

Nghiên cứu độc tính của cao thuốc LCD20 điều trị viêm loét dạ dày tá tràng trên chuột nhắt chủng Swiss

Trần Hữu Dũng^{1*}, Lê Công Danh³, Đặng Công Thuận², Nguyễn Hoài Bảo Châu¹, Nguyễn Thị Quỳnh¹

(1) Khoa Dược, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

(2) Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế

(3) Bệnh viện Y học cổ truyền thành phố Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn trên động vật thực nghiệm của cao thuốc y học cổ truyền LCD20 đang được nghiên cứu dùng điều trị bệnh viêm loét dạ dày tá tràng. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Đánh giá độc tính cấp được thực hiện theo phương pháp Litchfield-Wilcoxon trên Chuột nhắt chủng Swiss. Độc tính bán trường diễn được đánh giá trên Chuột nhắt chủng Swiss theo hướng dẫn của Bộ Y tế và Tổ chức Y tế thế giới về đánh giá hiệu lực và an toàn thuốc. **Kết quả:** Chưa xác định được LD₅₀ của cao thuốc LCD20, mức liều cao nhất có thể cho chuột uống là 9,40 g/kg thể trọng. Cao thuốc LCD20 liều trung bình là 0,41 g/kg/24 giờ và liều cao gấp 3 lần là 1,23 g/kg/24 giờ, uống liên tục trong 90 ngày không làm ảnh hưởng đến tình trạng sức khỏe, da, lông, mắt, hệ tiêu hóa, hô hấp, vận động và thần kinh, cân nặng. Các chỉ số xét nghiệm huyết học, sinh hóa, đại thể và vi thể của mô gan và thận của các chuột lô chứng và lô thử không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p>0,05$). **Kết luận:** Cao thuốc LCD20 bước đầu được chứng minh là an toàn trên chuột thử nghiệm.

Từ khóa: cao thuốc LCD20, độc tính cấp, độc tính bán trường diễn.

Study on the toxicity of LCD20 extract in treating gastric and duodenal ulcers on Swiss strain mice

Trần Hữu Dũng^{1*}, Lê Công Danh³, Đặng Công Thuận², Nguyễn Hoài Bảo Châu¹, Nguyễn Thị Quỳnh¹

(1) Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

(2) Department of Pathology, Hue University of Medicine and Pharmacy Hospital

(3) Traditional Medicine Hospital of Thua Thien Hue Province

Abstract

Background: Assessment of the short-term and long-term toxicity of LCD20, a traditional medicine extract being researched for the treatment of peptic ulcers, in experimental animals. **Materials and methods:** The Litchfield-Wilcoxon approach was used to evaluate acute toxicity in Swiss mice. Subchronic toxicity was evaluated in Swiss mice following recommendations from the World Health Organization and the Vietnam Ministry of Health regarding drug safety and efficacy. **Results:** The maximum dose of LCD20 extract that can be given to mice, 9.40 g/kg body weight, did not result in an LD₅₀. LCD20 extract was administered consistently for 90 days at an average dose of 0.41 g/kg/24 hours and at a three-fold greater dose of 1.23 g/kg/24 hours, with no adverse effects on skin, fur, eyes, or the digestive, respiratory, neurological, motor systems, or weight. The liver and kidney tissues of test and control mice did not differ significantly ($p>0.05$) in terms of hematological, biochemical examination, macroscopic, and microscopic image indexes. **Conclusion:** The safety of LCD20 medicinal extract was first established in test animals.

Key words: LCD20 extract, acute toxicity, subchronic toxicity.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ những kinh nghiệm lưu truyền trong dân gian đã để lại nhiều bài thuốc, vị thuốc y học cổ truyền được ứng dụng trong điều trị và đã thể hiện rất tốt trên lâm sàng đối với bệnh viêm loét dạ dày, tá tràng là một căn bệnh mãn tính hay gặp trong xã hội hiện nay. Trong thành phần các bài thuốc này có chứa các

vị dược liệu như: Chè dây, lá Khôi, Nghệ, Dạ cẩm, lá Khổ sâm, Ô tặc cốt...[1, 2]. Gần đây các nhà khoa học đã đi sâu nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như bước đầu thử nghiệm tác dụng dược lý của các bài thuốc và các loại dược liệu này trong *in-vitro*, *in-vivo* và trên lâm sàng điều trị bệnh lý dạ dày, tá tràng. Các kết quả thử nghiệm đều cho thấy các tác dụng cụ

*Tác giả liên hệ: Trần Hữu Dũng, Email: thdung@huemed-univ.edu.vn

Ngày nhận bài: 28/11/2024; Ngày đồng ý đăng: 21/2/2025; Ngày xuất bản: 25/3/2025

DOI: 10.34071/jmp.2025.1.19

thể trong điều trị bệnh, đây là những loại dược liệu dễ trồng và giá thành nguyên liệu không cao, phù hợp với mọi đối tượng sử dụng [3-6].

Bài thuốc y học cổ truyền LCD20 là bài thuốc nghiệm phương, được xây dựng từ kinh nghiệm điều trị của các Lương Y tỉnh Thừa Thiên Huế, từ các bài thuốc, vị thuốc nam đã được sử dụng rộng rãi trong dân gian mang lại kết quả tốt điều trị bệnh lý về dạ dày, tá tràng (vị quản thống). Bài thuốc này được bào chế từ 7 vị dược liệu bao gồm: lá cây Khôi (*Folium Ardisiae*) - 19%, lá cây Chè dây (*Folium Ampelopsis*) - 15%, lá và cành cây Khổ sâm (*Folium et Ramulus Crotonis tonkinensis*) - 12%, phần trên mặt đất của cây Dạ cầm (*Herba Hedyotidis capitellatae*) - 15%, thân cây Bồ công anh (*Taraxacum officinale*) - 12%, thân rễ cây Nghệ (*Rhizoma Curcumae longae*) - 7%, Mai con mực (*Os Sepiae*) - 20% được phối trộn với nhau theo một tỷ lệ nhất định dựa trên cơ sở lý luận và biện chứng của y học cổ truyền và kinh nghiệm của lương y. Bài thuốc LCD20 đã được chiết xuất tạo cao đặc và bào chế thành dạng viên hoàn mềm sử dụng để điều trị bệnh trên một số bệnh nhân được chẩn đoán viêm loét dạ dày tá tràng tại tỉnh Thừa Thiên - Huế theo nguyên tắc điều trị giai đoạn sớm của bệnh thì dùng phép sơ can lí khí thanh nhiệt chỉ thống, giai đoạn sau của bệnh thì dùng pháp kiện tỳ dưỡng vị, hoạt huyết sinh cơ. Với liều trung bình là 4 viên/liều x 3 liều/ngày đã thể hiện tác dụng rất tốt sau 1 - 2 tháng điều trị tùy theo tình trạng bệnh. Các triệu chứng liên quan bệnh lý viêm loét dạ dày tá tràng không còn tái phát.

Các vị dược liệu này đều có hiệu quả điều trị cho các bệnh lý về dạ dày tá tràng và được công bố trong các y văn và tạp chí chuyên ngành [1-6]. Tuy nhiên, liệu sự phối hợp của 7 vị dược liệu trên có nguy cơ gây ra độc tính hay tác dụng phụ không đang cần được làm rõ. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của cao thuốc LCD20, tạo cơ sở cho các nghiên cứu thử nghiệm đánh giá tác dụng dược lý tiếp theo.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu nghiên cứu

Động vật thí nghiệm: Chuột nhắt chủng Swiss, trọng lượng từ 28 - 40 g, khỏe mạnh, được cung cấp bởi viện Vệ sinh dịch tễ Pasteur Nha Trang. Chuột được nuôi với chế độ ăn bình thường 7 ngày trong điều kiện 12 giờ sáng, 12 giờ tối, nhiệt độ phòng để thích nghi với môi trường mới, thức ăn và nước uống được cung cấp không giới hạn.

Cao thuốc thử nghiệm: Bài thuốc LCD20 được

phối chế từ 7 vị dược liệu với công thức tỷ lệ như trên, sau khi xay mịn qua rây 60 mesh, cân chính xác khoảng 200 g bột cho vào bình ngấm kiệt, thêm 450mL cồn ethanol 85° vào để làm ẩm bột dược liệu. Sau đó cho dung môi vào bình ngập cách bề mặt bột thuốc 4 - 5 cm và ngâm lạnh trong 5 giờ. Mở khóa bình để rút dịch chiết với tốc độ 0,5 mL/phút, đồng thời luôn bổ sung liên tục cồn ethanol 85° vào để làm ngập bề mặt dược liệu. Tổng thể tích cồn ethanol 85° sử dụng là 2,3 L. Sau khi thu toàn bộ dịch đem cô quay dưới áp suất giảm ở nhiệt độ 60°C để bay hơi hết dung môi thu được cao đặc. Lượng cao đặc thu được là 20g đạt hiệu suất là 1/10 so với lượng bột thuốc ban đầu. Bảo quản cao đặc ở nhiệt độ -20°C.

Dụng cụ: bơm tiêm, kim tiêm đầu tù, bộ dụng cụ mổ chuột bao gồm: dao, kéo, kẹp, banh, bàn mổ, lồng chuột, bình đựng nước uống, và các dụng cụ cần thiết, ống xét nghiệm.

Thiết bị: Máy xét nghiệm sinh hóa tự động (Cobas 6000 - Roche), máy xét nghiệm huyết học tự động (Sysmex), máy xử lý mô tự động (autotechnichron), máy vi thiết (microtome), kính hiển vi.

Hóa chất nghiên cứu: hóa chất dùng trong giải phẫu mô bệnh học gồm formol, paraffin, xylen, ammoniac, natri hydroxit 1 N, 0,1 N, 0,45 N, axít chlohydrit 1 N, 0,2 N, Diethyleter, EDTA 2%, axít picric 1% đạt tiêu chuẩn theo DĐVN 4 2012.

2.2. Xác định độc tính cấp của cao thuốc LCD20

Theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon của Đỗ Trung Đàm [7], hướng dẫn thử thuốc trên lâm sàng của Bộ Y tế [8] và OECD [10]. Khảo sát độc tính cấp của cao thuốc LCD20 bằng cách cho mỗi lô chuột uống cao thuốc LCD20 có nồng độ tăng dần đến nồng độ đậm đặc nhất mà chuột có thể uống được với ba lần uống trong vòng 24 giờ, theo dõi hành vi và biểu hiện chức năng trong vòng 72 giờ. Ghi nhận số chuột chết và số chuột có biểu hiện độc tính để xác định được liều làm chết 50% động vật thí nghiệm [7].

- Thăm dò liều thử nghiệm: tiến hành cho hai chuột uống cao thuốc LCD20 ở liều dự kiến là liều cao nhất mà chuột có thể uống bằng kim tiêm đầu tù (thể tích 0,2 mL/10g trọng lượng chuột), tiến hành theo dõi chuột trong 72 giờ sau khi uống thuốc. Nếu cả 2 con đều chết thì giảm liều đi một nửa. Nếu có 1 con sống, 1 con chết thì lấy liều đó làm liều cơ sở cho thử nghiệm chính thức [7, 8].

Cao thuốc được phân tán trong nước để được cao lỏng nồng độ 5,17 g/mL là nồng độ đậm đặc lớn nhất, được bảo quản trong nhiệt độ 4°C để cho các thử nghiệm trên chuột.

Các cá thể chuột được chia thành 5 lô (N=10),

chuột được nhịn ăn 12 giờ trước khi thử nghiệm, vẫn cho uống nước đầy đủ. Các lô thử được cho uống cao thuốc với thể tích 0,2 mL/10g trọng lượng chuột/lần x 3 lần/24 giờ, mỗi lần cách nhau 3 giờ. Mức liều cho uống ở mỗi lô giảm dần: X g bột được liệu/kg thể trọng (liều cơ sở), bước nhảy liều 30% (tức liều nhỏ bằng 70% liều lớn kèm sát). Theo dõi số chuột chết, sống trong vòng 72 giờ sau thử nghiệm và quan sát các dấu hiệu trong vòng 7 ngày: hành vi, cân nặng cơ thể, hệ tiêu hóa, hệ bài tiết, hệ hô hấp và chuột sẽ được mổ để quan sát đại thể những động vật bị chết trong thời gian theo dõi. Xác định liều LD₅₀ của cao thuốc LCD20 trên chuột [7, 8].

2.3. Xác định độc tính bán trường diễn của cao thuốc LCD20

Đánh giá độc tính bán trường diễn của cao thuốc LCD20 theo hướng dẫn của Bộ Y tế [8] và OECD [10]. Tiến hành đánh giá độc tính bán trường diễn trên chuột nhắt trắng chủng Swiss uống cao thuốc LCD20 trong 90 ngày. Thăm dò độc tính bán trường diễn dựa vào sự thay đổi chỉ số sinh hóa, huyết học cũng như thay đổi về đại thể và vi thể của gan, thận giữa các lô sau khi cho chuột uống các liều khác nhau trong thời gian 3 tháng [8].

Chuột nhắt Swiss được chia làm 3 lô (N=10), được cho uống trong 90 ngày, mỗi ngày một lần vào buổi sáng. Lô chứng: uống nước cất, thể tích 0,2 mL/10 g trọng lượng chuột/ngày. Lô AT1: uống cao thuốc LCD20 liều thấp 0,46 g/kg/ngày (tương đương liều sử dụng trên người là 0,04 g/kg x hệ số quy đổi 11,76). Lô AT2: uống thuốc thử liều cao 1,38 g/kg/ngày (gấp 3 lần lô AT1) [8].

Bảng 1. Bảng theo dõi tình trạng sinh lý chung của chuột trong 72 giờ

Mức liều	Da	Lông	Mắt	Tiêu hóa	Hô hấp	Tuần hoàn	Vận động	Thần kinh	Số chuột chết
2,26 g/kg	-	-	-	-	-	-	-	-	0/10
3,22 g/kg	-	-	-	-	-	-	-	-	0/10
4,61 g/kg	-	-	-	-	-	-	-	-	0/10
6,58 g/kg	-	-	-	-	-	-	-	-	0/10
9,40 g/kg	-	-	-	-	-	-	-	-	0/10

Ghi chú: (-) không ghi nhận dấu hiệu bất thường.

Đồng thời, các lô thử nghiệm được cân trước và sau 7 ngày thử nghiệm nhằm đánh giá ảnh hưởng của cao lỏng LCD20 lên cân nặng. Kết quả theo dõi được thể hiện ở *Bảng 2*.

Bảng 2. Theo dõi cân nặng chuột trong vòng 7 ngày

Thời gian	Cân nặng chuột (g)				
	2,26 g/kg	3,22 g/kg	4,61 g/kg	6,58 g/kg	9,40 g/kg
Trước thử nghiệm	39,2	35,2	36,6	30,1	31,9
Sau 7 ngày	42,8	38,1	39,9	33,8	34,5
T-test	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05

Các chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình nghiên cứu: tình trạng chung, thể trọng của chuột; chức năng tao máu (số lượng hồng cầu, số lượng bạch cầu, số lượng tiểu cầu, hàm lượng huyết sắc tố); chức năng gan (định lượng nồng độ SGOT, SGPT); chức năng thận (định lượng nồng độ creatinin, ure, albumin). Đánh giá tại thời điểm 45 ngày và 90 ngày uống thuốc.

Sau 90 ngày uống thuốc, mổ ngẫu nhiên 03 con mỗi lô để lấy mô gan và thận chuột, bảo quản trong formol 10%, nhuộm Hematoxylin và Eosin để đánh giá đại thể, vi thể gan và thận của các chuột ở mỗi lô.

Sử dụng phần mềm thống kê SPSS 20.0 để xử lý số liệu. So sánh sự khác biệt thống kê giữa các nhóm bằng T-test và Anova- test với độ tin cậy 95%. Các kết quả được biểu diễn dạng giá trị trung bình ± SD.

3. KẾT QUẢ

3.1. Xác định độc tính cấp của cao thuốc LCD20

Để dò liều ban đầu, 2 chuột sau khi được uống cao LCD20 với liều đậm đặc nhất là 9,40 g/kg thể trọng chuột x 3 lần/24 giờ bằng kim tiêm đầu tủy và được theo dõi 72 giờ sau khi uống thì không phát hiện thấy chuột chết. Như vậy, liều cơ sở dùng trong thử nghiệm chính thức là liều đậm đặc nhất mà chuột có thể uống là 9,40g/kg thể trọng chuột x 3 lần/24 giờ (cho uống cao lỏng LCD20 5,17 g/mL).

Các cá thể chuột nhịn đói 12 giờ qua đêm được cho uống cao lỏng LCD20 ở các mức liều giảm dần từ 9,40 - 6,58 - 4,61 - 3,22 - 2,26 g/kg trọng lượng chuột, kết quả quan sát chuột sau 72 giờ và 7 ngày được thể hiện ở *Bảng 1*.

Kết quả sau khi theo dõi biểu hiện chức năng của chuột ở các lô thử cho thấy chuột đều khỏe mạnh, di chuyển và ăn uống bình thường, da, lông, mắt cũng như các cơ quan tiêu hóa, hô hấp, vận động, thần kinh đều không có hiện tượng bất thường và không có chuột nào chết sau 72 giờ. Thể trọng chuột ở các lô thử đều tăng bình thường và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa trọng lượng trước và sau thử nghiệm. Do vậy, cao lỏng LCD20 với mức liều cao nhất là 9,40 g cao/kg/24 giờ vẫn chưa xác định được giá trị LD₅₀. Theo bảng phân loại độc tính cấp dựa trên giá trị LD₅₀ thì LCD20 thuộc nhóm 6 “Gần như không độc” [8].

3.2. Độc tính bán trường diễn của cao thuốc LCD20

- Đánh giá sự ảnh hưởng của LCD20 lên tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng

Tất cả các chuột thử nghiệm đều được theo dõi hàng ngày, sau 45 ngày và 90 ngày tất cả các chuột đều sống và hoạt động bình thường, ăn uống tốt, không có hiện tượng rụng lông hoặc khô cứng, không có chuột nào có hành vi hoặc bất cứ biểu hiện bất thường nào. Đồng thời, trọng lượng các lô chuột trước và sau thí nghiệm tại 45 và 90 ngày được thể hiện trong *Bảng 3*.

Bảng 3. Ảnh hưởng của cao lỏng LCD20 đến thể trọng

Thời gian	Trước khi thí nghiệm	Sau 45 ngày thí nghiệm	Sau 90 ngày thí nghiệm	T-test
Trọng lượng lô chứng (g)	30,25 ± 0,46	36,46 ± 0,44	43,91 ± 0,33	p<0,05
Trọng lượng lô AT1 (g)	31,16 ± 0,98	38,20 ± 0,79	45,12 ± 0,42	p<0,05
Trọng lượng lô AT2 (g)	31,78 ± 0,56	37,50 ± 0,99	44,01 ± 0,27	p<0,05
Anova – test	p>0,05	p>0,05	p>0,05	

So sánh trọng lượng cơ thể chuột ở cả 2 lô dùng cao LCD20 so với lô chứng tại các thời điểm, nhận thấy sự tăng trọng này không có ý nghĩa thống kê (p>0,05). Đồng thời lại thấy được sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa trọng lượng trong cùng một lô tại các thời điểm 45 ngày và 90 ngày (p<0,05), nghĩa là chuột của cả 3 lô đều tăng cân sau 45 ngày và 90 ngày thí nghiệm. Điều này cho thấy cao lỏng LCD20 không gây ảnh hưởng đến trọng lượng của chuột thí nghiệm.

- Đánh giá sự ảnh hưởng của cao lỏng LCD20 lên các chỉ số huyết học và sinh hóa

Ảnh hưởng của cao lỏng LCD20 lên chức năng tạo máu của chuột được đánh giá thông qua các chỉ số huyết học bao gồm hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu và nồng độ hemoglobin, chức năng gan và thận thông qua các chỉ số SGOT, SGPT, ure, creatinin và albumin được thể hiện ở được trình bày ở *Bảng 4*.

Bảng 4. Chỉ số huyết học của chuột ở các lô thử nghiệm

Thời điểm	Lô chứng	Lô AT1	Lô AT2	Anova-test
Số lượng hồng cầu ($10^6/\mu\text{L}$)				
Sau 45 ngày	9,41 ± 0,03	9,84 ± 0,46	9,73 ± 0,19	p>0,05
Sau 90 ngày	10,13 ± 1,03	10,46 ± 0,86	9,51 ± 0,97	p>0,05
Số lượng bạch cầu ($10^3/\mu\text{L}$)				
Sau 45 ngày	5,92 ± 1,73	4,51 ± 2,91	5,91 ± 1,02	p>0,05
Sau 90 ngày	4,25 ± 1,33	4,26 ± 1,70	3,40 ± 1,60	p>0,05
Số lượng tiểu cầu ($10^3/\mu\text{L}$)				
Sau 45 ngày	911,00 ± 79,54	876,00 ± 54,84	956,00 ± 147,22	p>0,05
Sau 90 ngày	910,50 ± 94,57	900,38 ± 206,48	890,67 ± 161,13	p>0,05
Nồng độ Hemoglobin (g/dL)				
Sau 45 ngày	13,97 ± 0,45	14,10 ± 0,1	14,03 ± 0,55	p>0,05
Sau 90 ngày	15,22 ± 1,57	14,92 ± 1,07	14,10 ± 1,44	p>0,05
Hoạt độ SGPT (U/L)				
Sau 45 ngày	54,60 ± 7,97	45,10 ± 11,89	43,30 ± 3,58	p>0,05
Sau 90 ngày	55,56 ± 11,78	65,47 ± 15,28	66,98 ± 16,83	p>0,05

Hoạt độ SGOT (U/L)				
Sau 45 ngày	298,23 ± 32,96	303,70 ± 166,97	175,63 ± 36,97	p>0,05
Sau 90 ngày	232,28 ± 90,78	327,52 ± 100,62	242,98 ± 86,55	p>0,05
Nồng độ Albumin (g/L)				
Sau 45 ngày	37,00 ± 3,72	39,20 ± 4,10	36,77 ± 1,99	p>0,05
Sau 90 ngày	40,45 ± 3,93	42,78 ± 2,5	38,78 ± 3,55	p>0,05
Nồng độ Ure (mmol/L)				
Sau 45 ngày	5,43 ± 0,35	5,17 ± 0,42	5,27 ± 0,81	p>0,05
Sau 90 ngày	8,27 ± 2,07	10,51 ± 2,56	8,4 ± 0,93	p>0,05
Nồng độ Creatinin (mmol/L)				
Sau 45 ngày	31,67 ± 1,53	33,33 ± 4,04	31,00 ± 2,65	p>0,05
Sau 90 ngày	33,00 ± 1,90	32,00 ± 2,10	30,16 ± 2,86	p>0,05

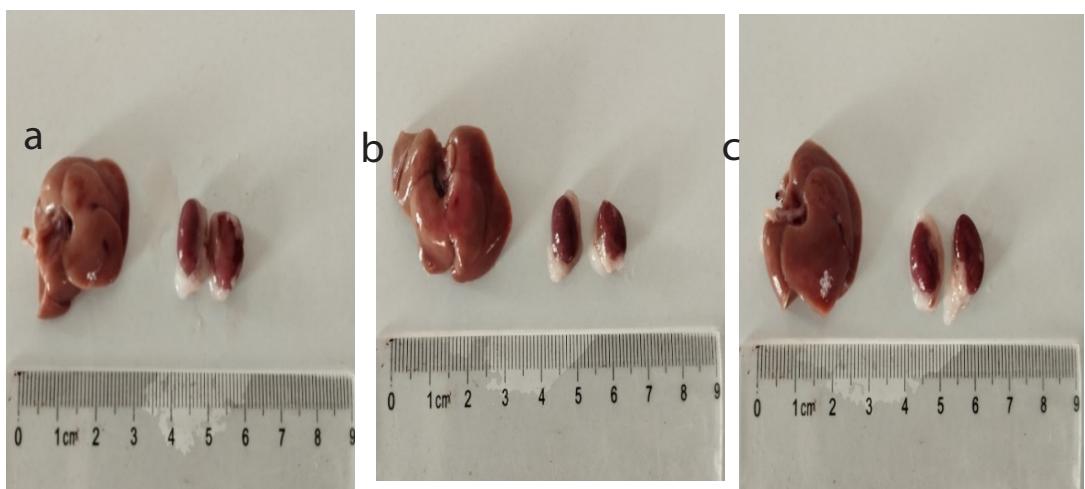
Kết quả cho thấy sau 45 ngày và 90 ngày thử nghiệm, các chỉ số huyết học bao gồm: số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, nồng độ Hemoglobin của các lô thử không có sự khác biệt so với lô chứng (p>0,05). Như vậy, cao thuốc LCD20 với mức liều bình thường 0,46 g/kg/ngày và liều cao 1,37 g/kg/ngày được sử dụng cho chuột uống trong vòng 90 ngày nghiên cứu không gây ảnh hưởng đến chức năng gan, thận của chuột thử nghiệm.

Bên cạnh đấy, các chỉ số sinh hóa chức năng thận gồm nồng độ Albumin, Ure và Creatinin của các lô thử không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so

với lô chứng (p>0,05). Như vậy, cao thuốc LCD20 với mức liều bình thường 0,46 g/kg/ngày và liều cao 1,37 g/kg/ngày được sử dụng cho chuột uống trong vòng 90 ngày nghiên cứu không gây ảnh hưởng đến chức năng gan, thận của chuột thử nghiệm.

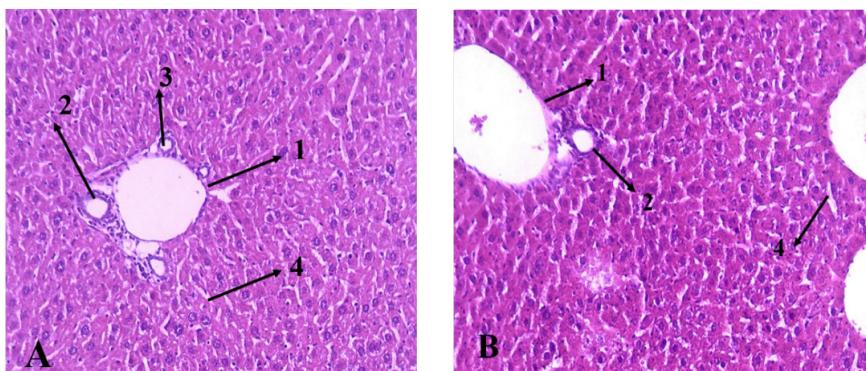
- Đánh giá sự ảnh hưởng của LCD20 lên đại thể và vi thể mô gan và thận

Tiến hành giải phẫu mô gan và thận chuột để quan sát đại thể thấy các tổ chức gan, thận của chuột lô chứng và các lô thử đều bình thường, không có biểu hiện xung huyết hay dấu hiệu tổn thương (Hình 1).



Hình 1. Hình ảnh đại thể gan và thận của lô chứng (a), lô AT1 (b) và lô AT2 (c)

Đồng thời, mô gan và thận chuột được phẫu tích, lấy mẫu làm xét nghiệm mô học bằng phương pháp nhuộm Hematoxylin - Eosin. Kết quả quan sát và phân tích vi thể mô gan với độ phóng đại 100 lần được trình bày ở Hình 2.

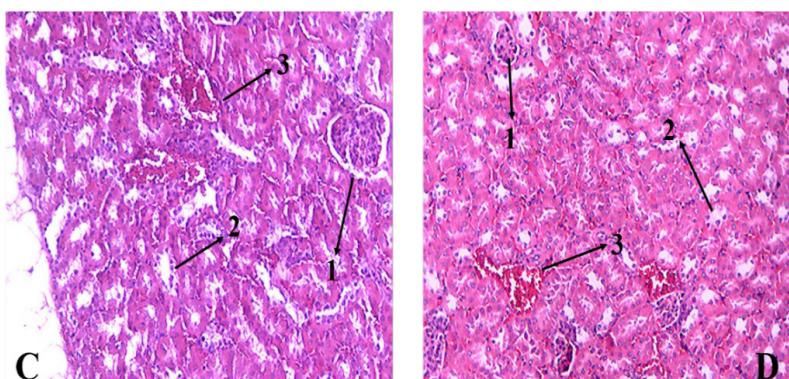


Hình 2. Mô gan ở lô chứng (A) và lô AT2 (B) ở độ phóng đại 100
(1. Tĩnh mạch; 2. Ống mật; 3. Động mạch; 4. Mao mạch nan hoa).

Kết quả cho thấy không có hình ảnh bất thường về mô gan trên các lô chuột quan sát ở độ phóng đại 100 lần. Cụ thể về cấu trúc của tiểu thùy gan, tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy không bị biến dạng, các tế bào bè gan xếp thành 2 - 3 hàng, không có bè gan nào dày đặc lên thành 4 - 5 hàng tế bào, mao mạch nang hoa không có sự xô lệch từ chiều dọc sang chiều ngang, tế bào gan không bị dày lên. Về cấu trúc của khoảng cửa không quan sát thấy tế

bào xơ xâm nhập khoảng cửa (thường gặp trong các trường hợp xơ gan), không quan sát thấy sự xâm nhập của lympho bào (thường gặp trong trường hợp viêm gan) và không thấy hình ảnh quá sản bất thường của tế bào biểu mô gan (thường gặp trong trường hợp ung thư gan).

Kết quả quan sát mô thận chuột với độ phóng đại 100 lần được trình bày ở Hình 3.



Hình 3. Mô thận ở lô chứng (C) và lô AT2 (D) ở độ phóng đại 100
(1. Tiểu cầu thận; 2. Ống lượn gần; 3. Mạch máu)

Kết quả cho thấy không có dấu hiệu bất thường trên mô thận các lô chuột. Cụ thể ở vùng vỏ thận không có sự tăng sinh tế bào xơ (thường gặp trong trường hợp viêm cầu thận mạn); vùng túy thận không có sự xung huyết giữa các mao mạch cầu thận, không có sự xâm nhập lympho bào vào giữa tiểu cầu thận (thường gặp trong trường hợp viêm cầu thận); và ống thận không bị giãn rộng, teo nhỏ hoặc vỡ. Như vậy, cao thuốc LCD20 dù được sử dụng liên tục trong 90 ngày vẫn không gây biến đổi về tổ chức học của mô gan và thận chuột.

4. BÀN LUẬN

Từ kết nghiên cứu trên đã cho thấy cao thuốc LCD20 đã không thể hiện bất kỳ độc tính cấp và độc tính bán trường diễn nào trên chuột thí nghiệm. Với thử nghiệm độc tính cấp, cao thuốc LCD20 với liều 94 g/kg là liều tối đa có thể dùng được bằng đường uống để đánh giá độc trên chuột (thể tích 0,2 mL/10g trọng lượng chuột/1 lần x 3 lần/24 giờ) nhưng chưa xác định được LD₅₀ và được xếp vào mức độ “Gần như không độc” [1, 2, 7, 8]. Với thử nghiệm độc tính bán trường diễn sau 90 ngày theo dõi, cao thuốc

LCD20 dù với liều bình thường 0,46 g/kg/ngày và liều cao gấp 3 lần điều dự kiến sử dụng cho điều trị loét dạ dày, tá tràng là 1,37 g/kg/ngày vẫn không ảnh hưởng đến chức năng huyết học, sinh hóa và chức năng gan, thận của chuột thực nghiệm.

Trong cơ thể, gan và thận là các cơ quan đảm nhận nhiều chức năng quan trọng, trong đó có chức năng chuyển hóa và đào thải thuốc, chất độc. Khi đưa thuốc vào cơ thể có thể gây độc cho gan và thận làm ảnh hưởng đến chức năng của mô. Vì vậy, nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc đến gan và thận là rất cần thiết khi đánh giá độc tính của thuốc [11]. Để đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan, chúng tôi định lượng nồng độ các enzym có nguồn gốc tại gan có trong huyết thanh. Sự tăng nồng độ các enzym này có liên quan đến độc tính của thuốc có liên quan đến sự hủy hoại tế bào gan. Chức năng thận được đánh giá thông qua nồng độ ure, albumin và creatinin huyết thanh.

Kết quả này tương tự với kết quả của Nghiêm Thị Thanh Hường và cộng sự (2014) [6] khi nghiên cứu độc tính của bài thuốc “Dạ dày HĐ” có chứa một số thành phần giống LCD20 gồm: Lá khôi, Ô tặc cốt, Chè dây và Sa nhân, Hương phụ, Mộc hương. Theo nghiên cứu này, các nhóm chuột cống trắng được cho uống các liều dự kiến điều trị là 0,48g/kg/ngày và liều cao là 1,44 g/kg/ngày liên tục trong vòng 3 tháng, kết quả cho thấy bài thuốc không gây ảnh hưởng đến chỉ số huyết học, sinh hóa và chức năng

gan, thận của chuột sau 3 tháng thử nghiệm.

Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của Phạm Thanh Tùng (2023) [9] về độc tính bán trường diễn của viên nang cứng Dạ dày Tuệ Tĩnh với thành phần gồm: Lá Khôi, chè Dây, Chỉ thực, Hậu phát, Bạch linh, Cam thảo, Xuyên luyễn tử trên chuột cống trắng với lô chứng dùng nước cất, hai lô thử dùng liều lần lượt là 285,6 mg/kg/ngày và 856,8 mg/kg/ngày trong vòng 28 ngày, kết quả cho thấy viên nang cứng Dạ dày Tuệ Tĩnh không gây ảnh hưởng đến chức năng sinh hóa cũng như mô học gan và thận của chuột. Tuy nhiên, vì nghiên cứu này đánh giá độc tính trên bột dược liệu nên phải sử dụng một khối lượng lớn thuốc thử để cho chuột uống, nên gây một số khó khăn nhất định trong quá trình thử nghiệm.

5. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Về độc tính cấp, chưa tìm thấy LD₅₀ của cao thuốc LCD20, với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống là 9,4 g/kg thể trọng vẫn không có biểu hiện độc tính cấp. Về độc tính bán trường diễn, cao thuốc LCD20 với liều điều trị dự kiến là 0,46 g/kg/ngày và liều cao là 1,37 g/kg/ngày dùng liên tục trong 90 ngày không gây ảnh hưởng lên tình trạng chung, thể trọng chuột, không làm thay đổi chỉ số huyết học và sinh hóa, không gây tổn thương mô gan và thận chuột. Đây chính là cơ sở quan trọng để tiếp tục đánh giá tác dụng dược lý của cao thuốc LCD20 trong *in-vivo* tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đỗ Tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y học. 2014.
- Hạnh Lâm, Nguyễn Văn Minh. Dược Tính Chỉ Nam. Nhà xuất bản Hải Phòng. 2002.
- Phạm Thanh Kỳ. Nghiên cứu quy trình sản xuất ampelop từ chè dây (*Ampelopsis cantoniensis* Planch. Vitaceae) để điều trị viêm loét dạ dày hành tá tràng và tiếp tục đánh giá tác dụng lâm sàng của thuốc. Tạp chí dược liệu. 2004;5:143-6.
- Lại Quang Long. Nghiên cứu hoạt tính kháng *Heloribacter Pylori* của một số chế phẩm từ cây Dạ cẩm. Tạp chí dược liệu. 2000;5:143-6.
- Phạm Bá Tuyến, Nguyễn Trọng Thông, Đỗ Thị Phương, Phan Văn Hoàn, Vũ Thị Ngọc Thanh, Nguyễn Phương Thanh. Nghiên cứu tác dụng kháng *Helicobacter Pylori* và chống loét tá tràng của Hpmax. Tạp chí nghiên cứu Y học, Đại học Y Hà Nội. 2012; 3C (80):109-15.
- Nghiêm Thị Thanh Hường, Nguyễn Thị Thanh Tú. Độc tính cấp và bán trường diễn của viên nang cứng từ bài thuốc Dạ dày HĐ trên thực nghiệm. Tạp chí nghiên cứu Y học, Đại học Y Hà Nội. 2024;174(1):173-82.
- Đỗ Trung Đàm. Phương pháp xác định độc tính của thuốc: Nhà xuất bản Y học; 2014.
- Bộ Y tế. Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu. Quyết định số 141/QĐ-K2ĐT ngày 27/10/2015; 2015.
- Phạm Thanh Tùng, Nguyễn Thị Vân Anh, Tô Lê Hồng, Phạm Quốc Sỹ. Đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của viên nang cứng dạ dày Tuệ Tĩnh trên mô hình thực nghiệm. Tạp Chí Y Dược cổ truyền Việt Nam. 2023; 53(6), 26-33.
- Organisation for Economic Cooperation and Development. Guideline 425: Acute oral toxicity-Up-and-down procedure, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. 2008.
- Nurzadrina Wahyuddin, Yury Pratiwi Utami, Noer Fauziah Rahman, Andi Rainun Puspa Nodjeng, Kezya Ratu Marewa. Histopathological features of mice liver and kidney on oral acute testing of white radish tuber *lyophilisae*. Universal Journal of Pharmaceutical Research. 2024; 9 (1), pp. 22-29.