

ĐÁNH GIÁ ĐỘ TÍNH CẤP VÀ ĐỘ TÍNH BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA NP(H) TRÊN THỰC NGHIỆM

Bùi Thị Thu Hà^{1,2}, Vũ Mạnh Hùng³, Nguyễn Thanh Hải⁴

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá độc tính cấp (LD_{50}) và độc tính bán trường diễn của NP(H) chiết xuất từ rễ tam thất trên động vật thực nghiệm. **Đối tượng và phương pháp:** Xác định độc tính cấp (LD_{50}) của NP(H) trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo quy định của Bộ Y tế Việt Nam và Hướng dẫn của WHO. **Kết quả:** NP(H) uống tới mức liều 6.000 mg/kg/ngày không gây chết chuột, NP(H) rất ít độc. NP(H) với 2 mức liều 200 và 900 mg/kg/ngày, uống liên tục trong 90 ngày, không gây ảnh hưởng tới các chỉ số chức năng, hình thái của động vật thực nghiệm. **Kết luận:** NP(H) chiết từ rễ củ tam thất đã hấp qua nhiệt trên thực nghiệm rất ít độc.

* Từ khóa: Tam thất; Hấp hơi nóng; NP(H); LD_{50} ; Độc tính bán trường diễn.

Evaluation of Acute and Subchronic Toxicity of NP(H) in Experiment

Summary

Objectives: To evaluate acute (LD_{50}) and subchronic toxicity on NP(H) in animals. **Subjects and methods:** According to the regulations of the Vietnam Ministry of Health, and the guidelines of WHO. **Results:** NP(H) taken up to a dose of 6,000 mg/kg/day did not cause death on mice, and NP(H) was not toxic. NP(H) with the dose of 200 and 900 mg/kg/day per oral, taken continuously for 90 days, did not affect the functional and morphological indicators of experimental animals. **Conclusions:** NP(H) has very low toxicity.

* Keywords: Steaming process; Roots of Panax Notoginseng; NP(H), Lethal Dose 50 (LD_{50}) subchronic toxicity.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong công trình trước đây, nhóm nghiên cứu của chúng tôi đã công bố kết quả phân lập saponin từ rễ củ tam thất 4 năm tuổi được thu hái tại vùng Tây Bắc Việt Nam trước và sau chế biến. Đồng thời, cũng từ nguyên liệu này, cao định chuẩn

của rễ củ tam thất *Panax notoginseng* (Burk.) F.H, viết tắt là NP(H), chiết từ rễ củ tam thất khô được hấp qua hơi nóng ở 120°C trong 8 giờ. NP(H) được nghiên cứu bào chế, xây dựng và kiểm định tiêu chuẩn tại Khoa Hóa phân tích và Tiêu chuẩn, Viện Dược liệu.

¹Khoa Dược, Bệnh viện Y học cổ truyền - Bộ Công an

²Viện Dược liệu

³Học viện Quân y

⁴Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội

Người phản hồi: Bùi Thị Thu Hà (buithuha2206@yahoo.com.vn)

Ngày nhận bài: 21/5/2021

Ngày bài báo được đăng: 06/7/2021

Theo quy định của Bộ Y tế Việt Nam [1] và Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) [4], để có thể đưa chế phẩm này vào sử dụng trong thực tế lâm sàng, việc thử nghiệm độc tính cấp và độc tính bán trường diễn thuốc từ dược liệu là điều kiện tiên quyết [2]. Vì thế, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm: *Xác định độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của NP(H) trên thực nghiệm.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Cao định chuẩn Tam thất (*Panax notoginseng*), viết tắt là NP(H), chiết từ rễ củ tam thất khô được hấp qua hơi nóng ở 120°C trong 8 giờ, được bào chế, xây dựng, kiểm định đạt tiêu chuẩn cơ sở tại Khoa Hóa phân tích và Tiêu chuẩn, Viện Dược liệu.

Chuột nhắt trắng: 60 con, chủng Swiss, cả 2 giống, khoẻ mạnh, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm.

Chuột cống trắng: 30 con, chủng Wistar, cả 2 giống, khoẻ mạnh, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm.

Tất cả chuột được chia ngẫu nhiên vào các lô, mỗi lô 10 con, ăn thức ăn tổng hợp, uống nước sạch, tự do (*ad libitum*). Động vật được cung cấp bởi Ban Cung cấp động vật thí nghiệm, Học viện Quân y.

* *Địa điểm, thời gian nghiên cứu:* Bộ môn Dược lý, Học viện Quân y (từ 6/2019 -10/2020).

Tiêu bản nhuộm HE đánh giá mô bệnh học của gan, lách, thận của chuột được tiến hành tại Bộ môn - Khoa Giải phẫu bệnh - pháp y, Bệnh viện Quân y 103.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết bị, dụng cụ, hóa chất nghiên cứu*

- Máy xét nghiệm huyết học Vet abcTM Animal Blood Counter (hãng ABX-Diagnostic, Pháp).

- Máy xét nghiệm sinh hóa 3000 Evolution (hãng Biochemical Systems International, Ý).

- Kính hiển vi huỳnh quang Nikon Eclipse Ti2 (Nhật Bản).

- Máy nhuộm tiêu bản tự động Leica Autostainer XL- ST5010 (Đức).

- Tủ ấm Memmert INB 500 (Đức).

- Cân phân tích Ohaus PA 214C (d = 0,0001g); Ohaus (Mỹ).

- Dụng cụ cho động vật uống thuốc, kim cong đầu tù các kích cỡ (Nhật Bản).

- Micropipet các cỡ, đầu côn, ống falcon các loại.

- Dụng cụ phẫu thuật các cỡ, kim tiêm, chỉ, dao, kéo... và một số dụng cụ, máy móc chuyên dụng.

- Kit định lượng các chỉ số sinh hóa máu: ALT, AST, albumin, cholesterol, bilirubin, creatinine (hãng Hospitex Diagnostics, Ý và hãng Dialab GmbH, Áo).

- Dung dịch xét nghiệm máu ABX Minidil LMG cho chuột (hãng ABX).

- Một số thuốc và hóa chất chuyên dụng.

* *Xác định độc tính cấp (LD₅₀) của NP(H) trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo quy định của Bộ Y tế Việt Nam và WHO [1, 4]:*

Trước khi làm thí nghiệm, NP(H) được pha ở mức nồng độ tăng dần, xác định các mức thể tích thuốc tối đa có thể đưa vào dạ dày chuột trong một lần và trong 24 giờ bằng kim cong đầu tù (Nhật Bản).

Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhện ăn qua đêm. Từng lô chuột nhất trắng, mỗi lô 10 con, được uống thuốc nghiên cứu theo các mức liều tăng dần từ lô 1 - 6. Khoảng cách giữa mức liều cao nhất không gây chết chuột (0%) và liều thấp nhất gây chết toàn bộ (100%) số chuột thí nghiệm được sử dụng để tính toán. Theo dõi số lượng chuột chết ở mỗi lô trong 72 giờ sau khi cho chuột uống thuốc lần cuối và theo dõi tình trạng chung của chuột (hoạt động, ăn uống, bài tiết...) ở mỗi lô trong 14 ngày. Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD₅₀ của thuốc thử (nếu có) [3].

** Đánh giá độc tính bán trường diễn của NP(H) trên chuột cống trắng:*

Căn cứ vào số liệu thu được về liều gây độc tính cấp và các quy định, hướng dẫn của Bộ Y tế Việt nam [1] và WHO [4], chúng tôi xây dựng các mức theo hệ số liều độ ngoại suy tương ứng với mỗi loại động vật để khảo sát độc tính bán trường diễn thực nghiệm.

Chuột cống trắng chủng Wistar cả 2 giống. Chuột được chia ngẫu nhiên vào 3 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1: Lô chứng sinh lý, uống nước cất với lượng 4 ml/kg.

- Lô 2: Uống NP(H) liều 200 mg/kg/ngày.

- Lô 3: Uống NP(H) liều 900 mg/kg/ngày.

Chuột được uống nước cất (lô chứng 1) hoặc chế phẩm (lô 2, 3) 1 lần/ngày vào buổi sáng, uống liên tục trong 90 ngày.

** Chỉ tiêu đánh giá:*

Thể trạng chung của chuột, các dấu hiệu ngộ độc được theo dõi trong suốt thời gian nghiên cứu, ít nhất 2 lần/ngày, đầu buổi sáng và cuối buổi chiều. Trọng lượng chuột được cân để đánh giá tại các thời điểm xuất phát, ngày thứ 30, 60 và 90.

Chuột được nhện ăn qua đêm trước khi lấy máu xét nghiệm. Các mẫu máu được lấy từ tĩnh mạch đuôi chuột (có hoặc không chống đông, tùy theo từng yêu cầu của loại xét nghiệm) vào các thời điểm: ngày thứ 0, 45 và 90 ở tất cả các lô. Các mẫu máu được phân tích trên máy xét nghiệm tự động, các chỉ số huyết học (số lượng hồng cầu - RBC; hematocrit - HCT, hemoglobin - HBG, thể tích trung bình hồng cầu - MCV, số lượng bạch cầu - WBC, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu - PLT).

Các chỉ số sinh hóa (triglycerit, cholesterol, alanin aminotransferase - ALT, aspartat transaminase - AST, creatinine, albumin) được phân tích trên máy xét nghiệm tự động.

Sau khi lấy máu vào cuối thời điểm ngày thứ 90, động vật được giết và phẫu tích để đánh giá đại thể và làm tiêu bản nhuộm HE đánh giá vi thể mô gan, lách, thận của chuột ở các lô.

** Xử lý số liệu:*

Xử lý số liệu bằng phần mềm IBM SPSS 20.0. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$. Số liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình (Mean) \pm SD, sử dụng thuật toán thống kê thích hợp với số liệu thu được, cụ thể như sau:

So sánh sự khác biệt về giá trị trung bình giữa các lô sử dụng phân tích phương sai 1 chiều (One-way ANOVA) và Post Hoc least - significant differences (LSD) test với trường hợp phương sai đồng nhất, sử dụng One-way ANOVA và Dunnett's T3 test với trường hợp phương sai không đồng nhất.

So sánh sự khác biệt về giá trị trung bình giữa các thời điểm nghiên cứu trong cùng một lô sử dụng phép so sánh theo cặp (Paired sample T-test).

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Kết quả xác định độc tính cấp (LD₅₀) của NP(H)

Bảng 1: Độc tính cấp theo đường uống của NP(H).

Lô chuột	Số chuột	Tổng liều (mg/kg/ngày)	Số chuột sống/chết	
			Sau 24 giờ	Sau 72 giờ
1	10	1.000	10/0	10/0
2	10	2.000	10/0	10/0
3	10	3.000	10/0	10/0
4	10	4.000	10/0	10/0
5	10	5.000	10/0	10/0
6	10	6.000	10/0	10/0

Với mức liều NP(H) tăng dần từ 1.000 - 6.000 mg/kg/ngày, tại tất cả các lô không có chuột nào chết sau 24 - 72 giờ uống thuốc. Như vậy, chuột đã uống đến liều tối đa có thể dùng được để đánh giá độc tính cấp của NP(H), nhưng không có chuột nào chết.

Ngoài ra, khi theo dõi đến 14 ngày sau khi uống liều cuối cùng, chuột ở các lô đều khỏe mạnh, không xuất hiện triệu chứng bất thường hoặc dấu hiệu ngộ độc nào. Tất cả chuột vận động bình thường, thở bình thường, lông mượt, mắt trong, phân khô.

Như vậy, chưa tìm thấy LD₅₀ của NP(H) theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24 giờ (6.000 mg/kg) không thấy xuất hiện độc tính cấp.

2. Kết quả đánh giá độc tính bán trường diễn

** Ảnh hưởng của NP(H) đối với thể trạng chung, dấu hiệu ngộ độc và trọng lượng cơ thể chuột cống trắng.*

Theo dõi suốt thời gian nghiên cứu thấy thể trạng chung của chuột bình thường, không có các dấu hiệu ngộ độc hoặc chết ở các lô. Tất cả chuột ở lô chứng, lô 2 và lô 3 đều ăn uống bình thường, lông mượt, mắt trong, phân khô.

Bảng 2: Trọng lượng cơ thể chuột ở các lô nghiên cứu.

Thời điểm	Trọng lượng cơ thể chuột (g)			p (giữa các lô)
	Lô 1 (chứng) (n = 10)	Lô 2 (n = 10)	Lô 3 (n = 10)	
Xuất phát điểm	188,20 ± 5,83	186,60 ± 5,38	186,10 ± 5,43	> 0,05
Ngày thứ 30	208,10 ± 5,63	210,70 ± 7,76	208,30 ± 8,90	> 0,05
Ngày thứ 60	218,50 ± 6,31	219,10 ± 7,67	217,60 ± 7,76	> 0,05
Ngày thứ 90	226,80 ± 5,39	228,60 ± 5,91	227,40 ± 6,00	> 0,05
p (giữa các thời điểm)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa về trọng lượng cơ thể chuột giữa các lô ở cùng thời điểm đánh giá. Chuột ở các lô có sự tăng trọng lượng tương đương nhau.

TẠP CHÍ Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ SỐ 6-2021

* Ảnh hưởng của NP(H) đối với chỉ số huyết học:

- Một số chỉ số của hồng cầu:

Bảng 3: Ảnh hưởng của cao định chuẩn NP(H) đối với các chỉ số của hồng cầu.

Thời điểm	Chỉ số	Lô 1 (chứng) (n = 10)	Lô 2 (n = 10)	Lô 3 (n = 10)	p (giữa các lô)
Xuất phát điểm	RBC (T/L)	6,98 ± 0,98	6,85 ± 0,70	6,94 ± 0,53	> 0,05
	HGB (g/L)	130,10 ± 11,35	129,20 ± 12,13	126,80 ± 12,83	> 0,05
	HCT (%)	32,68 ± 3,60	32,83 ± 2,38	32,40 ± 3,14	> 0,05
	MCV (fL)	47,07 ± 2,24	46,82 ± 3,01	46,26 ± 3,18	> 0,05
Ngày thứ 30	RBC (T/L)	6,86 ± 0,93	7,10 ± 0,97	7,20 ± 0,85	> 0,05
	HGB (g/L)	128,20 ± 14,79	129,10 ± 12,13	131,50 ± 19,12	> 0,05
	HCT (%)	32,39 ± 1,79	33,02 ± 2,35	33,07 ± 3,25	> 0,05
	MCV (fL)	46,18 ± 3,18	46,72 ± 2,64	47,05 ± 2,42	> 0,05
Ngày thứ 60	RBC (T/L)	6,94 ± 1,07	7,12 ± 1,09	7,21 ± 1,07	> 0,05
	HGB (g/L)	129,40 ± 18,17	130,30 ± 14,82	131,00 ± 20,84	> 0,05
	HCT (%)	32,79 ± 3,17	32,93 ± 2,61	33,09 ± 2,45	> 0,05
	MCV (fL)	46,64 ± 2,18	46,89 ± 3,16	46,99 ± 2,53	> 0,05
Ngày thứ 90	RBC (T/L)	6,97 ± 0,69	7,17 ± 0,67	7,24 ± 0,73	> 0,05
	HGB (g/L)	127,90 ± 9,27	129,50 ± 11,17	130,90 ± 17,34	> 0,05
	HCT (%)	32,30 ± 2,86	33,01 ± 1,91	33,15 ± 2,05	> 0,05
	MCV (fL)	46,50 ± 1,75	46,96 ± 3,37	47,07 ± 1,90	> 0,05
p (giữa các thời điểm)		> 0,05	> 0,05	> 0,05	

(RBC: Số lượng hồng cầu; HGB: Hemoglobin; HCT: Hematocrit; MCV: Thể tích trung bình hồng cầu).

So sánh giữa các lô, kết quả cho thấy các chỉ số của hồng cầu giữa các lô trong cùng một thời điểm nghiên cứu khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$; ANOVA).

So sánh giữa các thời điểm trong cùng một lô, kết quả cho thấy các chỉ số của hồng cầu giữa các thời điểm cũng khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$).

- Số lượng bạch cầu và tiểu cầu:

Bảng 4: Ảnh hưởng của cao định chuẩn NP(H) đối với số lượng bạch cầu và tiểu cầu.

Thời điểm	Chỉ số	Lô 1 (chứng) (n = 10)	Lô 2 (n = 10)	Lô 3 (n = 10)	p (giữa các lô)
Xuất phát điểm	WBC (G/L)	6,92 ± 1,26	6,99 ± 2,27	6,84 ± 2,79	> 0,05
	PLT (G/L)	547,60 ± 139,56	529,50 ± 90,02	519,60 ± 105,69	> 0,05
Ngày thứ 30	WBC (G/L)	6,94 ± 1,79	7,02 ± 1,40	7,31 ± 2,17	> 0,05
	PLT (G/L)	514,10 ± 143,12	539,40 ± 103,09	539,10 ± 98,65	> 0,05
Ngày thứ 60	WBC (G/L)	7,02 ± 2,31	6,89 ± 1,35	7,10 ± 1,24	> 0,05
	PLT (G/L)	519,30 ± 163,82	527,20 ± 106,62	528,90 ± 110,78	> 0,05
Ngày thứ 90	WBC (G/L)	6,74 ± 0,91	6,86 ± 2,30	7,07 ± 1,38	> 0,05
	PLT (G/L)	514,50 ± 99,64	527,90 ± 104,19	552,40 ± 103,85	> 0,05
p (giữa các thời điểm)		> 0,05	> 0,05	> 0,05	

(WBC: Số lượng bạch cầu; PLT: Số lượng tiểu cầu)

Tại cùng một thời điểm nghiên cứu, số lượng bạch cầu và tiểu cầu giữa các lô không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$; ANOVA).

So sánh trong cùng một lô, số lượng bạch cầu và tiểu cầu giữa các thời điểm cũng không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$).

* Ảnh hưởng của cao định chuẩn NP(H) đối với một số chỉ số sinh hóa máu:

- Hoạt độ enzyme AST và ALT:

Bảng 5: Ảnh hưởng của cao định chuẩn NP(H) đối với hoạt độ enzyme AST và ALT.

Thời điểm	Chỉ số	Lô 1 (chứng) (n = 10)	Lô 2 (n = 10)	Lô 3 (n = 10)	p (giữa các lô)
Xuất phát điểm	AST (U/L)	96,37 ± 26,24	98,82 ± 18,38	97,62 ± 19,99	> 0,05
	ALT (U/L)	73,27 ± 21,29	79,01 ± 16,50	77,64 ± 11,30	> 0,05
Ngày thứ 30	AST (U/L)	95,22 ± 20,96	94,58 ± 19,62	93,56 ± 15,88	> 0,05
	ALT (U/L)	73,66 ± 20,34	71,11 ± 13,06	71,76 ± 15,01	> 0,05
Ngày thứ 60	AST (U/L)	106,19 ± 21,34	95,85 ± 18,26	93,69 ± 15,41	> 0,05
	ALT (U/L)	69,37 ± 13,33	70,77 ± 14,33	75,59 ± 12,58	> 0,05
Ngày thứ 90	AST (U/L)	104,43 ± 22,28	92,34 ± 16,05	88,48 ± 19,51	> 0,05
	ALT (U/L)	72,57 ± 11,56	72,37 ± 9,38	74,29 ± 19,97	> 0,05
p (giữa các thời điểm)		> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hoạt độ enzyme AST và ALT giữa các lô trong cùng một thời điểm và giữa các thời điểm khác nhau trong cùng một lô.

- Nồng độ creatinine (mmol/L):

Bảng 6: Ảnh hưởng của cao NP(H) đối với nồng độ creatinine.

Thời điểm	Nồng độ creatinin (mmol/L)			p (giữa các lô)
	Lô 1 (chứng) (n = 10)	Lô 2 (n = 10)	Lô 3 (n = 10)	
Xuất phát điểm	81,14 ± 11,11	84,62 ± 13,64	85,96 ± 11,21	> 0,05
Ngày thứ 30	82,44 ± 12,23	81,93 ± 13,12	83,89 ± 14,49	> 0,05
Ngày thứ 60	87,62 ± 17,02	86,69 ± 11,80	82,09 ± 16,09	> 0,05
Ngày thứ 90	84,11 ± 16,98	89,31 ± 12,93	86,92 ± 13,75	> 0,05
p (giữa các thời điểm)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Không có sự khác biệt có ý nghĩa về nồng độ creatinine giữa các lô trong cùng một thời điểm và giữa các thời điểm trong cùng một lô nghiên cứu.

- Nồng độ albumin (g/L):

Bảng 7: Ảnh hưởng của NP(H) đối với nồng độ albumin.

Thời điểm	Lô 1 (chứng) (n = 10)	Lô 2 (n = 10)	Lô 3 (n = 10)	p (giữa các lô)
Xuất phát điểm	22,14 ± 2,55	21,93 ± 3,17	22,09 ± 3,31	> 0,05
Ngày thứ 30	22,06 ± 2,46	22,17 ± 1,97	22,32 ± 1,60	> 0,05
Ngày thứ 60	22,36 ± 1,93	23,05 ± 1,75	22,18 ± 1,74	> 0,05
Ngày thứ 90	22,50 ± 2,69	22,03 ± 1,52	22,68 ± 1,61	> 0,05
p (giữa các thời điểm)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Không có sự khác biệt có ý nghĩa về nồng độ albumin giữa các lô trong cùng một thời điểm và giữa các thời điểm trong cùng một lô nghiên cứu.

- Nồng độ cholesterol (mmol/L):

Bảng 8: Ảnh hưởng của NP(H) đối với nồng độ cholesterol.

Thời điểm	Lô 1 (chứng) (n = 10)	Lô 2 (n = 10)	Lô 3 (n = 10)	p (giữa các lô)
Xuất phát điểm	2,01 ± 0,37	2,09 ± 0,32	2,05 ± 0,52	> 0,05
Ngày thứ 30	1,98 ± 0,47	1,92 ± 0,28	1,88 ± 0,49	> 0,05
Ngày thứ 60	2,03 ± 0,53	1,99 ± 0,38	1,92 ± 0,18	> 0,05
Ngày thứ 90	1,95 ± 0,36	1,90 ± 0,53	1,82 ± 0,32	> 0,05
p (giữa các thời điểm)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

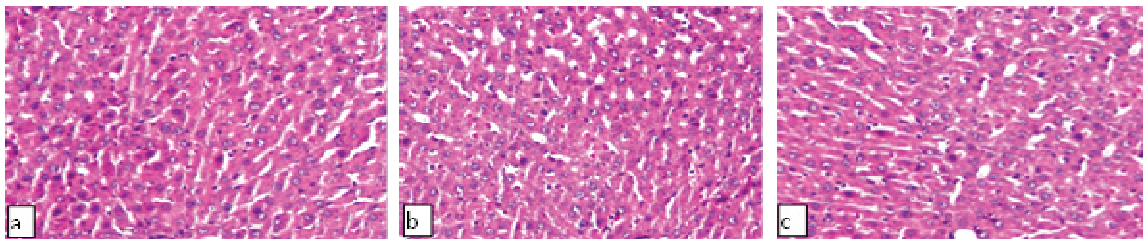
Không có sự khác biệt có ý nghĩa về nồng độ cholesterol giữa các lô nghiên cứu trong cùng một thời điểm và giữa các thời điểm trong cùng một lô.

* Ảnh hưởng của cao định chuẩn NP(H) lên hình ảnh đại thể và vi thể một số cơ quan:

- Hình ảnh đại thể gan, lách, thận của chuột ở các lô nghiên cứu hoàn toàn bình thường; không có sự khác biệt giữa các lô. Quan sát đại thể bằng mắt thường dưới kính lúp thấy màu sắc, hình thái của gan, lách và thận ở 2 lô dùng cao định chuẩn NP(H) có màu nâu đỏ thẫm đồng đều, bề mặt nhẵn, không có u cục hoặc xuất huyết, có đàn hồi khi ấn xuống. Không có khác biệt khi so với hình ảnh gan, lách, thận của chuột ở các lô

- Hình ảnh vi thể gan, lách và thận:

+ Hình ảnh vi thể gan (*hình 1*): Ở các lô đều thấy các bè gan, tiểu thùy gan và tế bào gan bình thường, không có hình ảnh thoái hóa hoặc viêm, tĩnh mạch trung tâm không giãn, các xoang mạch nan hoa và tĩnh mạch khoảng cửa không xung huyết.



(a)

(b)

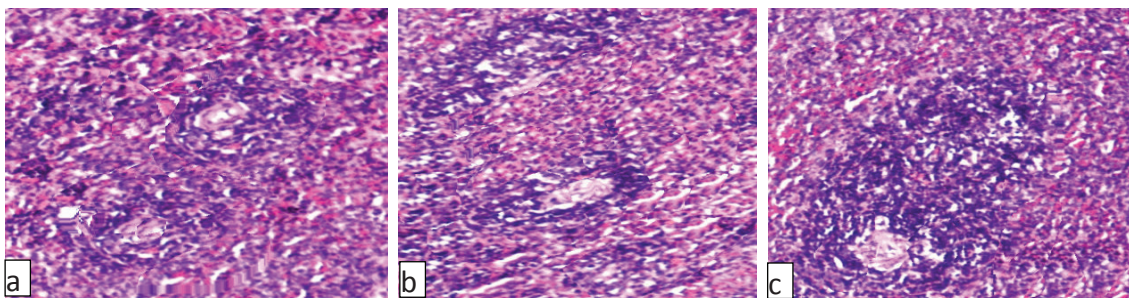
(c)

Hình 1: Hình ảnh vi thể gan của chuột ở các lô nghiên cứu.

(Nhuộm HE (400X); (a): Lô chứng (chuột số 29); (b): Lô 2 (chuột số 4);

(c): Lô 3 (chuột số 16)

+ Hình ảnh vi thể lách: Lách rõ cấu trúc vùng vỏ và vùng tủy, vùng vỏ có các nang lympho lớn với động mạch bút lông. Không có xuất huyết, hoại tử.



(a)

(b)

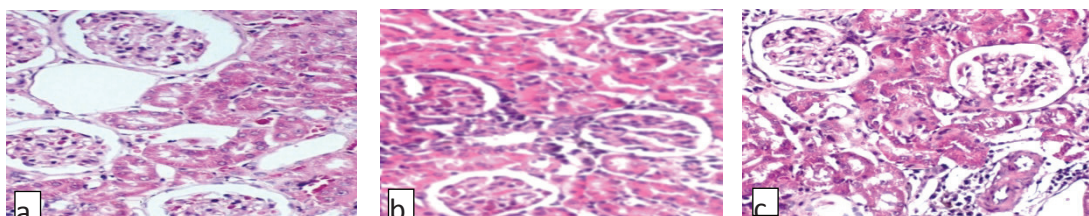
(c)

Hình 2: Hình ảnh vi thể lách của chuột ở các lô nghiên cứu.

(Nhuộm HE (400X); (a): Lô chứng (chuột số 21); (b): Lô 2 (chuột số 08);

(c): Lô 3 (chuột số 12)

+ Hình ảnh vi thể thận: Ở tất cả các lô đều thấy các tiểu cầu thận với mao cuộn mạch rõ, các tế bào ống thận bình thường.



(a)

(b)

(c)

Hình 3: Hình ảnh vi thể thận của chuột ở các lô nghiên cứu.

Nhuộm HE (400 X); (a): Lô chứng (chuột số 20); (b): Lô 2 (chuột số 09);
(c): Lô 3 (chuột số 22).

Như vậy, NP(H) dùng đường uống cho chuột cống trắng với liều 200 mg/kg/ngày và 900 mg/kg/ngày, uống liên tục trong 90 ngày, không gây tổn thương trên gan, thận, lách của chuột.

KẾT LUẬN

Từ những kết quả thu được trên thực nghiệm, chúng tôi kết luận sơ bộ :

- Độc tính cấp của NP(H): Chưa tìm thấy LD₅₀ của NP (H) theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24 giờ là 6.000 mg/kg đã không thể hiện độc tính cấp, nói cách khác NP(H) rất ít độc.

- Độc tính bán trường diễn của NP(H): Khi cho chuột cống trắng uống NP(H) với 2 mức liều 200 mg/kg/ngày và 900 mg/kg/ngày, uống liên tục trong 90 ngày đã không ảnh hưởng tới sự phát triển bình thường và sự tăng trọng lượng bình thường của chuột. Với các mức liều đã sử dụng cũng không ảnh hưởng tới một số chỉ số huyết học (số lượng hồng cầu, hemoglobin, hematocrit, thể tích trung

bình hồng cầu, số lượng bạch cầu và số lượng tiểu cầu), một số chỉ số sinh hóa (AST, ALT, creatinine, albumin và cholesterol) và hình ảnh đại thể cũng như vi thể gan, lách và thận.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế. Quyết định về việc ban hành tài liệu chuyên môn “Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu”. Hà Nội 2015.
2. Bộ Y tế. Công văn 19098/QLD-ĐK về việc đăng ký lưu hành thuốc từ dược liệu có phối hợp mới thành phần dược liệu 2014.
3. Đỗ Trung Đàm. Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc. Nhà xuất bản Y học. Hà Nội 2014:101-182.
4. WHO. General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine. EDM/TRM. Geneva - Switzerland 2000.