

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ ĐỘC TÍNH BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA CỐM TAN TIỀN LIỆT THANH GIẢI TRÊN THỰC NGHIỆM

Nguyễn Thị Phương Quỳnh¹, Vũ Thị Ngọc Thanh², Nguyễn Thị Tân³

(1) Trường Đại học Y Dược Thái Nguyên

(2) Trường Đại học Y Hà Nội

(3) Trường Đại học Y Dược Huế

Tóm tắt

Mục tiêu: Nghiên cứu độc tính cấp và bán trường diễn của cốm tan tiền liệt thanh giải trên thực nghiệm. **Phương pháp nghiên cứu:** Xác định LD₅₀ trên chuột nhắt trắng bằng phương pháp Litchfield – Wilcoxon. Độc tính bán trường diễn: thử được cho uống cốm tan tiền liệt thanh giải với liều 1,2g và 3,6g/kg trọng lượng trong 3 tháng liên tục. Đánh giá chức năng gan, thận và tạo máu trước, trong và sau nghiên cứu. **Kết quả:** không có chuột chết trong vòng 72 giờ và không có biểu hiện ngộ độc ở chuột sau 7 ngày quan sát. Không có biểu hiện độc đối với hệ thống tạo máu, chức năng gan, thận. **Kết luận:** chưa xác định được LD₅₀ trên chuột nhắt trắng. Không thấy biểu hiện độc tính bán trường diễn với liều 1,2g và 3,6g/kg trọng lượng.

Từ khóa: Độc tính cấp, độc tính bán trường diễn, thực nghiệm.

Abstract

ACUTE AND SUBCHRONIC TOXICITY OF GRANULES OF TIEN LIET THANH GIAI BY EXPERIMENTAL TRIAL

Nguyen Thi Phuong Quynh¹, Vu Thi Ngoc Thanh², Nguyen Thi Tan³

(1) Thai Nguyen University of Medicine and Pharmacy

(2) Hanoi Medical University

(3) Hue University of Medicine and Pharmacy

Objectives: Study on the acute and subchronic toxicity of granules of Tien liet thanh giai (TLTG). **Methods:** Define LD₅₀ of granules of TLTG in the mice by Litchfield – Wilcoxon method. **Subchronic toxicity:** TLTG was been given orally to rabbit with the daily dose of 1,2g and 3,6g/kg body weight for 3 successive months. The measurements of the liver, kidney and blood were followed before, during and after the trial. **Results:** There was no mice died during 72 hours and there was no toxic signs observed in the mice after 7 days observed. There was no changes in parameters of the liver and kidney, and hematopoietic system. **Conclusion:** LD₅₀ can not be defined in the mice. There was no subchronic toxicity in rabbit with the daily dose of 1,2g and 3,6g/kg body weight.

Keywords: Acute toxicity, subchronic toxicity, experiment.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Phì đại lành tính tuyến tiền liệt (PDLTTTL) là một bệnh phổ biến và gây nhiều phiền toái ở nam giới cao tuổi do tuyến tiền liệt ngày càng lớn dần và gây ra các rối loạn tiểu tiện. Bệnh có thể gây ra các biến chứng trầm trọng như bí tiểu cấp tính, nhiễm trùng đường niệu, sỏi bàng quang, tiểu máu và suy thận [1],[2].

Bài thuốc “Tiền liệt thanh giải” (TLTG) xuất xứ từ bài cổ phương “Tứ diệu hoàn” gia thêm một số vị thuốc. “Tứ diệu hoàn” là bài thuốc đã được nhân dân ta sử dụng từ lâu để điều trị chứng rối loạn tiểu tiện [3].

Bài thuốc “Tiền liệt thanh giải” dạng cao lỏng đã được nghiên cứu sơ bộ về tính an toàn và tác dụng điều trị phì đại lành tính tuyến tiền liệt trên thực

- Địa chỉ liên hệ: Nguyễn Thị Tân; Email: nguyenthitan_dhyk@yahoo.com.vn

DOI: 10.34071/jmp.2015.2.4

- Ngày nhận bài: 15/2/2015 * Ngày đồng ý đăng: 23/3/2015 * Ngày xuất bản: 30/3/2015

nghiệm. Dạng cốm tan TLTG đã được dùng để điều trị cho một số bệnh nhân. Kết quả bước đầu cho thấy bài thuốc TLTG có độ an toàn cao và hiệu quả tương đối tốt đối với bệnh lý PDLTTTL. Tuy nhiên, các dạng thuốc này còn có những hạn chế như khối lượng thuốc người bệnh phải dùng nhiều, thể tích thuốc uống lớn, chưa phù hợp trong quá trình sử dụng; tá dược trong cốm là glucose nên một số bệnh nhân không sử dụng được (bệnh nhân tiểu đường). Thêm vào đó, tiêu chuẩn dược liệu trước đây áp dụng theo Dược điển Việt Nam 3, hiện nay tiêu chuẩn dược liệu đã được nâng cao theo Dược điển Việt Nam 4. Vì vậy, các nhà Dược học đã tiến hành nghiên cứu và bào chế bài thuốc Tiên liệt thanh giải này thành dạng cốm tan tinh chế có chất lượng tốt, lượng thuốc uống phù hợp, người bệnh dễ dàng chấp nhận sử dụng trên lâm sàng. Và trước khi dạng cốm tan TLTG đã được tinh chế này được đưa vào sử dụng rộng rãi cho người bệnh cần nghiên cứu một cách đầy đủ về tính an toàn và tác dụng của thuốc. Nghiên cứu này nhằm đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của cốm tan Tiên liệt thanh giải.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- **Thuốc nghiên cứu:** cốm tan Tiên liệt thanh giải tinh chế được sản xuất tại Công ty cổ phần Dược phẩm Khang Minh, Tp Hồ Chí Minh.

- Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng (*Mus musculus*) chủng Swiss, cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 18 - 22g do Viện Vệ sinh dịch tễ cung cấp (Nghiên cứu độc tính cấp).

Thỏ chủng *Newzealand White*, cả 2 giống, khỏe mạnh, trọng lượng 2 - 2,5 kg, do Trung tâm dê, thỏ Ba Vì - Viện chăn nuôi cung cấp (Nghiên cứu độc tính bán trường diễn).

Động vật thực nghiệm được nuôi 3 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn dành riêng cho từng loại động vật (do Công ty liên doanh Guyomarc'h-VCN và Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương sản xuất) tại phòng thí nghiệm của Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội.

2.2. Dụng cụ máy móc và hóa chất nghiên cứu

- Hóa chất phục vụ nghiên cứu

Kit định lượng các enzym và các chất chuyển hóa trong máu: AST (aspartat transaminase), ALT (alanin transaminase), bilirubin toàn phần, protein, cholesterol toàn phần, creatinin của hãng Hospitex Diagnostics (Italy) và hãng DIALAB GmbH (Áo), dung dịch xét nghiệm máu ABX minidil LMG của hãng ABX -Diagnostics.

- Máy móc phục vụ nghiên cứu

Máy Vet abcTM Animal Blood Count của hãng Ugo-Basile (Italy).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu độc tính cấp của cốm tan Tiên liệt thanh giải theo đường uống trên chuột nhắt trắng (theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon)[4]

Chuột nhắt trắng trọng lượng $20 \pm 2g$ được chia thành từng lô, mỗi lô 10 con. Cho từng lô chuột uống thuốc thử với liều từ liều cao nhất không gây chết tới liều thấp nhất gây chết 100% chuột. Chuột được nhịn ăn 12 giờ trước khi uống thuốc, vẫn uống nước đầy đủ. Theo dõi số chuột chết trong 72 giờ đầu và tình trạng chung của chuột trong 7 ngày sau khi uống thuốc thử (ăn uống, hoạt động thần kinh, đi lại, leo trèo, bài tiết, ...). Nếu chuột chết, mổ chuột để đánh giá đại thể tổn thương của các cơ quan.

Xác định liều chết 50% (LD_{50}) theo tỷ lệ chuột chết trong vòng 72 giờ đầu.

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của cốm tan Tiên liệt thanh giải theo đường uống trên thỏ theo hướng dẫn của WHO[5]

Thỏ được chia làm 3 lô, mỗi lô 10 con, mỗi con nhốt riêng một chuồng.

- *Lô chứng:* uống nước lọc.

- *Lô trị 1:* uống cốm tan TLTG liều 1,2g/kg/ngày. (liều có tác dụng tương đương liều dự kiến trên người, tính theo hệ số 3)

- *Lô trị 2:* uống cốm tan TLTG liều 3,6g/kg/ngày (gấp 3 lần lô trị 1).

Thỏ được uống nước hoặc thuốc thử trong 3 tháng liền, 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 thỏ.

- Đánh giá chức phận tạo máu thông qua số lượng hồng cầu, thể tích trung bình hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, 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, bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol.

- Đánh giá chức năng thận thông qua định lượng nồng độ creatinin huyết thanh.

Các thông số theo dõi được kiểm tra vào trước lúc uống thuốc thử, sau 1 tháng, 2 tháng và 3 tháng uống thuốc thử.

- Mô bệnh học: sau 3 tháng uống thuốc thử, tất cả thỏ 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 thỏ ở mỗi lô.

2.4. Xử lý số liệu: Số liệu được nhập và xử lý bằng phương pháp và thuật toán thống kê y sinh học trên phần mềm SPSS 16. Số liệu được biểu diễn dưới dạng $\bar{x} \pm SD$. Kiểm định các giá trị bằng t-test Student hoặc test trước-sau (Avant – Apres). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Nghiên cứu độc tính cấp của cốm tan Tiền liệt thanh giải theo đường uống trên chuột nhắt trắng

Sau khi chuột uống thuốc theo liều tăng dần từ liều 45,0g/kg chuột đến liều 75,0g/kg chuột, quan sát thấy chuột vẫn khỏe mạnh, nhanh nhẹn, ăn uống, hoạt động bình thường. Không thấy có biểu hiện ngộ độc ở chuột và không có chuột nào chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc. Tiếp tục theo dõi trong 7 ngày sau uống thuốc, thấy chuột vẫn hoàn toàn bình thường, không có biểu hiện gì đặc biệt. Vì vậy chưa xác định được độc tính cấp và chưa tính được LD50 của cốm tan TLTG trên chuột nhắt trắng theo đường uống.

3.2. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn cốm tan Tiền liệt thanh giải theo đường uống trên thỏ

3.2.1. Tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng của thỏ

- Tình trạng chung: Trong suốt 3 tháng uống cốm tan TLTG và nước, thỏ ở tất cả các lô vẫn ăn uống tốt, ỉa phân khô, nhanh nhẹn, mắt sáng, lông mượt và hoạt động bình thường. Không thấy biểu hiện gì đặc biệt ở cả 3 lô thỏ trong suốt thời gian nghiên cứu.

- Sự thay đổi thể trọng của thỏ được thể hiện ở Bảng 1

Bảng 1. Ảnh hưởng của cốm tan TLTG đến thể trọng thỏ

Thời gian	Lô chứng		Lô trị 1		Lô trị 2		p so với chứng (t-test Student)
	Trọng lượng (kg)	% tăng trọng lượng	Trọng lượng (kg)	% tăng trọng lượng	Trọng lượng (kg)	% tăng trọng lượng	
Trước uống thuốc	1,95 ± 0,04		1,89 ± 0,08		1,91 ± 0,15		>0,05
Sau 1 tháng uống thuốc	2,32 ± 0,09	18,7 ± 4,2	2,28 ± 0,17	20,3 ± 7,5	2,32 ± 0,18	21,7 ± 9,1	>0,05
p (trước - sau)	***		***		***		
Sau 2 tháng uống thuốc	2,46 ± 0,14	26,2 ± 7,3	2,51 ± 0,20	33 ± 10,6	2,53 ± 0,21	32,9 ± 12,6	>0,05
p (trước - sau)	***		***		***		
Sau 3 tháng uống thuốc	2,5 ± 0,11	31,7 ± 5,9	2,63 ± 0,21	39 ± 12,9	2,65 ± 0,25	39,7 ± 15,3	>0,05
p (trước - sau)	***		***		***		

Ghi chú: *** : $p < 0,001$

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy: sau 1 tháng, 2 tháng và 3 tháng uống cốm tan TLTG, trọng lượng của

thỏ ở cả 3 lô (2 lô trị và lô chứng) đều tăng lên so với trước khi nghiên cứu ($p < 0,05$) nhưng mức độ

gia tăng trọng lượng của thỏ giữa lô chứng và các lô uống cốm tan TLTG không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$).

3.2.2. Ảnh hưởng của cốm tan Tiền liệt thanh giải lên chức năng tạo máu của thỏ

Sau 1 tháng, 2 tháng và 3 tháng uống cốm tan TLTG, 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 trị 1 và lô trị 2 đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so với trước khi dùng thuốc thử ($p > 0,05$).

3.2.3. Ảnh hưởng của cốm tan Tiền liệt thanh giải lên chức năng gan, thận của thỏ

Sau 1 tháng, 2 tháng và 3 tháng uống cốm tan TLTG, tất cả các xét nghiệm đánh giá chức năng gan (bao gồm hoạt độ AST, ALT, nồng độ albumin, cholesterol và bilirubin toàn phần trong máu), chức năng thận (nồng độ creatinin trong máu) ở cả lô trị 1 và lô trị 2 đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so với trước khi dùng thuốc thử ($p > 0,05$).

3.2.4. Ảnh hưởng của cốm tan Tiền liệt thanh giải trên mô bệnh học các cơ quan của thỏ

Về mặt đại thể các cơ quan

Trên tất cả các thỏ thực nghiệm (lô chứng và 2 lô trị) không quan sát thấy có thay đổi bệnh lý nào về mặt đại thể của các cơ quan tim, phổi, gan, lách, tụy, thận và hệ thống tiêu hoá của thỏ sau 3 tháng uống thuốc.

Hình thái vi thể gan và thận thỏ

- Trên cấu trúc vi thể gan, một số tế bào gan thấy hình ảnh thoái hóa mức độ nhẹ và vừa. Tuy

nhiên không có sự khác biệt về cấu trúc vi thể gan thỏ giữa 2 lô dùng thuốc thử so với lô chứng.

- Trên cấu trúc vi thể thận:

Ở lô chứng, 2/3 mẫu bệnh phẩm thấy hình ảnh cấu trúc vi thể cầu thận và ống thận bình thường và 1/3 mẫu bệnh phẩm thấy hình ảnh thoái hóa nhẹ của các tế bào ống lượn gần, bào tương của một số tế bào ống lượn gần có các hốc sáng nhỏ, hình ảnh cầu thận bình thường.

Ở 2 lô uống cốm tan Tiền liệt thanh giải, 1/3 mẫu bệnh phẩm thấy hình ảnh cấu trúc vi thể cầu thận và ống thận bình thường và 2/3 mẫu bệnh phẩm thấy hình ảnh thoái hóa nhẹ của các tế bào ống lượn gần, bào tương của một số tế bào ống lượn gần có các hốc sáng nhỏ, hình ảnh cầu thận bình thường.

4. KẾT LUẬN

4.1. Về độc tính cấp

Với liều 75g/kg chuột (gấp 15,6 lần liều có tác dụng tương đương liều điều trị), cốm tan TLTG chưa gây độc tính cấp cho chuột nhắt trắng, chưa xác định được liều gây chết 50% (LD_{50}) trên chuột nhắt trắng theo đường uống.

4.2. Về độc tính bán trường diễn

Uống cốm tan TLTG với 2 liều 1,2g/kg/ngày (liều có tác dụng tương đương liều điều trị) và liều cao gấp 3 lần (3,6g/kg/ngày) liên tục trong 3 tháng không làm ảnh hưởng xấu đến tình trạng chung và mức độ gia tăng trọng lượng của thỏ, không thấy biểu hiện độc đối với hệ thống tạo máu, không ảnh hưởng đến các chỉ số đánh giá chức năng gan, thận và chưa khẳng định được tổn thương cấu trúc trên gan và thận của thỏ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Văn Sáng (1996), “Bướu tiền liệt tuyến”, *Những bệnh thường gặp trong nội học*, Tập I, Nhà xuất bản Mũi Cà Mau, tr. 7 - 15.
2. Tanagho E. A. (1986), “Anatomy of the lower urinary tract”, *Anatomy and surgical approach to the urogenital tract*, pp. 62 - 64.
3. Hoàng Bảo Châu (1997), *Phương thuốc cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học Hà Nội, tr. 299 - 300.
4. Litchfield, Wilcoxon (1949), “A simplified method of evaluating dose-effect experiments”, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, pp. 99 – 113.
5. WHO (2000), “General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine”.