

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA VIÊN NANG CỨNG OROXYL TRÊN THỰC NGHIỆM

Nguyễn Thái Biêng; Nguyễn Văn Long*; Trương Ngọc Dương**

TÓM TẮT

Viên nang cứng oroxyl là chế phẩm được bào chế từ quả Nhàu, vỏ Núc nác và Cúc hoa vàng, có tác dụng tăng cường miễn dịch và chống oxy hoá. Chế phẩm đạt tiêu chuẩn cơ sở. Tuy nhiên, chưa có công trình nào nghiên cứu về tính an toàn của nó. Kết quả nghiên cứu cho thấy: thỏ uống oroxyl với liều 0,8 g và 1,2 g/kg/24 giờ, liên tục trong 42 ngày không ảnh hưởng đến sự phát triển trọng lượng, không làm thay đổi điện tim thỏ, các chỉ số huyết học như hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu và hàm lượng hemoglobin. Các chỉ số đánh giá chức năng gan (hoạt độ AST, ALT), thận (nồng độ urea, creatinine) trong giới hạn bình thường. Hình ảnh mô bệnh học gan, thận và lách thỏ bình thường.

* Từ khoá: Oroxyl; Chỉ số huyết học; Chức năng gan, thận; AST; ALT; Ure; Creatinine.

RESEARCH ON SUBACUTE TOXICITY OF OROXYL CAPSULE ON EXPERIMENTAL ANIMALS

SUMMARY

Oroxyl is the product made from Fructus Morinda citrifolia, Oroxylum indicum Cortex and Flos Chrysanthemi for an antioxidant and immunity enhancement. The product met institutional standards but there was no research on its safety. The results showed that: oral administration of oroxyl on rabbits at the dose of 0.8 g and 1.2 g/kg/24 hours, continuously administrating for 42 days did not influence their weight, electrocardiogram and haematological indexes such as red blood cells, white blood cells, platelets and haemoglobin contents. The hepatic indexes (levels of AST, ALT) and renal indexes (levels of urea, creatinine) were in normal range. The pathological histology of rabbits' liver, kidney and spleen is normal.

* *Key words: Oroxyl; Haematological indexes; Hepatic and renal function; AST; ALT; Urea; Creatinine.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Suy giảm miễn dịch là hội chứng thường gặp ở nhiều bệnh. Ngoài việc sử dụng các thuốc hóa dược, xu hướng nghiên cứu các thuốc có nguồn gốc tự nhiên đang được quan tâm. Nhiều nghiên cứu cho thấy, quả Nhàu, Cúc hoa vàng và vỏ Núc nác có khả năng

tăng cường miễn dịch, chống oxy hoá và ức chế virus HIV. Xuất phát từ nhu cầu thực tế, Học viện Quân y đã bào chế thành công viên nang cứng oroxyl từ quả Nhàu, vỏ Núc nác và Cúc hoa vàng. Chế phẩm đạt tiêu chuẩn cơ sở. Để có thể triển khai áp dụng trên người, cần có nghiên cứu tiền lâm sàng, trong đó nghiên cứu độc tính bán trường diễn.

* Học viện Quân y

Phản biện khoa học: PGS. TS. Nguyễn Văn Minh

**ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP
NGHIÊN CỨU**

1. Đối tượng nghiên cứu.

Thỏ 36 con (trọng lượng từ 1,8 - 2,2 kg/con) đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, chia ngẫu nhiên thành 3 lô, mỗi lô 12 con:

- Lô chứng: uống dung dịch natri chloride 0,9%, liều 2,5 ml/kg/24 giờ, liên tục trong 42 ngày.

- Lô thử liều 1: uống oroxyl mức liều 0,8 g/kg/24 giờ, liên tục trong 42 ngày.

- Lô thử liều 2: uống oroxyl mức liều 1,2 g/kg/24 giờ, liên tục trong 42 ngày.

2. Phương pháp nghiên cứu.

Theo phương pháp Abraham, quy định của Tổ chức Y tế Thế giới và Bộ Y tế về hiệu lực và an toàn thuốc.

* Các chỉ tiêu đánh giá:

- Chỉ tiêu chung: theo dõi tình trạng chung, hoạt động, ăn uống, đặc biệt là trọng lượng cơ thể và điện tim.

- Huyết học: hồng cầu, hemoglobin, bạch cầu và tiểu cầu.

- Sinh hóa: AST, ALT, ure, creatinine.

- Mô bệnh học: vào ngày thứ 42, giết thỏ. Quan sát hình ảnh đại thể gan, lách và thận. Sau đó sinh thiết các tạng để nghiên cứu hình ảnh mô bệnh học của tất cả thỏ thực nghiệm.

* Thời điểm xét nghiệm: lấy máu xét nghiệm các chỉ số sinh hóa, huyết học, ghi điện tim tại 3 thời điểm: xuất phát điểm, sau 3 tuần và sau 6 tuần nghiên cứu. Thời gian theo dõi: 6 tuần.

* Xử lý kết quả nghiên cứu: theo phương pháp thông kê sinh y học, sử dụng phần mềm Microsoft excel, StatView 501.

**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ
BÀN LUẬN**

1. Ảnh hưởng của oroxyl đến trọng lượng thỏ.

Bảng 1: Ảnh hưởng của oroxyl đối với trọng lượng cơ thể thỏ (n = 36).

THỜI ĐIỂM NGHIÊN CỨU	TRỌNG LƯỢNG CƠ THỂ (kg, $\bar{x} \pm SD$) Ở CÁC LÔ NGHIÊN CỨU			P
	Chứng	Oroxyl liều 1	Oroxyl liều 2	
t ₀	2,00 ± 0,12	1,99 ± 0,13	1,98 ± 0,12	> 0,05
t ₃	2,10 ± 0,12	2,09 ± 0,13	2,08 ± 0,12	
t ₆	2,22 ± 0,12	2,21 ± 0,11	2,20 ± 0,10	
	P _{3-0, 6-3, 6-0} < 0,05			-

Trọng lượng cơ thể của thỏ ở 2 lô dùng oroxyl và lô chứng sinh học tại các thời điểm thay đổi không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05). So sánh giữa các thời điểm sau so với trước thấy trọng lượng cơ thể thỏ của 3 lô đều tăng, sự thay đổi có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).

2. Ảnh hưởng đến điện tim thỏ.

Bảng 2: Ảnh hưởng của oroxyl đối với điện tim thỏ (n = 12).

THỜI ĐIỂM NGHIÊN CỨU	LÔ CHỨNG	OROXYL LIỀU 1	OROXYL LIỀU 2	p
Tần số tim (CK/phút, $\bar{X} \pm SD$)				
t ₀	265,88 ± 37,62	260, 38 ± 50, 37	270,00 ± 33,82	> 0,05
t ₃	264,00 ± 36,02	260,75 ± 49,29	270,63 ± 22,07	
t ₆	264,88 ± 37,10	259,50 ± 49,07	265,38 ± 33,50	
	p _{3-0, 6-3, 6-0} > 0,05			-
Biên độ QRS (mV, $\bar{X} \pm SD$)				
t ₀	0,354 ± 0,063	0,356 ± 0,092	0,363 ± 0,066	> 0,05
t ₃	0,355 ± 0,061	0,358 ± 0,089	0,361 ± 0,064	
t ₆	0,356 ± 0,061	0,359 ± 0,097	0,360 ± 0,052	
	p _{3-0, 6-3, 6-0} > 0,05			-
Sóng bất thường	Không	Không	Không	-

Trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm và giữa các lô ở cùng một thời điểm, tần số và biên độ của điện tim thỏ thay đổi không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05). Không có sóng bất thường trên điện tim thỏ ở các lô và tại những thời điểm nghiên cứu.

3. Ảnh hưởng đến một số chỉ tiêu về huyết học của thỏ.

Bảng 3: Chỉ số hồng cầu, huyết sắc tố, bạch cầu và tiểu cầu thỏ ở các lô nghiên cứu (n = 12, $\bar{X} \pm SD$).

CHỈ TIÊU	THỜI ĐIỂM NGHIÊN CỨU	CHỨNG	OROXYL LIỀU 1	OROXYL LIỀU 2	p
Hồng cầu (10 ¹² /l)	t ₀	4,64 ± 0,41	4,94 ± 0,71	5,22 ± 0,75	> 0,05
	t ₃	5,06 ± 0,57	4,83 ± 0,59	5,24 ± 0,26	
	t ₆	4,92 ± 0,50	4,80 ± 0,19	5,05 ± 0,24	
	p	p _{3-0, 6-3, 6-0} > 0,05			-

TẠP CHÍ Y - D- ỢC HỌC QUÂN SỰ SỐ 7-2011

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Huyết sắc tố (g/l)	t ₀	107,38 ± 7,35	110,00 ± 10,47	115,50 ± 14,37	> 0,05
	t ₃	115,63 ± 12,12	109,13 ± 10,99	114,38 ± 8,09	
	t ₆	111,63 ± 8,63	112,13 ± 6,38	113,75 ± 7,50	
	p	p _{3-0, 6-3, 6-0} > 0,05			-
Bạch cầu (10 ⁹ /l)	t ₀	5,99 ± 2,10	5,91 ± 2,50	6,99 ± 0,82	> 0,05
	t ₃	6,29 ± 1,87	6,19 ± 1,96	6,91 ± 0,97	
	t ₆	6,44 ± 1,80	6,05 ± 1,45	7,01 ± 0,71	
	p	p _{3-0, 6-3, 6-0} > 0,05			-
Tiểu cầu (10 ⁹ /l)	t ₀	452,25 ± 123,83	437,63 ± 131,81	459,38 ± 124,54	> 0,05
	t ₃	503,38 ± 83,25	441,25 ± 130,39	481,75 ± 204,42	
	t ₆	472,29 ± 168,91	451,00 ± 112,57	452,43 ± 89,62	
	p	p _{3-0, 6-3, 6-0} > 0,05			-

Trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm và giữa các lô ở cùng một thời điểm, số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu và hàm lượng huyết sắc tố thay đổi không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

4. Ảnh hưởng đối với chức năng gan, thận thỏ thực nghiệm.

Bảng 4: Hoạt độ AST và ALT (U/l) của các lô thử nghiệm cứu (n = 12, $\bar{X} \pm SD$).

CHỈ TIÊU	THỜI ĐIỂM NGHIÊN CỨU	CHỨNG	OROXYL LIỀU 1	OROXYL LIỀU 2	p
AST (U/l)	t ₀	57,51 ± 18,98	58,04 ± 19,58	58,09 ± 19,63	> 0,05
	t ₃	57,73 ± 17,06	57,65 ± 19,86	58,31 ± 16,38	
	t ₆	57,91 ± 18,84	57,70 ± 17,73	57,84 ± 17,27	
	p	p _{3-0, 6-3, 6-0} > 0,05			-
ALT (U/l)	t ₀	112,38 ± 16,52	111,75 ± 16,30	112,50 ± 16,58	> 0,05
	t ₃	112,13 ± 18,07	111,88 ± 14,50	112,75 ± 17,07	
	t ₆	112,88 ± 20,36	112,00 ± 13,61	112,63 ± 12,48	
	p	p _{3-0, 6-3, 6-0} > 0,05			-

Trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm và giữa các lô ở cùng một thời điểm, hoạt độ enzym AST và ALT thay đổi không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

Bảng 5: Nồng độ ure và creatinine máu thử ở các lô nghiên cứu (n = 12, $\bar{x} \pm SD$).

CHỈ TIÊU	THỜI ĐIỂM NGHIÊN CỨU	CHỨNG	OROXYL LIỀU 1	OROXYL LIỀU 2	p
Urea (mmol/l)	t ₀	3,51 ± 1,08	3,49 ± 1,13	3,46 ± 1,04	> 0,05
	t ₃	3,53 ± 0,95	3,43 ± 0,84	3,44 ± 0,90	
	t ₆	3,53 ± 1,16	3,50 ± 0,61	3,40 ± 0,87	
	p	p _{3-0, 6-3, 6-0} > 0,05			-
Creatinine (mcmol/l)	t ₀	53,75 ± 8,45	54,25 ± 9,68	53,38 ± 9,66	> 0,05
	t ₃	53,63 ± 8,70	54,13 ± 8,48	54,25 ± 7,38	
	t ₆	53,88 ± 8,82	54,25 ± 9,42	54,50 ± 8,42	
	p	p _{3-0, 6-3, 6-0} > 0,05			-

Trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm và giữa các lô ở cùng một thời điểm, nồng độ ure và creatinine máu thay đổi không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

5. Mô bệnh học gan, thận và lách của thỏ thí nghiệm.

Kết thúc nghiên cứu, gây mê thỏ nhẹ bằng ketamine 5%. Sau đó, phẫu tích bóc tách các cơ quan gan, lách và thận. Quan sát và so sánh đại thể bằng mắt thường và dưới kính lúp có độ phóng đại 25 lần, thấy: màu sắc, hình thái của gan, lách và thận ở 2 lô thỏ uống oroxyl không có sự khác biệt so với lô chứng.

Kết quả về hình ảnh mô bệnh học các tạng gan, lách, thận cho thấy:

- Tế bào gan bình thường, bào tương thuần nhất, cấu trúc các tiểu thụ gan rõ. Cấu trúc khoảng cửa bình thường, tĩnh mạch trung tâm tiểu thụ xung huyết nhẹ, không thấy hình ảnh tổn thương.

- Thận màu nâu nhạt, cấu trúc vùng vỏ rõ ràng, cấu trúc vùng tủy bình thường, khoang Bowman rõ, ống thận đều, mô thận bình thường, không thấy hình ảnh tổn thương.

- Lách màu nâu đậm, cấu trúc vùng tủy trắng và các nang lympho rõ ràng, mạch máu xung huyết nhẹ, cấu trúc xoang bình thường.

KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu độc tính bán truyền diễn của oroxyl trên thỏ thực nghiệm, chúng tôi rút ra kết luận sau:

Thỏ uống oroxyl với liều dùng 0,8 g và 1,2 g/kg/24 giờ, liên tục trong 42 ngày không ảnh hưởng đến phát triển trọng lượng, không biến đổi điện tim. Các chỉ số huyết học như hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu và hàm lượng hemoglobin không biến đổi. Các chỉ số đánh giá chức năng gan (nồng độ AST, ALT), thận (nồng độ ure và creatinine) trong giới hạn bình thường. Hình ảnh mô bệnh học gan, thận và lách bình thường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế. Quy chế đánh giá tính an toàn và hiệu lực thuốc cổ truyền. Quyết định số 371/BYT- QĐ ngày 12/3/1996. 1996.
2. Đỗ Tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y học. Hà Nội. 2001, tr.883-884.
3. Võ Văn Chi. Từ điển cây thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y học. Hà Nội. 1997.
4. Abrham W.B. Techniques of animal and clinical toxicology. Med Pub Chicago. 1978, pp.55-68.
5. Bergmeyer H.U. Method of enzymatic analysis. Academic Press. New York and London. 1965. pp.3-42.
6. Ernest Beutler. Red cell metabolism: A manual of biochemical methods. Grume & Stratton InC. New York, 1975, pp.69-73.
7. Turner A. Screening methods in pharmacology. Academic Press. New York and London. 1965, pp.60-68.
8. WHO. Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines. Manila, Philippine. 1993, pp.35