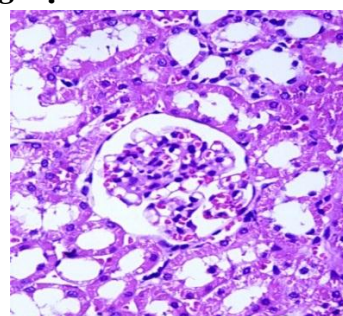
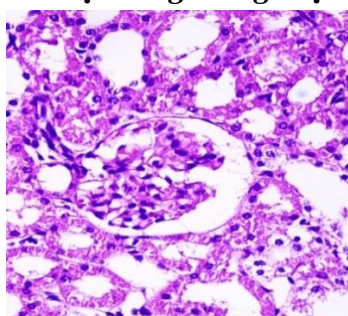
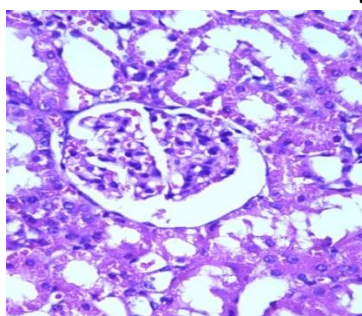


Hình 7: Vi thể gan chuột cống trắng lô đối chứng (03)

Hình 8: Vi thể gan chuột cống trắng lô thử 1 (15)

Hình 9: Vi thể gan chuột cống trắng lô thử 2 (25)

*** Hình thái vi thể thận chuột cống trắng thực nghiệm**



Hình 10: Vi thể thận chuột cống trắng lô đối chứng (03)

Hình 11: Vi thể thận chuột cống trắng lô thử 1 (15)

Hình 12: Vi thể thận chuột cống trắng lô thử 2 (25)

Nhận xét: Sau 4 tuần uống viên nang Phong thấp 3T, hình ảnh vi thể gan, thận của chuột nghiên cứu (HE x 400), lô thử 1 và lô thử 2 uống (liều 1,05g/kg và liều 3,15g/kg thể trọng/ngày) chưa thấy

có sự khác biệt về cấu trúc vi thể gan, thận chuột so với lô đối chứng.

IV. BÀN LUẬN

4.1 Về độc tính cấp

Theo hướng dẫn của WHO, tất cả các thuốc có nguồn gốc từ dược liệu đều phải đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn trên súc vật trước khi đưa vào thử nghiệm trên người [3],[4]. Xác định độc tính cấp và liều chết 50% (LD₅₀) để đánh giá mức độ độc và là cơ sở chọn liều thử tác dụng cho các bước nghiên cứu tiếp theo.

Liều 15,6g/kg là liều tối đa có thể dùng được bằng đường uống (liều dung nạp) để đánh giá độc tính cấp của viên Phong thấp 3T (nồng độ đặc nhất, thể tích mỗi lần uống tối đa, số lần dùng tối đa trong 24 giờ). So sánh với liều dự kiến trên người 15 viên/ngày/50kg (tính người lớn trưởng thành nặng 50 kg) hay 7,446g dược liệu/50kg hay 0,15g/kg: chuột nhắt trắng đã uống đến liều gấp trên 9 lần (tính hệ số ngoại suy trên chuột gấp 12 lần liều trên người) nhưng không xuất hiện độc tính cấp. Như vậy, viên nang Phong thấp 3T không có độc tính cấp trên chuột nhắt trắng khi uống đến liều gấp 9 lần liều dự kiến dùng trên người. Trong nghiên cứu này chưa xác định được LD₅₀ của viên nang Phong thấp 3T theo đường uống trên chuột nhắt trắng và không thấy xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống thuốc lần đầu và trong suốt 7 ngày sau uống thuốc. Điều này chứng tỏ

thuốc có tính an toàn cao khi sử dụng.

4.2 Về ảnh hưởng của viên nang Phong thấp 3T lên tình trạng chung, các chỉ số huyết học và chức năng gan thận trên chuột thực nghiệm

Ảnh hưởng của viên nang Phong thấp 3T tới tình trạng chung và thay đổi thể trọng chuột

Chuột ở cả lô chứng và 2 lô thử đều phát triển bình thường về cân nặng, không có sự khác biệt về mức tăng trọng lượng giữa các lô chuột (Bảng 1). Theo dõi tình trạng sức khỏe hàng ngày cũng không thấy có biểu hiện bất thường ở các lô chuột.

Chuột dùng trong nghiên cứu là chuột đã trưởng thành, có trọng lượng ổn định từ 180 - 220g. Vì vậy cân nặng duy trì ở mức độ trên là hoàn toàn phù hợp với sinh lý phát triển. Như vậy, viên nang Phong thấp 3T không ảnh hưởng đến tình trạng chung và trọng lượng chuột giai đoạn trưởng thành.

Ảnh hưởng của viên nang Phong thấp 3T đến chức năng tạo máu

Kết quả nghiên cứu ở các bảng 2 đến bảng 7 cho thấy sau 2 tuần và 4 tuần uống Phong thấp 3T, số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, công thức bạch cầu, hematocrit và hàm lượng hemoglobin không có sự biến đổi ở cả lô chứng và 2 lô trị. Như vậy

viên nang Phong thấp không làm ảnh hưởng đến chức năng tạo máu của chuột bình thường, trưởng thành.

Phân tích thành phần bài thuốc Phong thấp 3T, Đương quy, Sinh địa là hai vị thuốc có tác dụng dưỡng huyết sinh tân; phối hợp với Xuyên khung hoạt huyết, bổ huyết [5]. Nghiên cứu dược lý hiện đại đã chứng minh nước sắc Đương quy có tác dụng tăng cường miễn dịch, điều tiết chức năng tạo máu và tăng số lượng tế bào hồng cầu và bạch cầu trên thực nghiệm [6]. Vì vậy, bài thuốc Phong thấp 3T có tác dụng nâng cao thể trạng, tăng số lượng các chỉ số máu.

Ảnh hưởng của viên nang Phong thấp 3T đến chức năng gan, thận

Khi đưa thuốc vào cơ thể, thuốc có thể gây độc với gan, làm ảnh hưởng đến cấu trúc và chức năng gan. Vì vậy, khi đánh giá độc tính của thuốc, nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc tới cấu trúc và chức năng gan là rất cần thiết. Mức độ tổn thương tế bào gan thường được đánh giá thông qua hoạt độ các transaminase trong huyết thanh là ALT và AST. Khi tổn thương hủy hoại tế bào gan, hoạt độ enzym ALT tăng cao. Khác với ALT, đa số enzym AST khu trú trong ty thể, chỉ 1/3 enzym khu trú ở bào tương của tế bào. Khi tổn thương gan ở mức độ dưới tế bào,

hoạt độ enzym AST trong ty thể được giải phóng ra ngoài. Vì vậy, trong viêm gan nói chung, hoạt độ ALT luôn tăng cao hơn AST [4],[7]. Kết quả định lượng hoạt độ ALT và AST trong huyết thanh chuột ở bảng 8, 9 cho thấy: thời điểm sau 2 và 4 tuần uống thuốc, hoạt độ 2 enzym này ở cả lô chứng và hai lô trị đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Thận là cơ quan bài tiết của cơ thể. Nhu mô thận dễ bị tổn thương bởi các chất nội sinh và ngoại sinh [4],[7]. Vì vậy, khi các thuốc vào cơ thể có thể gây độc, làm tổn thương thận, từ đó ảnh hưởng đến chức năng thận. Để 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 thay đổi do chế độ ăn hoặc những thay đổi sinh lý mà chỉ phụ thuộc vào sự đào thải của thận. Bảng 10 cho thấy sau 2 và 4 tuần uống thuốc, ở cả 2 lô thử, nồng độ creatinin trong huyết thanh chuột không có sự thay đổi khác biệt so với lô chứng và so với trước khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Giải phẫu đại thể và vi thể gan thận là chỉ số bắt buộc khi đánh giá độc tính bán trường diễn theo hướng dẫn của WHO [3]. Hơn nữa

xét nghiệm vi thể là tiêu chuẩn vàng để đánh giá tổn thương hai cơ quan chính chịu trách nhiệm chuyển hóa và thải trừ thuốc. Trên tất cả các chuột 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 không có sự khác biệt giữa lô chứng và lô thử. Hình ảnh vi thể thận bình thường ở tất cả các lô.

Điều này cũng có thể lý giải vì tất cả các vị thuốc dùng trong bài thuốc nghiên cứu đều là những vị thuốc y học cổ truyền đã được sử dụng từ rất lâu đời, để điều trị nhiều bệnh khác nhau. Các vị thuốc này khi sử dụng trên thực tế cũng cho thấy không gây ra những tác dụng không mong muốn trên lâm sàng.

V. KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu trên, chúng tôi rút ra một số kết luận sau

- Chưa xác định được độc tính cấp LD₅₀ của viên nang Phong thấp 3T qua đường uống trên chuột nhắt trắng trưởng thành, với liều 15,6g/kg thể trọng (liều cao nhất có thể cho chuột uống được gấp 9 lần liều tương đương dự kiến sử dụng trên lâm sàng).

- Viên nang Phong thấp 3T liều 1,05g/kg thể trọng/ngày và 3,15g/kg thể trọng/ngày chuột

công trắng trưởng thành trong 4 tuần liên tục không làm thay đổi các chỉ tiêu trên các cơ quan tạo máu, không gây tổn thương đến mô bệnh học gan, thận chuột công trắng thực nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1. Nguyễn Thị Ngọc Lan (2011),** *Bệnh học cơ xương khớp nội khoa*, NXB Giáo dục Việt Nam, 140-153.
- 2. Hoàng Bảo Châu (2006),** *Nội khoa học cổ truyền*, NXB Y học, 528-539.
- 3. World Health Organization (2000),** *Working group on the safety and efficacy of herbal medicine*, Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization.
- 4. Nguyễn Thế Khánh, Phạm Tử Dương (2001),** *Xét nghiệm sử dụng trong lâm sàng*, NXB Y học.
- 5. Đỗ Tất Lợi (2000),** *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Y học, Hà Nội, tr. 41-49, 197 - 99, 818 - 55.
- 6. Bộ Y tế (2009),** *Dược điển Việt Nam IV*, NXB Y học, Hà Nội, tr 752-753.
- 7. Vũ Đình Vinh (2001),** *Hướng dẫn sử dụng các xét nghiệm sinh hóa*, NXB Y học, 115-287.