

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ ẢNH HƯỞNG CỦA VIÊN NANG DƯỠNG TÂM ĐAN ĐỐI VỚI TRẠNG THÁI CHUNG VÀ CHỈ SỐ HUYẾT HỌC Ở ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

NGUYỄN MINH HÀ, NGUYỄN CÔNG THỰC
Viện YHCT Quân đội

TÓM TẮT

Viên nang dưỡng tâm đan được dùng đánh giá độc tính cấp trên chuột nhắt trắng và ảnh hưởng trên thể trạng, cân nặng và chức năng hệ thống tạo máu trên thỏ thực nghiệm. Kết quả nghiên cứu cho thấy: Viên nang dưỡng tâm đan không gây độc tính cấp trên chuột nhắt với liều 60g/kg cân nặng (tương ứng với 12,5 lần liều dùng trên lâm sàng). Sau 4 tuần uống viên nang dưỡng tâm đan liên tục với liều 0,28 và 0,84g/kg, thuốc không ảnh hưởng đến trạng thái chung cũng như các thông số đánh giá chức năng tạo máu của thỏ.

Từ khóa: Viên nang dưỡng tâm đan

SUMMARY

The capsule of Duong Tam Dan was used to evaluate the acute toxicity on white mice and evaluate its effects on their health, body weight and hematopoietic function. It was shown in the result that the dose of 60g/kg (equivalent to 12.5 times of clinical dose) had caused no acute toxicities on the animals. The continuous usage of doses 0.28 and 0.48g/kg in 4 weeks caused no effects on mice health condition and their hematopoietic function criteria.

Keywords: Duong Tam Dan

ĐẶT VẤN ĐỀ

Viên nang dưỡng tâm đan được nghiên cứu bào chế từ bài thuốc “Huyết phủ trục ứ thang” gồm các vị thuốc: Đương quy, Ngưu tất, Hồng hoa, Sinh địa, Đào nhân, Chỉ xác, Xích thực, Sài hồ, Cam thảo, Cát cánh, Xuyên khung để điều trị các chứng bệnh do huyết ứ của y học cổ truyền như: đau đầu, đau thắt ngực, thống kinh, bế kinh...[2][3]. Để có cơ sở khoa học chắc chắn về độ an toàn của viên nang dưỡng tâm đan, trước khi tiến hành nghiên cứu và đánh giá hiệu quả của thuốc trên lâm sàng[1]. Chúng tôi tiến hành nghiên cứu độc tính cấp và ảnh hưởng của viên nang dưỡng tâm đan lên thể trạng và hệ thống tạo máu ở động vật thực nghiệm.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên liệu và đối tượng nghiên cứu

* **Nguyên liệu:** các vị thuốc: Đương quy, Ngưu tất, Hồng hoa, Sinh địa, Đào nhân, Chỉ xác, Xích thực, Sài hồ, Cam thảo, Cát cánh, Xuyên khung được bào chế, chiết suất, cô cao, sấy khô theo... qui trình thống nhất tại khoa dược Viện Y học cổ truyền Quân đội và được đóng dưới dạng viên nang, trước khi dùng hòa với nước ấm đến dạng lỏng thích hợp cho thí nghiệm.

* **Động vật thực nghiệm:**

- Chuột nhắt trắng giống Swiss, trọng lượng 18 -

20 g do Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương cung cấp. Động vật thực nghiệm được nuôi trong điều kiện chuồng thoáng mát, đảm bảo hợp vệ sinh, chế độ ăn uống theo nhu cầu của chuột.

- Thỏ khoẻ mạnh cả hai giống, trọng lượng từ 2,0-2,5 kg do Trung tâm Chăn nuôi Viện Kiểm nghiệm Bộ Y tế cung cấp. Động vật thực nghiệm được nuôi tại phòng thí nghiệm Viện kiểm nghiệm thuốc trung ương, bằng thức ăn chuẩn dành cho mỗi loại, uống nước tự do.

- Hóa chất và thiết bị: dung dịch xét nghiệm máu ABX Minidil LMG của hãng ABX Diagnostics, định lượng trên máy Vet ABC TM Animal Blood Counter.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Nghiên cứu độc tính cấp

- Chuột được nhịn ăn 15 giờ trước khi thí nghiệm, nước uống theo nhu cầu. Kiểm tra cân nặng trước khi thử nghiệm, chuột đạt các yêu cầu về cân nặng được đưa vào thử nghiệm.

- Cách dùng: Đưa mẫu thử dưới dạng hỗn dịch theo đường uống, lấy thể tích mẫu thử theo quy định, cho chuột uống bằng kim cong đầu tù.

- Dựa trên kết quả thăm dò trong thử nghiệm sơ bộ, tiến hành thử nghiệm chính thức trên 40 chuột, chia thành 4 nhóm gồm 1 nhóm chứng dùng nước cất và 3 nhóm dùng thuốc thử theo mức liều đã dự định: 20,0g/kg chuột, 40,0g/kg chuột, 60,0g/kg chuột; theo dõi biểu hiện của chuột sau khi uống trong 24 giờ đầu và theo dõi hoạt động của động vật thí nghiệm trong thời gian 7 ngày sau khi uống. Dựa vào tỷ lệ chuột chết tính LD50 của viên nang dưỡng tâm đan theo phương pháp Litchfield-Wilcoxon.

2.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của viên nang Dưỡng tâm đan đối với thể trạng và hệ thống tạo máu

Thỏ được chia thành 3 lô, mỗi lô 7 con, mỗi con nhốt riêng một chuồng.

Lô chứng (n = 7): uống dung dịch NaCl 0,9% liều 5ml/kg/ngày;

Lô thử 1 (n = 7): uống thuốc thử Dưỡng tâm đan liều 0,28g/kg/ngày;

Lô thử 2 (n = 7): uống thuốc thử Dưỡng tâm đan liều 0,84g/kg/ngày (gấp 3 lần liều ở lô thử 1).

Thỏ ở cả 3 lô được uống dung dịch NaCl 0,9% hoặc thuốc nghiên cứu trong 4 tuần liên, mỗi ngày một lần vào 8 giờ sáng với thể tích 5ml/kg.

Trước thí nghiệm, xác định cân nặng của thỏ, các dấu hiệu toàn thân, lấy máu xét nghiệm đánh giá các chỉ số huyết học (số lượng hồng cầu, hemoglobin, hematocrit, bạch cầu, tiểu cầu). Theo dõi cân nặng của thỏ hàng tuần. Sau 28 ngày uống thuốc, xác định

cân nặng của thỏ và lấy máu để làm các xét nghiệm như trên. So sánh kết quả của nhóm thử và nhóm chứng theo phương pháp thống kê.

2.3. Phương pháp 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-Après). Sự khác biệt có ý nghĩa khi $P < 0,05$.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Độ tính cấp

Sau khi cho các lô chuột uống thuốc thử theo liều tăng dần từ 20g/kg đến 60g/kg chuột (tương ứng với khoảng 40 - 120 viên mẫu thử/kg chuột/ngày) không nhận thấy biểu hiện gì khác thường, không nhận thấy biểu hiện ngộ độc trên chuột thí nghiệm trong thời gian theo dõi. Tất cả chuột vẫn ăn uống, hoạt động

Thời gian	Lô chứng		Lô thử 1 (0,28g/kg)		Lô thử 2 (0,84g/kg)		P (so với nhóm chứng)
	Trọng lượng ($\bar{X} \pm SD$)	Δ (mt- m0)	Trọng lượng ($\bar{X} \pm SD$)	Δ (mt- m0)	Trọng lượng ($\bar{X} \pm SD$)	Δ (mt- m0)	
Trước uống thuốc	2,47 ± 0,7		2,36 ± 0,08		2,37 ± 0,09		$P_{T1-C} > 0,05$ $P_{T2-C} > 0,05$
Sau 1 tuần	2,52 ± 0,06	0,04 ± 0,02	2,36 ± 0,06	0,00 ± 0,05	2,41 ± 0,11	0,04 ± 0,05	
Sau 2 tuần	2,53 ± 0,11	0,06 ± 0,05	2,35 ± 0,07	-0,01 ± 0,07	2,46 ± 0,12	0,09 ± 0,07	
Sau 3 tuần	2,59 ± 0,12	0,12 ± 0,09	2,45 ± 0,06	0,08 ± 0,06	2,54 ± 0,14	0,17 ± 0,08	
Sau 4 tuần	2,64 ± 0,09	0,17 ± 0,05	2,50 ± 0,08	0,14 ± 0,05	2,55 ± 0,13	0,18 ± 0,09	$P_{T1-C} > 0,05$ $P_{T2-C} > 0,05$
P (sau 4 tuần)	< 0,001		< 0,001		< 0,01		

Kết quả bảng 1 cho thấy: cân nặng trung bình của thỏ ở các nhóm thử trước khi đưa vào thí nghiệm không có sự khác biệt so với chứng ($p > 0,05$). Sau 28 ngày thử nghiệm, thỏ ở các nhóm thử và chứng đều tăng cân rõ rệt ($P < 0,001$; 0,01), nhưng không có sự khác biệt về mức độ gia tăng trọng lượng thỏ giữa lô chứng và các lô dùng thuốc không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

2.3. ảnh hưởng của viên nang Dưỡng tâm đan lên một số chỉ số huyết học của thỏ

Bảng 2. ảnh hưởng của viên nang Dưỡng tâm đan đến số lượng hồng cầu trong máu thỏ

Thời gian	Số lượng hồng cầu (T/L)			P (trước thí nghiệm)
	Lô chứng ($\bar{X} \pm SD$)	Lô thử 1 (0,28g/kg) ($\bar{X} \pm SD$)	Lô thử 2 (0,84g/kg) ($\bar{X} \pm SD$)	
Trước uống thuốc	6,06 ± 0,39	6,06 ± 0,40	6,19 ± 0,43	$P_{C-T1} > 0,05$ $P_{C-T2} > 0,05$
Sau 4 tuần uống thuốc	5,78 ± 0,33	5,71 ± 0,29	6,04 ± 0,20	
P (sau 4 tuần)		$P_{C-T1} > 0,05$	$P_{C-T2} < 0,05$	

Bảng 3. ảnh hưởng của viên nang Dưỡng tâm đan đến hàm lượng huyết sắc tố trong máu thỏ

Thời gian	Huyết sắc tố (g/dl)			P (trước thí nghiệm)
	Lô chứng ($\bar{X} \pm SD$)	Lô thử 1 (0,28g/kg) ($\bar{X} \pm SD$)	Lô thử 2 (0,84g/kg) ($\bar{X} \pm SD$)	
Trước uống thuốc	12,9 ± 0,8	12,8 ± 0,7	13,2 ± 0,6	$P_{C-T1} > 0,05$ $P_{C-T2} > 0,05$
Sau 4 tuần uống thuốc	11,6 ± 0,6	11,5 ± 0,3	12,1 ± 0,1	
P (sau 4 tuần)		$P_{C-T1} > 0,05$	$P_{C-T2} < 0,05$	

bình thường, không xác định được liều gây chết 50% động vật thí nghiệm (LD50) vì không tìm được liều gây chết chuột.

2. Tình trạng chung và sự thay đổi trọng lượng của thỏ sau uống thuốc

2.1. Tình trạng chung

Trong suốt thời gian thí nghiệm, thỏ ở cả 3 lô vẫn ăn uống, hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, lông mượt, mắt sáng, phân khô. Không thấy biểu hiện gì đặc biệt ở cả 3 lô thỏ trong suốt thời gian nghiên cứu.

2.2. ảnh hưởng của viên nang Dưỡng tâm đan đến trọng lượng thỏ

Bảng 1. ảnh hưởng của viên nang Dưỡng tâm đan đến trọng lượng thỏ

Bảng 4. ảnh hưởng của viên nang Dưỡng tâm đan đến hematocrit trong máu thỏ

Thời gian	Hematocrit (%)			P (trước thí nghiệm)
	Lô chứng ($\bar{X} \pm SD$)	Lô thử 1 (0,28g/kg) ($\bar{X} \pm SD$)	Lô thử 2 (0,84g/kg) ($\bar{X} \pm SD$)	
Trước uống thuốc	39,3 ± 2,4	39,2 ± 2,3	40,5 ± 2,3	$P_{C-T1} > 0,05$ $P_{C-T2} > 0,05$
Sau 4 tuần uống thuốc	38,1 ± 1,9	37,4 ± 1,2	39,5 ± 0,5	
P (sau 4 tuần)		$P_{C-T1} > 0,05$	$P_{C-T2} < 0,05$	

Bảng 5. ảnh hưởng của viên nang Dưỡng tâm đan đến số lượng bạch cầu trong máu thỏ

Thời gian	Số lượng bạch cầu (G/L)			P (trước thí nghiệm)
	Lô chứng ($\bar{X} \pm SD$)	Lô thử 1 (0,28g/kg) ($\bar{X} \pm SD$)	Lô thử 2 (0,84g/kg) ($\bar{X} \pm SD$)	
Trước uống thuốc	8,59 ± 0,97	9,59 ± 0,88	8,99 ± 0,92	$P_{C-T1} > 0,05$ $P_{C-T2} > 0,05$
Sau 4 tuần uống thuốc	8,79 ± 0,67	9,53 ± 1,33	9,36 ± 0,87	
P (sau 4 tuần)		$P_{C-T1} > 0,05$	$P_{C-T2} < 0,05$	

Bảng 6. ảnh hưởng của viên nang Dưỡng tâm đan đến số lượng tiểu cầu trong máu thỏ

Thời gian	Số lượng tiểu cầu (G/L)			P (trước thí nghiệm)
	Lô chứng ($\bar{X} \pm SD$)	Lô thử 1 (0,28g/kg) ($\bar{X} \pm SD$)	Lô thử 2 (0,84g/kg) ($\bar{X} \pm SD$)	
Trước uống thuốc	299,1 ± 58,0	303,9 ± 73,4	326,0 ± 60,7	$P_{C-T1} > 0,05$ $P_{C-T2} > 0,05$
Sau 4 tuần uống thuốc	302,0 ± 31,7	295,2 ± 54,6	316,6 ± 102,8	
P (sau 4 tuần)		$P_{C-T1} > 0,05$	$P_{C-T2} < 0,05$	

Kết quả nghiên cứu ở các bảng 2, 3, 4, 5, 6 cho thấy, trước khi thử nghiệm các thử thí nghiệm được kiểm tra các thông số về huyết học thì không có sự khác biệt giữa nhóm chứng và 2 nhóm thử ($p > 0,05$). sau 4 tuần uống thuốc, các chỉ số về huyết học ở 2 lô thử so với lô chứng cơ bản thay đổi không có ý nghĩa thống kê, ở lô thử 2 chỉ số Hồng cầu so với lô chứng sự thay đổi có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) nhưng số lượng giảm hơn là ở lô chứng.

BÀN LUẬN:

1. Độc tính cấp của viên nang dưỡng tâm đan

Cho chuột uống thuốc thử đến liều cao nhất có thể được (nồng độ và thể tích tối đa cho phép) là 60g/kg thể trọng nhưng chưa thấy biểu hiện ngộ độc và không có chuột nào chết trong vòng 72 giờ, vì vậy chưa xác định được LD50 trên chuột nhắt trắng theo đường uống.

Liều 60g/kg chuột nhắt trắng tương đương trên người 5g/kg (tính theo hệ số 12). Như vậy với nếu so với liều thường dùng trên người theo kinh nghiệm dân gian là 0,4g/kg thì liều gấp 12,5 lần vẫn chưa gây độc. Điều này cho thấy mẫu thử viên nang dưỡng tâm đan có độc tính rất thấp.

2. Tình trạng chung và trọng lượng cơ thể

Các kết quả nghiên cứu thu được cho thấy: sau 4 tuần uống thuốc liên tục thỏ ở tất cả các lô đều ăn

uống, hoạt động bình thường, lông mượt, phân không thay đổi. Trọng lượng thỏ ở cả 3 lô (1 lô chứng và 2 lô thử) đều tăng so với trước khi dùng thuốc, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$; $0,001$). So sánh sự tăng cân giữa các nhóm nghiên cứu và nhóm chứng thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê chứng tỏ thuốc nghiên cứu không ảnh hưởng đến quá trình tăng cân của thỏ.

3. Ảnh hưởng trên cơ quan tạo máu

Kết quả thu được ở các bảng từ 2 đến 6 cho thấy các chỉ số dùng để đánh giá chức năng hệ thống tạo máu của cơ thể như số lượng Hồng cầu, Huyết sắc tố, Hematocrit, số lượng Bạch cầu và số lượng Tiểu cầu của 2 nhóm thử đều không thay đổi có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng ($p > 0,05$) hoặc thay đổi có ý nghĩa thống kê thì chỉ số nhóm chứng lại giảm hơn. Điều đó chứng tỏ viên nang dưỡng tâm đan với liều 0,28g/kg và 0,84g/kg không làm ảnh hưởng tới chức phận hệ thống tạo máu của thỏ thực nghiệm.

KẾT LUẬN

- Viên nang dưỡng tâm đan liều 60g/kg chuột nhắt là liều gấp 12,5 lần liều thường dùng trên người không gây độc tính cấp.

- Viên nang dưỡng tâm đan liều 0,28g/kg và 0,84g/kg thể trọng thỏ sau 4 tuần dùng liên tục làm tăng trọng lượng thỏ so với trước nghiên cứu, không ảnh hưởng tới thể trạng và chức năng hệ thống tạo máu của thỏ thực nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ y tế (1996), Hướng dẫn kèm theo quyết định số 371/BYT-QĐ ngày 12/3/1996 về xác định độ an toàn cho thuốc cổ truyền Bộ Y tế.

2. Giang Khắc Minh, Bao Minh Huệ. Giải minh phương tế tử điển (Tái bản lần 2). NXB Khoa học kỹ thuật Thượng Hải, 2002: 502 (tiếng Trung).

3. Lưu Công Vọng. Phương tế học. NXB Hoa Hạ, 2001: 356 (tiếng Trung).