

Ảnh hưởng của viên nang trường xuân CB tới một số chỉ số huyết học, sinh hóa máu và hình ảnh một số cơ quan trên chuột cống trắng

Effect of Truong Xuan CB capsules on some parameters of hematology, biochemical and macroscopic, microscopic images of rats

Vũ Ngọc Thắng*, **, Nguyễn Hoàng Ngân*,
Nguyễn Minh Phương*, Phạm Vĩnh Trường***

*Học viện Quân y,
**Viện Kiểm nghiệm NC Dược và TTB Y tế QĐ,
***Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá được ảnh hưởng của viên nang Trường Xuân CB (TXCB) tới một số chỉ số huyết học, sinh hóa máu và hình ảnh đại thể, vi thể một số cơ quan trên chuột cống trắng. **Đối tượng và phương pháp:** Viên nang TXCB là sản phẩm nghiên cứu khoa học cấp tỉnh Cao Bằng, đạt tiêu chuẩn cơ sở. Nghiên cứu được tiến hành theo hướng dẫn số 408 của OECD. **Kết quả:** Không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$) về số lượng hồng cầu, hematocrit, hemoglobin, thể tích trung bình hồng cầu, số lượng bạch cầu, số lượng tiểu cầu, hoạt độ enzyme AST, ALT, nồng độ creatinin, albumin, cholesterol ở các lô dùng TXCB khi so sánh với lô chứng. Đồng thời, không có sự thay đổi đáng kể nào được quan sát thấy trên hình ảnh đại thể và vi thể gan, lách, thận của chuột tại các lô uống TXCB. **Kết luận:** Viên nang TXCB liều 0,42g/kg và 1,26g/kg không ảnh hưởng tới các chỉ số sinh hóa; huyết học và hình ảnh đại thể; vi thể gan, lách, thận chuột khi uống liên tục trong 90 ngày.

Từ khóa: Huyết học, sinh hóa, viên nang Trường Xuân CB.

Summary

Objective: To evaluate the effect of Truong Xuan CB capsules (TXCB) on some hematological parameters, blood biochemistry, macroscopic and microscopic images of some organs on rats. **Subject and method:** TXBC were obtained from the provincial research project, meeting the house standard. Research was conducted according to the OECD 408 Guideline. **Result:** There were no significant differences ($p > 0.05$) in the red blood cell, hematocrit, hemoglobin, mean corpuscular volume, white blood cell, platelet count, the levels of AST, ALT, creatinine, albumin, cholesterol in the TXCB groups when compared to the control group. No significant changes were observed in the macroscopic and microscopic images of the liver, spleen, and kidneys of the rats in the TXCB groups. **Conclusion:** TXCB capsules at doses of 0.42g/kg and 1.26g/kg were not affect to the hematology, biochemical parameters and macroscopic, microscopic images of liver, spleen and kidney when taken continuously for 90 days.

Keywords: Biochemical parameters, hematology, Truong Xuan CB.

Ngày nhận bài: 29/8/2020, ngày chấp nhận đăng: 09/9/2020

Người phản hồi: Vũ Ngọc Thắng, Email: vuthangd8@gmail.com - Học viện Quân y

1. Đặt vấn đề

Hiện nay các chế phẩm ở dạng bào chế hiện đại từ dược liệu và các bài thuốc cổ truyền được nghiên cứu, sử dụng ngày càng nhiều do tính thuận tiện và lợi ích điều trị đối với bệnh nhân. Tuy nhiên, trước khi được đưa vào sử dụng trên người, các sản phẩm này cần phải được đánh giá về tính an toàn và tác dụng sinh học. Viên nang TXCB là sản phẩm nghiên cứu từ bài thuốc được sử dụng theo y học cổ truyền. Vì thế, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu: *Đánh giá tác dụng của TXCB lên các chỉ số huyết học, sinh hóa và hình ảnh đại thể, vì thế một số cơ quan trên chuột cống trắng trong thời gian 90 ngày.*

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Viên nang TXCB được bào chế từ bài thuốc y học cổ truyền, gồm các dược liệu: Tỏa dương, Dâm dương hoắc, Thạch斛 tía, Ngưu đại lực, Sâm cau, Ba kích, Câu kỷ tử và Lộc nhung. Chế phẩm do Trung tâm Nghiên cứu Ứng dụng Sản xuất Thuốc - Học viện Quân y sản xuất, đạt tiêu chuẩn cơ sở.

2.2. Động vật nghiên cứu

Chuột cống trắng chủng Wistar, cả hai giống, trưởng thành, khỏe mạnh cân nặng 180 ± 20 g, được cung cấp bởi Trung tâm Động vật thí nghiệm - Học viện Quân y. Chuột được nuôi trong điều kiện môi trường nhiệt độ, độ ẩm đạt theo tiêu chuẩn; được ăn thức ăn dạng hạt pellet, uống nước sạch tự do.

2.3. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành theo hướng dẫn số 408 của OECD [2]. Thiết kế nghiên cứu cụ thể như sau:

Tất cả các chuột mỗi giống được chia ngẫu nhiên vào 3 lô, mỗi lô 10 con: Lô 1 (lô chứng sinh lý): Uống nước cất; lô 2 (lô trị 1): Uống viên nang TXCB liều 0,42g/kg/ngày; lô 3: Uống viên nang TXCB liều 1,26g/kg/ngày.

Chuột được uống nước cất hoặc viên nang TXCB 01 lần/ngày vào buổi sáng liên tục trong 90 ngày.

Chỉ số đánh giá:

Các mẫu máu được lấy vào các thời điểm: Ngày 0, 30, 60 và 90 ở tất cả các lô. Các mẫu máu được phân tích các chỉ số huyết học (số lượng hồng cầu - RBC; hematocrit- HCT, hemoglobin - HGB, thể tích trung bình hồng cầu-MCV, số lượng bạch cầu - WBC và số lượng tiểu cầu - PLT).

Một số chỉ số sinh hóa (aspartat aminotransferase- AST, alanin aminotransferase - ALT, creatinin, albumin và cholesterol).

Sau khi lấy máu vào ngày 90, động vật được giết để đánh giá đại thể các cơ quan: Gan, lách và thận. Kiểm tra ngẫu nhiên cấu trúc vi thể gan, lách, thận của ít nhất 40% số chuột ở mỗi lô.

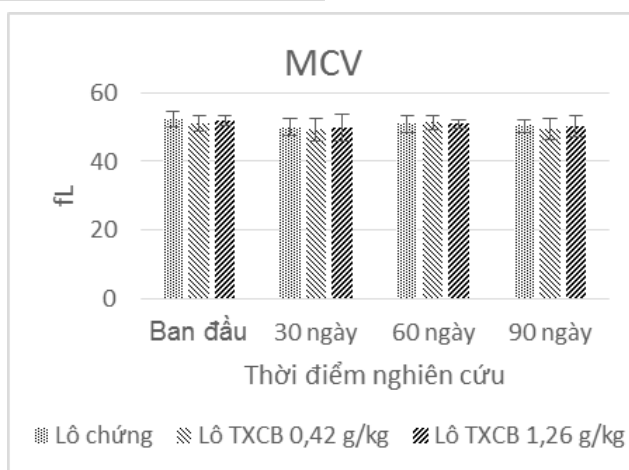
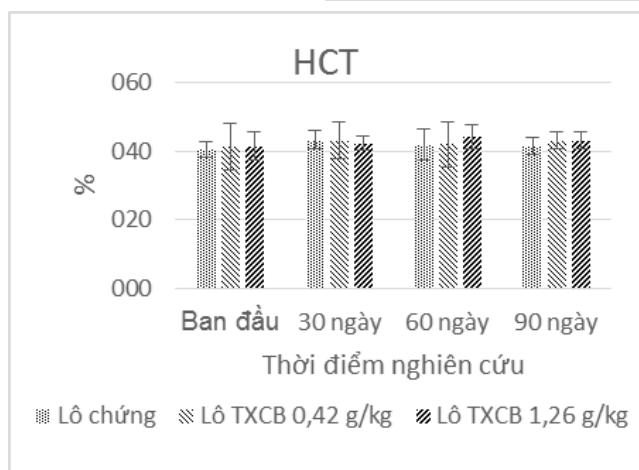
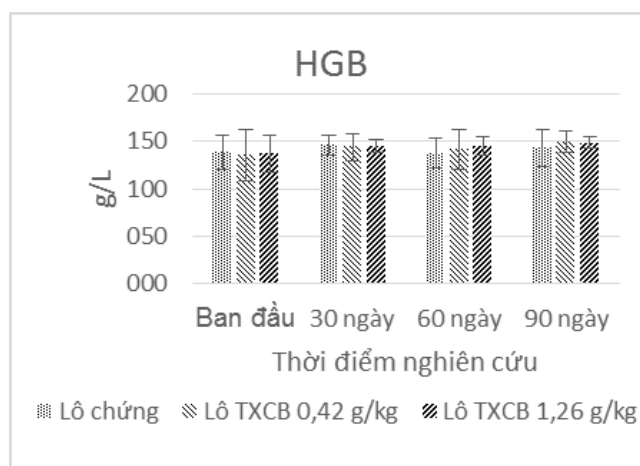
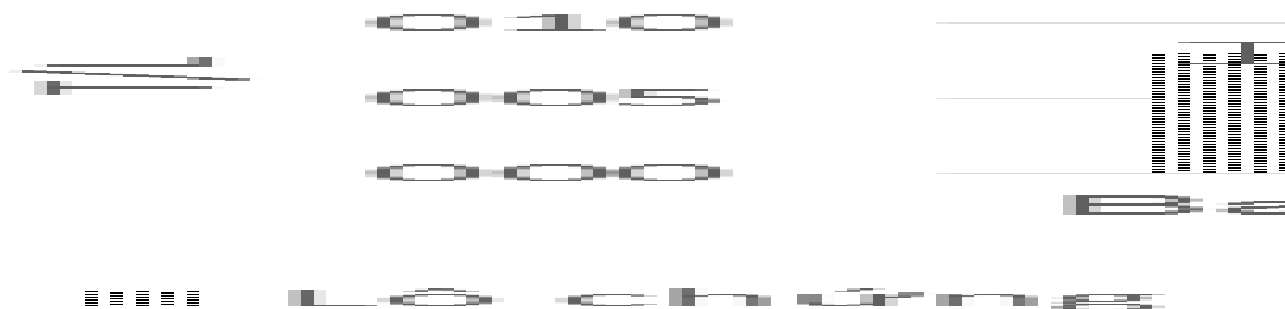
2.4. Phân tích thống kê

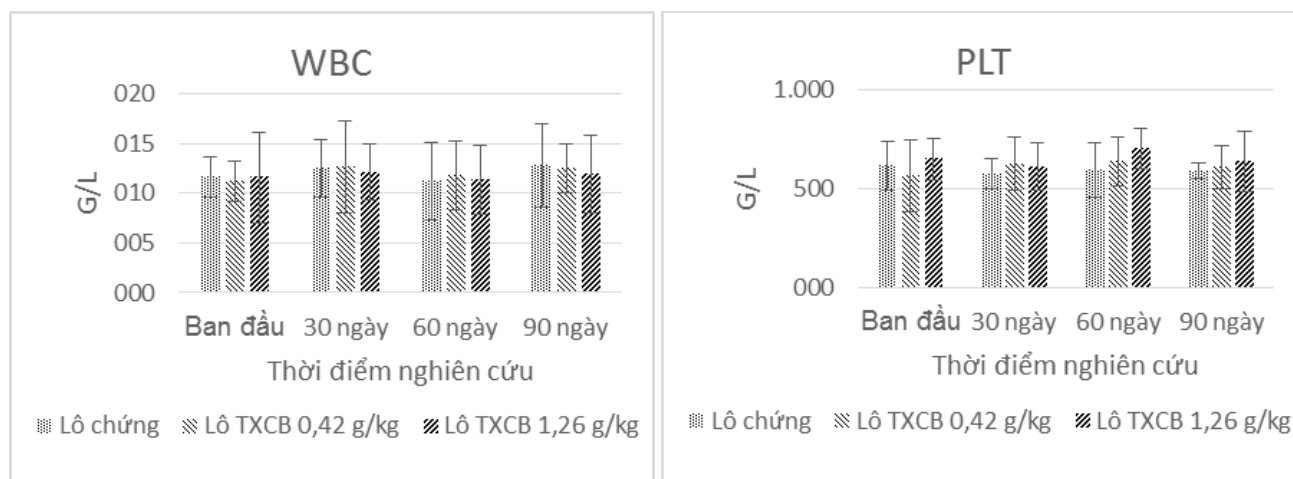
Các kết quả được thể hiện dưới dạng giá trị trung bình (TB) $\pm$ SD. Sử dụng phân tích phương sai 1 chiều (One-way ANOVA) và post hoc least-significant differences (LSD) để xác định sự khác biệt giữa các lô. Sử dụng Paired sample T-Test để xác định sự khác biệt giữa các thời điểm trong cùng một lô. Sự khác nhau có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$. Sử dụng phần mềm IBM SPSS statistic 20.0.

3. Kết quả

3.1. Ảnh hưởng của TXCB lên một số chỉ số huyết học

Kết quả được trình bày trong hình sau:



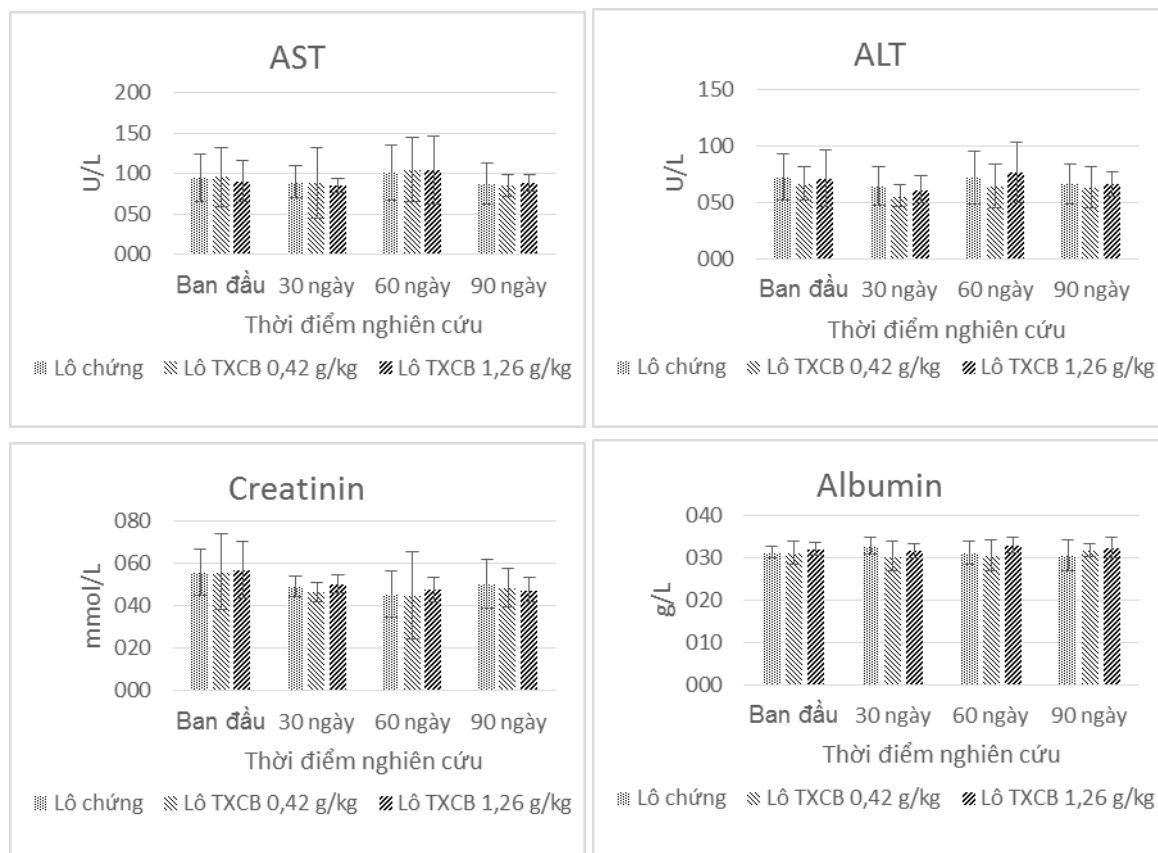


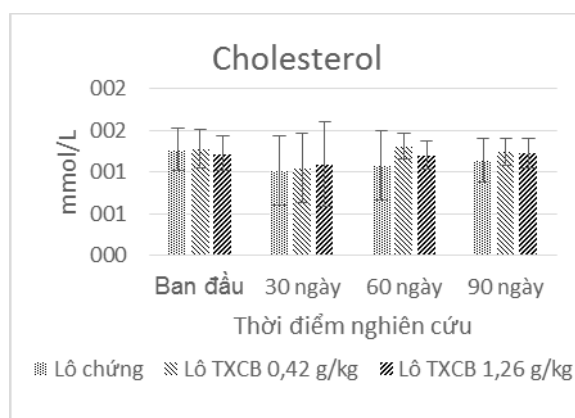
Hình 1. Ảnh hưởng của TXCB lên một số chỉ số huyết học chuột cống trắng.

$n = 10$; không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$) giữa các lô và giữa các thời điểm ở các chỉ số đánh giá.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$) về các chỉ số RBC, HGB, HCT, MCV, WBC và PLT ở các lô uống TXCB khi so sánh với lô chứng. Đồng thời không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$) trong từng lô khi so sánh giữa các thời điểm nghiên cứu.

3.2. Ảnh hưởng của TXCB tới một số chỉ số sinh hóa





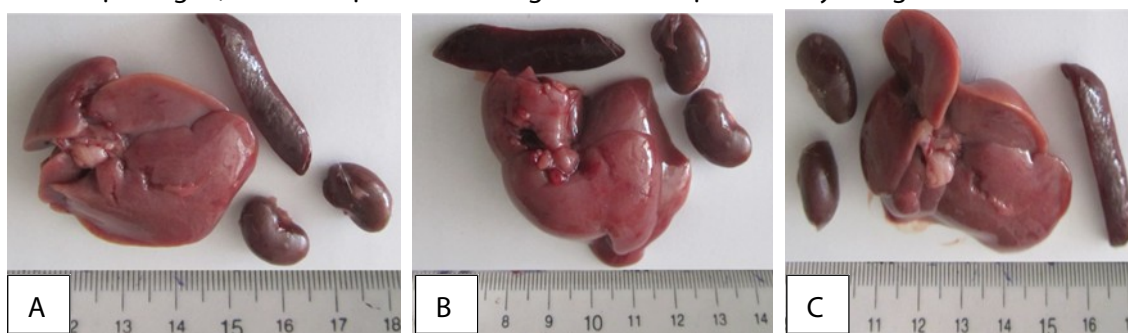
Hình 2. Ảnh hưởng của TXCB lên một số chỉ số sinh hóa chuột cống trắng.

$n = 10$; không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$) giữa các lô và giữa các thời điểm ở các chỉ số đánh giá.

Các kết quả trên cho thấy, ở các lô uống TXCB, không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$) về hoạt độ các enzym AST, ALT, nồng độ creatinin, albumin và cholesterol khi so sánh với lô chứng. Ngoài ra, không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$) về một số chỉ số sinh hóa khi so sánh giữa các thời điểm trong cùng một lô.

3.3. Ảnh hưởng của TXCB tới hình ảnh đại thể một số cơ quan

Hình ảnh đại thể gan, lách và thận của các lô nghiên cứu được trình bày trong hình sau:



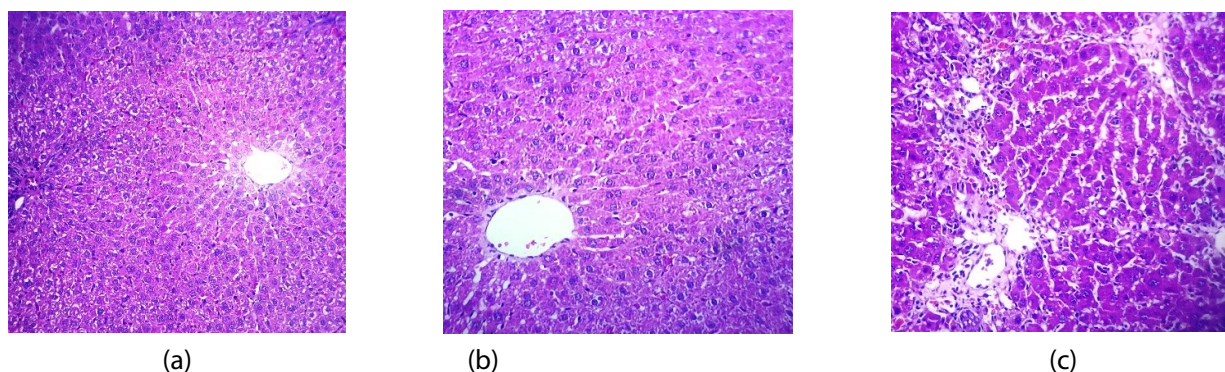
Hình 3. Hình ảnh đại thể gan, lách, thận của chuột ở các lô nghiên cứu

Ghi chú: A: Lô chứng (chuột số 28); B: Lô TXCB 0,42 g/kg (chuột số 5); C: Lô TXCB 1,26g/kg (chuột số 16).

Quan sát đại thể bằng mắt thường dưới kính lúp, cho thấy: Màu sắc, hình thái của gan, lách và thận ở hai lô dùng TXCB (Hình 3b và Hình 3c) 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 sự khác biệt khi so với hình ảnh gan, lách, thận của chuột ở lô chứng (Hình 3a).

3.4. Ảnh hưởng của TXCB tới hình ảnh vi thể một số cơ quan

Hình ảnh vi thể gan (Hình 4): 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 của không xung huyết.



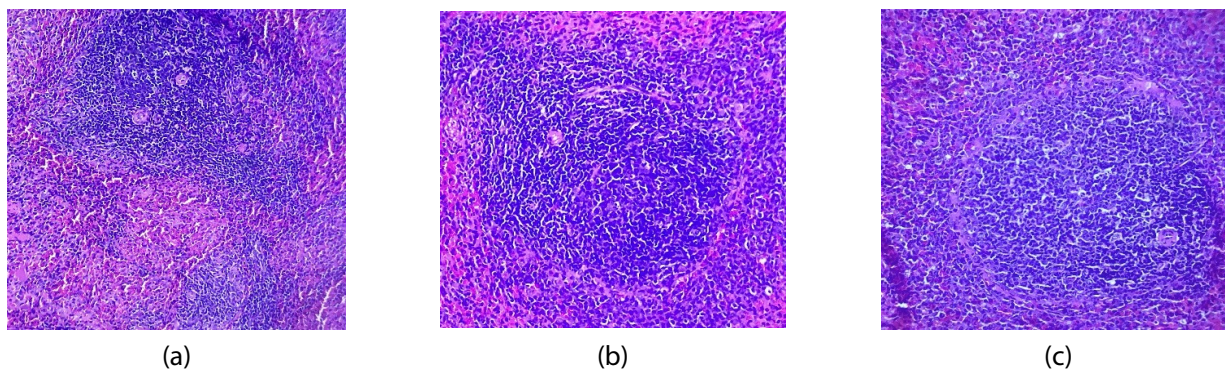
(a)

(b)

(c)

Hình 4. Hình ảnh vi thể gan của chuột ở các lô nghiên cứu. Ghi chú: Nhuộm HE (400X), (a): Lô chứng (chuột số 30), (b): Lô TXCB 0,42g/kg (chuột số 01), (c): Lô TXCB 1,26 g/kg (chuột số 13)

Hình ảnh vi thể lách (Hình 5): Tại tất cả các lô: 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.



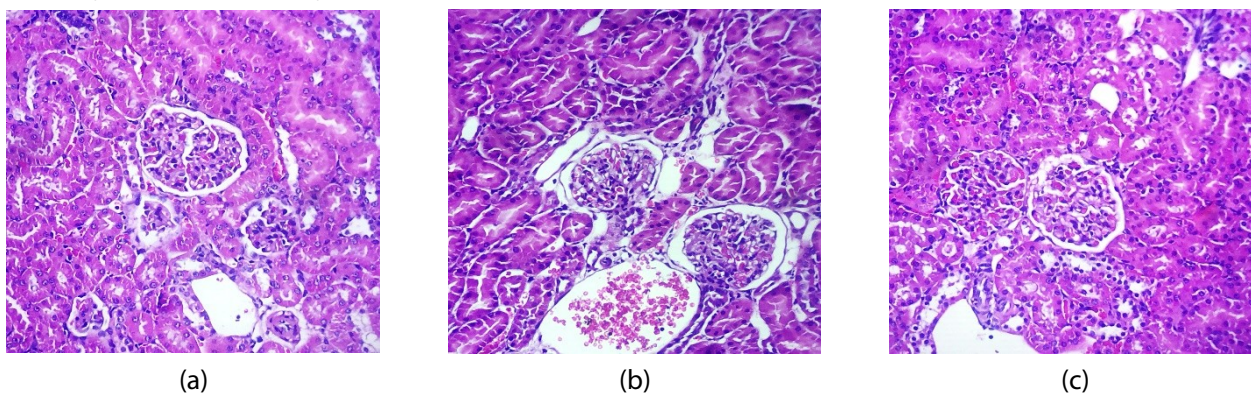
(a)

(b)

(c)

Hình 5. Hình ảnh vi thể lách của chuột ở các lô nghiên cứu. Ghi chú: Nhuộm HE (400X), (a): Lô chứng (chuột số 27), (b): Lô TXCB 0,42 g/kg (chuột số 02); (c): Lô TXCB 1,26 g/kg (chuột số 11)

Hình ảnh vi thể thận (Hình 6): 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 6. Hình ảnh vi thể thận của chuột ở các lô nghiên cứu. Ghi chú: Nhuộm HE (400X) (a): Lô chứng (chuột số 26); (b): Lô TXCB 0,42 g/kg (chuột số 07); (c): Lô TXCB 1,26 g/kg (chuột số 18)

4. Bàn luận

Việc phân tích các chỉ số huyết học, sinh hóa máu có ý nghĩa trong việc đánh giá các nguy cơ, bất

kỳ sự thay đổi nào về các chỉ số huyết học, sinh hóa khi nghiên cứu trên động vật đều có giá trị khi đánh giá nguy cơ dùng thuốc trên người. Kết quả nghiên cứu cho thấy, các chỉ số sinh hóa của chuột được

uống TXCB ở 2 mức liều khác nhau không thay đổi khi so sánh với lô chứng.

Đánh giá về công thức máu là đánh giá sinh lý và bệnh lý quan trọng ở động vật và người. Số lượng và chất lượng các tế bào máu phản ánh tình trạng của cơ quan tạo máu. Thông thường các chỉ số được đánh giá là RBC, PLT, WBC, HGB, HCT và MCV. Nếu chất thử nghiệm tác động đến cơ quan tạo máu, có độc tính với cơ quan tạo máu có thể làm thay đổi giới hạn bình thường của các chỉ số huyết học này [3]. Hơn nữa, việc phân tích công thức máu có liên quan đến đánh giá rủi ro khi dùng thuốc vì những thay đổi trong hệ thống huyết học có giá trị tiên đoán cao hơn đối với độc tính của con người khi dữ liệu được ngoại suy từ các nghiên cứu trên động vật [5]. Ở tất cả các lô dùng TXCB trong 90 ngày cho thấy không có sự thay đổi đáng kể về các chỉ số huyết học khi so sánh với nhóm chứng. Tác dụng không đáng kể của TXCB lên số lượng hồng cầu, thể tích trung bình hồng cầu, hematocrit, hemoglobin và tiểu cầu cho thấy rằng TXCB không ảnh hưởng đến sự tạo hồng cầu, hình thái hồng cầu hoặc sức bền của tế bào hồng cầu. Bạch cầu là dòng tế bào bảo vệ cơ thể đầu tiên đáp ứng với các tác nhân truyền nhiễm, tổn thương ở mô hoặc quá trình viêm. Trong nghiên cứu này, TXCB không làm ảnh hưởng tới số lượng bạch cầu khi dùng liên tục trong 90 ngày.

Các phân tích huyết học và sinh hóa lâm sàng được thực hiện để đánh giá các thay đổi có thể có trong chức năng gan và thận bị ảnh hưởng bởi các chất thử nghiệm. Phân tích chức năng gan và thận là rất quan trọng trong việc đánh giá độc tính của thuốc và chiết xuất thực vật vì cả hai đều cần thiết cho sự sống của một sinh vật. Nồng độ cao của các enzym ALT và AST là sự báo hiệu cho những bệnh lý ở gan hoặc gây độc cho gan [6]. Không có sự thay đổi có ý nghĩa ($p > 0,05$) về nồng độ ALT và AST ở các lô uống TXCB chứng tỏ rằng TXCB dùng trong 90 ngày không làm ảnh hưởng tới sự tổn thương của tế bào gan.

Sự rối loạn chức năng thận có thể được đánh giá bằng việc định lượng urea và creatinin. Trong đó, nồng độ urea máu thay đổi tùy theo khẩu phần ăn, tăng nhất thời sau bữa ăn nhiều đạm; creatinin là thành phần có nitơ trong máu ổn định nhất, không phụ thuộc vào chế độ ăn hoặc những thay đổi bệnh

lý khác mà chỉ phụ thuộc vào khả năng đào thải của thận. Khi cầu thận bị tổn thương, nồng độ creatinin máu tăng sớm hơn urê máu. Trong nghiên cứu này, ở các lô dùng TXCB trong 90 ngày, không có sự khác biệt có ý nghĩa về nồng độ creatinin máu so với lô chứng. Như vậy, TXCB không ảnh hưởng tới chức năng thận khi nghiên cứu trên chuột cống trắng.

Hình ảnh đại thể của các cơ quan được uống TXCB không thể hiện bất kỳ thay đổi nào về màu sắc khi so sánh với lô chứng. Phì đại các cơ quan là dấu hiệu đầu tiên về độc tính của chất thử nghiệm hoặc chất có hoạt tính sinh học. Tuy nhiên, không có sự phì đại của các cơ quan được quan sát trong nghiên cứu này trong số tất cả các lô sử dụng chế phẩm nghiên cứu. Ngoài ra, trên hình ảnh vi thể không có cơ quan nào từ các lô chuột uống TXCB cho thấy bất kỳ sự thay đổi nào trong cấu trúc tế bào hoặc bất kỳ tác động không có lợi nào khi nhìn dưới kính hiển vi ở nhiều độ phóng đại khác nhau. Không có bệnh lý nào được ghi nhận về mô học của các cơ quan: gan, lách, thận của nhóm chứng. Nói chung, bất kỳ tác động có hại nào cho các tế bào nhu mô gan đều dẫn đến sự tăng nồng độ của cả hai transaminase trong máu [7]. Do đó, sự thay đổi không đáng kể về nồng độ ALT và AST cho thấy rằng việc sử dụng TXCB không làm thay đổi tế bào gan cho nên sự chuyển hóa bình thường của chuột quan sát được trong mô bệnh học của gan. Tương tự, cũng không có sự thay đổi đáng kể về nồng độ creatinin máu của các lô dùng TXCB khi so sánh với nhóm chứng. Bất kỳ sự gia tăng về nồng độ creatinin chỉ được quan sát thấy nếu có tác động rõ rệt đối với chức năng của các nephron cầu thận [8]. Điều này được xác nhận thêm bằng các quan sát mô bệnh học của thận trong nghiên cứu này.

Như vậy, TXCB dùng đường uống với liều 0,42g/kg/ngày và 1,26g/kg/ngày liên tục trong 90 ngày đã không ảnh hưởng tới các chỉ số sinh hóa, huyết học, không gây tổn thương trên gan, thận, lách của chuột. Đối chiếu với những kết quả nghiên cứu đã được công bố trước đó về độc tính của các dược liệu đơn lẻ, loại trừ khả năng tương tác giữa các dược liệu thì kết quả về độc tính của nghiên cứu này là phù hợp [1] [2], [9], [10], [11], [12].

5. Kết luận

Viên nang TXCB liều 0,42g/kg và 1,26g/kg không ảnh hưởng tới các chỉ số huyết học, sinh hóa và hình ảnh đại thể, vi thể gan, lách và thận khi dùng liên tục trong 90 ngày khi nghiên cứu trên chuột.

Tài liệu tham khảo

1. Phạm Thị Nguyệt Hằng, Nguyễn Văn Khiêm và Nguyễn Văn Khởi (2017) *Nghiên cứu độc tính cấp, bán trường diễn và tác dụng tăng lực của cao chiết cỏ sâm cau*. Tạp chí Dược liệu, 4(22), tr. 239-247.