Đánh giá ảnh hưởng của bài thuốc "Thái bình HV" lên các chỉ số sinh hóa và mô bệnh học của động vật thực nghiệm

EVALUATE THE EFFECT OF "THAI BINH HV" REMEDY ON THE BLOOD BIOCHEMICAL AND HISTOPATHOLOGICAL IMAGE ON EXPERIMENTAL ANIMAL

Nguyễn Thị Mai Linh[1], Nguyễn Thị Như Quý[2], Nguyễn Văn Quân[1], Nguyễn Hoàng Ngân[3], Trần Đức Hữu[1]

[1]Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam

[2]Đại học Đại Nam

[3]Học viện Quân y

TÓM TẮT

Mục tiêu: *Đánh giá ảnh hưởng của bài thuốc "Thái bình HV" lên các chỉ số sinh hóa máu đánh giá chức năng gan, thận và hình ảnh mô bệnh học gan, lách, thận.*

Phương pháp: *Chuột cống trắng được cho uống "Thái bình HV" liều 11,90g/kg/ngày và 35,70g/kg/ngày, hàng ngày trong 30 ngày. Xét nghiệm các chỉ số sinh hoá máu ALT, AST, billlirubin TP, albumin, cholesterol TP, creatinin tại 3 thời điểm: trước uống thuốc, sau 15 ngày và sau 30 ngày uống thuốc. Hình ảnh đại thể và vi thể gan, lách, thận chuột được đánh giá khi kết thúc thí nghiệm.*

Kết quả: *Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh các chỉ số sinh hóa máu giữa các lô với nhau trong cùng thời điểm cũng như trong từng lô giữa các thời điểm đánh giá. Hình ảnh đại thể và mô bệnh học của gan, lách, thận bình thường.*

Kết luận: *Bài thuốc "Thái bình HV" không ảnh hưởng lên chức năng gan, thận và mô bệnh học gan, lách thận ở các mức liều dùng 11,90g/kg/ngày và 35,70g/kg/ngày và thời gian sử dụng 30 ngày trong nghiên cứu thực nghiệm trên chuột cống trắng.*

Từ khóa: *"Thái bình HV", sinh hóa máu, hình ảnh mô bệnh học.*

ABSTRACT

Objective: *To evaluate the effect of "Thai binh HV" remedy on the blood biochemical indices to assess liver and kidney function and histopathological images of liver, spleen, and kidney.*

Methods: *Wistar rats were given "Thai binh HV" at doses of 11.90 g/kg/day and 35.70 g/kg/day, daily*

Ngày nhận bài: 6/01/2022

Ngày phản biện: 10/01/2022

Ngày chấp nhận đăng: 10/2/2022

during 30 days. Testing blood biochemical indicators ALT, AST, billlirubin TP, albumin, cholesterol TP, creatinine at 3 times: before taking the drug, after 15 days and after 30 days of taking the drug. Macroscopic and microscopic images of liver, spleen, and kidney of rats were evaluated at the end of the experiment. the extract of Thai binh HV remedies with doses of 11.90 g/kg/day and 35.70 g/kg/day, daily during 30 days to rats.

Results: *There was no statistically significant difference when comparing blood biochemical indices between groups at the same time as well as in each group between the evaluation times. Macroscopic and histopathological images liver, spleen, and kidneys were normal.*

Conclusion: *The "Thai binh HV" remedy did not affect liver, kidney function and histopathology of liver, spleen and kidney at the doses of 11.90 g/kg/day and 35.70 g/kg/day and usage time 30 date in experimental study on wistar rats.*

Keywords: *"Thai binh HV", blood chemistry, histopathological images.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm khớp dạng thấp (VKDT) là một bệnh lý tự miễn điển hình, diễn biến mạn tính với các biểu hiện tại khớp, ngoài khớp và toàn thân ở nhiều mức độ khác nhau. VLDT chiếm tỷ lệ mắc bệnh khoảng 0,3-1% dân số thế giới [1], riêng ở nước ta có khoảng 0,52% dân số mắc bệnh này, tập trung 80% ở độ tuổi trung niên, người già. Bệnh cần điều trị lâu dài và theo dõi thường xuyên, Các thuốc điều trị cơ bản bao gồm nhóm thuốc DMARDs (Disease-modifying antirheumatic drugs) kinh điển (methotrexate, sulfasalazine, hydroxychloroquine...), và các thuốc cắt cơn như NSAIDs, corticoid nhằm giảm đau chống viêm nhanh chóng, tuy nhiên nhược điểm của các nhóm thuốc này là có nhiều tác dụng không mong muốn, việc sử dụng kéo dài dễ dẫn tới nguy cơ mắc các bệnh lý như: viêm dạ dày, xuất huyết tiêu hóa, loãng xương... [2]. Vì vậy, việc nghiên cứu ra các thuốc chữa VKDT có hiệu quả điều trị cao và ít tác dụng không mong muốn đang là mục tiêu hàng đầu của các nhà y học.

Hiện nay, xu thế sử dụng thảo dược trong điều trị đang được quan tâm nhiều, đẩy mạnh hiện đại hóa Y Dược học cổ truyền, nghiên cứu bảo tồn, xây dựng trên cơ sở bài thuốc Thái Bình, là một bài thuốc Nam kinh nghiệm đã được nhân dân ta sử dụng lâu đời để chữa các bệnh liên quan tới xương khớp có hiệu quả, và được ghi lại trong quyển sách "Toa thuốc Đông y cổ truyền Việt Nam" của Bác sĩ Nguyễn Văn Hưởng (1906-1998) [3]. Để mở rộng ứng dụng cũng như định hướng phát triển sản phẩm từ bài thuốc phục vụ chăm sóc sức khoẻ nhân dân, các nghiên cứu để đưa ra các bằng chứng khoa học về tính an toàn và hiệu quả của bài thuốc cần được tiến hành. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu đánh giá ảnh hưởng của bài thuốc "Thái bình HV" tới một số chỉ số sinh hóa đánh giá chức năng gan, thận và mô bệnh học gan, lách, thận trên chuột thực nghiệm.

CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chất liệu, đối tượng và thiết bị nghiên cứu

Thuốc nghiên cứu

Bài thuốc "Thái bình HV".

Bảng 1. Thành phần bài thuốc "Thái bình HV"

Tên vị thuốc	Tên khoa học	Hàm lượng (g)

Tên vị thuốc	Tên khoa học	Hàm lượng (g)
Tỳ giải	*Rhizoma Dioscoreae*	10g
Ngũ gia bì chân chim	*Cortex Schefflera heptaphyllae*	10g
Dây đau xương	*Caulis Tinosporae tomentosae*	10g
Cốt khí củ	*Radix Polygoni cuspidaii*	10g
Cam thảo dây	*Herba Abri precatorii*	05g
Cà gai leo	*Radix et Ramulus Solani*	10g
Củ khúc khắc	*Rhizoma Smilacis glabrae*	10g
Thiên niên kiện	*Rhizoma Homalomenae*	10g

Các dược liệu trong bài thuốc được dùng dưới dạng dược liệu khô và đạt tiêu chuẩn trong Dược điển Việt Nam V [4].

Cao nước chiết xuất từ bài thuốc "Thái bình HV" có tỷ lệ 1:1 (1ml dịch chiết tương đương 1g dược liệu của bài thuốc). Quá trình chiết xuất được thực hiện bằng máy tự động tại Khoa Dược - Bệnh viện Tuệ Tĩnh.

Từ dịch chiết 1:1 thuốc được cô đặc về cao có độ ẩm 15-20% theo tỷ lệ thích hợp để cho chuột uống. Liều dùng của thuốc được tính theo gam dược liệu khô. Bài thuốc "Thái bình HV" có tổng số gam dược liệu khô là 85g, dự kiến sử dụng cho 1 người (50kg) uống trong 1 ngày [49]. Như vậy liều dùng trên người là 85/50kg/24h = 1,70g/kg/24h. Quy đổi ra liều dự kiến có tác dụng ở chuột cống trắng là 1,70 x 7 = 11,90g/kg/24h.

Đối tượng nghiên cứu

Chuột cống trắng chủng Wistar số lượng 30 con khỏe mạnh, trọng lượng 160-180g do Ban động vật Học viện Quân y cấp, nuôi dưỡng theo tiêu chuẩn động vật nghiên cứu.

Thiết bị, hóa chất

Máy xét nghiệm sinh hoá Biochemical Systems International Srl, Italia, model 3000 Evolution, hóa chất của hãng.

Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đánh giá ảnh hưởng của "Thái bình HV" lên các chỉ tiêu sinh hóa

Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên làm 3 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (lô chứng): uống nước cất.
- Lô trị 1: uống "Thái bình HV" liều 11,90 g/kg/ngày
- Lô trị 2: uống "Thái bình HV" liều 35,70 g/kg/ngày (liều gấp 3 lô trị 1).

Chuột được uống "Thái bình HV" hoặc nước cất một lần vào 8 giờ sáng hàng ngày liên tục trong 30 ngày. Các chỉ số sinh hóa máu phản ánh chức năng gan, thận: ALT, AST, albumin, billlirubin toàn phần, cholesterol toàn phần, nồng độ creatinin huyết thanh [5], [6] được kiểm tra vào trước lúc uống thuốc, sau 15 ngày và sau 30 ngày uống thuốc.

Đánh giá ảnh hưởng của "Thái bình HV" lên mô bệnh học gan, thận

Sau 30 ngày uống thuốc, chuột được mổ để quan sát đại thể toàn bộ các cơ quan. Kiểm tra ngẫu nhiên cấu trúc vi thể gan, lách, thận của ít nhất 30% số chuột ở mỗi lô. Các xét nghiệm vi thể được thực hiện tại Bộ môn Khoa Giải phẫu bệnh Pháp y, Bệnh viện Quân y 103.

Xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý thống kê theo phép kiểm định t test-Student. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Kết quả đánh giá ảnh hưởng các chỉ tiêu sinh hóa

Kết quả được trình bày ở bảng 1, 2, và 3 dưới đây

Bảng 1. Ảnh hưởng của "Thái bình HV" đến hoạt độ AST, ALT trong máu chuột

Chỉ số	Thời điểm	Kết quả ($\overline{X} \pm SD$, n=10)			$p_{giữa\ các\ lô}$
		Lô chứng (1)	Lô trị 1(2)	Lô trị 2 (3)	
AST (UI/L)	$D_{0(a)}$	96,24 ± 20,12	99,06 ± 18,23	96,82 ± 19,69	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
	$D_{15(b)}$	98,39 ± 19,65	97,58 ± 20,27	94,23 ± 15,94	
	$D_{30(c)}$	95,92 ± 18,96	93,69 ± 19,45	93,81 ± 16,84	
	$P_{trước\ sau}$	$p_{a-b} > 0,05$; $p_{a-c} > 0,05$; $p_{b-c} > 0,05$			-
ALT (UI/L)	$D_{0(a)}$	75,24 ± 11,36	77,05 ± 12,05	77,92 ± 11,06	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
	$D_{15(b)}$	76,72 ± 13,45	74,69 ± 12,16	75,73 ± 10,64	
	$D_{30(c)}$	73,97 ± 10,32	71,96 ± 10,92	72,66 ± 13,01	
	$P_{trước\ sau}$	$p_{a-b} > 0,05$; $p_{a-c} > 0,05$; $p_{b-c} > 0,05$			-

Nhận xét: So sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, cũng như so sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, hoạt độ các enzym AST và ALT trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy "Thái bình HV" với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi hoạt độ các enzym AST và ALT trong máu chuột nghiên cứu.

Bảng 2. Ảnh hưởng của "Thái bình HV" đến nồng độ bilirubin TP và cholesterol TP trong máu chuột

Chỉ số	Thời điểm	Kết quả ($\overline{X} \pm SD$, n=10)			$p_{giữa\ các\ lô}$
		Lô chứng (1)	Lô trị 1(2)	Lô trị 2 (3)	
Bilirubin toàn phần (µmol/L)	$D_{0(a)}$	50,13 ± 12,70	51,04 ± 10,03	52,16 ± 11,80	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
	$D_{15(b)}$	52,16 ± 11,68	50,29 ± 13,01	49,18 ± 12,54	
	$D_{30(c)}$	48,38 ± 12,13	48,98 ± 11,58	48,62 ± 10,19	
	$P_{trước\ sau}$	$p_{a-b} > 0,05$; $p_{a-c} > 0,05$; $p_{b-c} > 0,05$			-
Cholesterol toàn phần (mmol/l)	D0 (a)	2,03 ± 0,48	2,06 ± 0,63	1,99 ± 0,59	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
	D15 (b)	2,09 ± 0,42	2,10 ± 0,45	2,05 ± 0,72	
	D30(c)	1,96 ± 0,47	1,98 ± 0,51	1,94 ± 0,64	
	$P_{trước\ sau}$	$p_{a-b} > 0,05$; $p_{a-c} > 0,05$; $p_{b-c} > 0,05$			-

Nhận xét: So sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, cũng như so sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, nồng độ bilirubin toàn phần và cholesterol toàn phần trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy "Thái bình HV" với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi nồng độ bilirubin toàn phần và cholesterol toàn phần trong máu chuột nghiên cứu.

Bảng 3. Ảnh hưởng của "Thái bình HV" đến nồng độ albumin và creatinin trong máu chuột

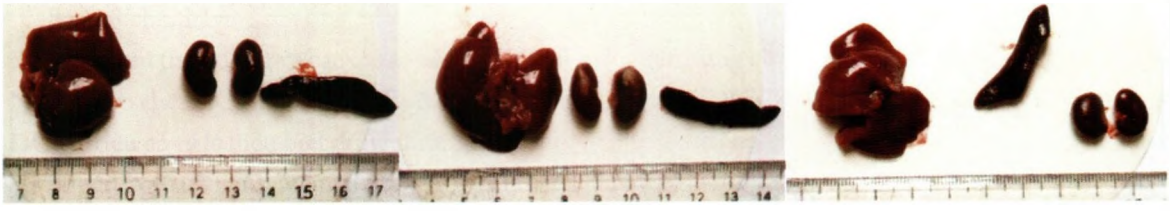
Chỉ số	Thời điểm	Kết quả ($\overline{X}$ ± SD, n=10)			$p_{giữa\ các\ lô}$
		Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	
Albumin (g/l)	$D_{0(a)}$	22,14 ± 2,18	21,99 ± 3,17	22,08 ± 2,09	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
	$D_{45(b)}$	22,19 ± 2,23	22,03 ± 1,99	22,10 ± 2,16	
	$D_{90(c)}$	22,06 ± 2,36	22,14 ± 2,06	22,27 ± 1,86	
	$p_{trước\ sau}$	$p_{a-b} > 0,05$; $p_{a-c} > 0,05$; $p_{b-c} > 0,05$			-
Creatinin (µmol/l)	$D_{0(a)}$	85,53 ± 10,12	84,98 ± 11,25	85,82 ± 10,86	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
	$D_{45(b)}$	86,15 ± 12,34	83,98 ± 11,61	84,18 ± 11,06	
	$D_{90(c)}$	84,24 ± 11,28	82,86 ± 11,09	82,65 ± 12,10	
	$p_{trước\ sau}$	$p_{a-b} > 0,05$; $p_{a-c} > 0,05$; $p_{b-c} > 0,05$			-

Nhận xét: So sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, cũng như so sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, nồng độ albumin huyết tương và creatinin trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy "Thái bình HV" với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi nồng độ albumin huyết tương và creatinin trong máu chuột nghiên cứu.

Kết quả mô bệnh học gan, lách, thận chuột nghiên cứu

Đại thể

Quan sát đại thể bằng mắt thường dưới kính lúp có độ phóng đại 25 lần, chúng tôi thấy: màu sắc, hình thái của gan, lách và thận ở hai lô dùng "Thái bình HV" không khác so với chứng. Kết quả được thể hiện ở hình 1 dưới đây.



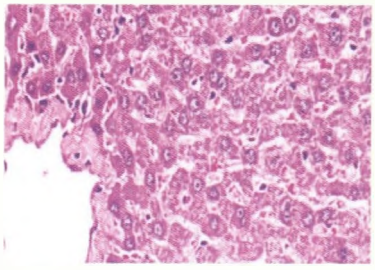
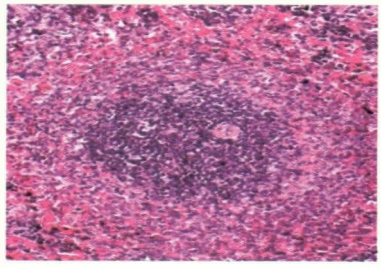
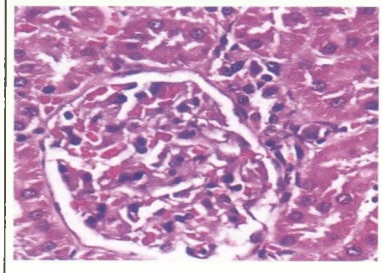
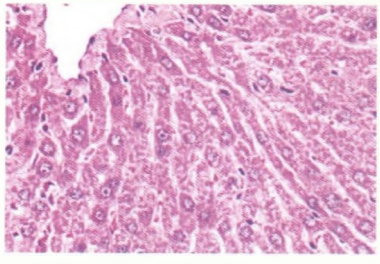
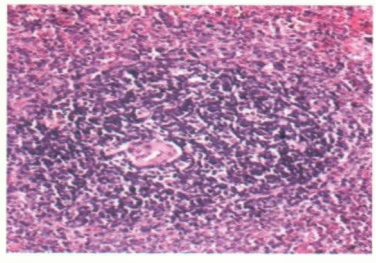
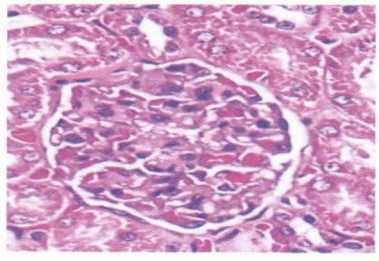
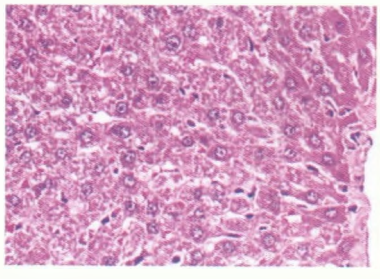
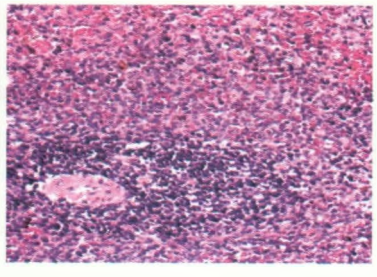
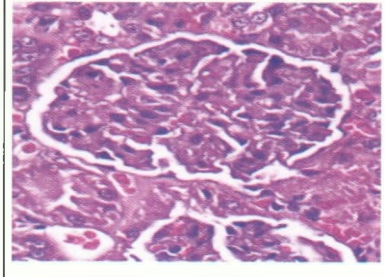
Hình 1. Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột thí nghiệm dùng "Thái bình HV"

Nhận xét: Hình ảnh đại thể các tạng gan, lách, thận của chuột ở các lô trị 1, lô trị 2, là các lô cho uống "Thái bình HV", có màu nâu đỏ thẫm đồng đều, bề mặt nhẵn, không có u cục hoặc xuất huyết, có đàn hồi khi ấn xuống, không khác biệt so với hình ảnh gan, thận của chuột ở lô chứng.

Vi thể

- Các tiêu bản mô bệnh học gan, lách, thận được đọc tại Bộ môn khoa Giải phẫu bệnh Pháp y, Bệnh viện Quân y 103. Kết quả nghiên cứu về mô bệnh học gan, lách, thận chuột cho thấy "Thái bình HV" dùng đường uống với liều 11,90g/kg/ngày và 35,70g/kg/ngày liên tục trong 30 ngày, không gây tổn thương trên gan, thận, lách của chuột.

- Kết quả mô bệnh học gan của chuột sau 30 ngày uống thuốc được thể hiện ở hình 2 dưới đây.

Hình thái vi thể gan	Hình thái vi thể lách	Hình thái vi thể thận
		
Chuột 8 lô chứng (HE x 400): các bè gan và tiểu thùy gan bình thường, không có, thoái hóa, xâm nhập viêm, tĩnh mạch trung tâm không giãn, không xung huyết.	Chuột 9 lô chứng (HE x 400): Các nang lympho với tâm mầm rộng và trung tâm có động mạch bút lông. Cấu trúc lách bình thường.	Chuột 3 lô chứng (HE x 400): Các mao mạch trong tiểu cầu và khe thận bình thường. Các tế bào biểu mô ống thận bình thường.
		
Chuột 16 lô trị 1 (HE x 400): các bè gan và tiểu thùy gan, tế bào gan bình thường. Hình ảnh vi thể không khác biệt so với lô chứng.	Chuột 18 lô trị 1 (HE x 400): Cấu trúc lách bình thường. Hình ảnh vi thể không khác biệt so với lô chứng.	Chuột 14 lô trị 1 (HE x 400): các cấu trúc nhu mô thận bình thường. Hình ảnh vi thể không khác biệt so với lô chứng.
		
Chuột 22 lô trị 2 (HE x 400): các bè gan và tiểu thùy gan, tế bào gan bình thường. Hình ảnh vi thể không khác biệt so với lô chứng.	Chuột 27 lô trị 2 (HE x 400): Cấu trúc lách bình thường. Hình ảnh vi thể không khác biệt so với lô chứng.	Chuột 26 lô trị 2 (HE x 400): các cấu trúc nhu mô thận bình thường. Hình ảnh vi thể không khác biệt so với lô chứng.

Hình 2. Hình ảnh vi thể gan, lách, thận chuột nghiên cứu

Nhận xét: Hình ảnh vi thể gan, lách và thận của chuột nghiên cứu (HE x 400) không thấy có sự khác biệt về cấu trúc vi thể gan, lách, thận giữa lô trị 1 và lô trị 2 với nhóm chứng.

BÀN LUẬN

Đánh giá các chỉ tiêu sinh hóa

Các chỉ tiêu sinh hóa đánh giá ảnh hưởng lên sự huỷ hoại tế bào gan (AST, ALT), chức năng gan (albumin, cholesterol TP, Bilirubin TP), chức năng thận (albumin, creatinin), cho phép khảo sát những ảnh hưởng lên chức năng của gan và thận là các cơ quan quan trọng trong chuyển hóa, thải trừ thuốc [5, 6]. Các chỉ số sinh hóa đã khảo sát đều không có thay đổi khác biệt so với lô chứng sinh lý cũng như so với trước khi dùng thuốc.

Đánh giá kết quả mô bệnh học

Hình ảnh mô bệnh học (cả đại thể và vi thể) của gan, lách, thận cho phép đánh giá ảnh hưởng lên cấu trúc của các cơ quan chính liên quan đến chuyển hóa, thải trừ thuốc [5]. Gan là cơ quan chính chuyển hoá thuốc của cơ thể, thận là cơ quan chính thải trừ thuốc của cơ thể. Lách có cấu trúc gần giống như một hạch bạch huyết lớn, nó hoạt động chủ yếu như là một bộ lọc máu, do đó những biến đổi trong cơ thể đặc biệt các ảnh hưởng gây độc đến các tế bào hồng cầu và hệ bạch huyết nếu có đều dễ dàng được nhận thấy ở lách. Kết quả nghiên cứu cho thấy hình ảnh mô bệnh học gan, lách, thận của các chuột nghiên cứu đều bình thường, cho thấy tính an toàn của bài thuốc "Thái bình HV".

Kết quả đánh giá trên các chỉ tiêu sinh hoá và mô bệnh học động vật thực nghiệm khi cho chuột uống dịch chiết bài thuốc "Thái bình HV" trong thời gian 90 ngày cho thấy bài thuốc an toàn trên các chỉ tiêu đánh giá. Với dự kiến điều trị kéo dài nhằm phát huy hiệu quả dự phòng cũng như hồi phục tổn thương đột quỵ não của bài thuốc y học cổ truyền, độc tính của bài thuốc được đánh giá trong thời gian 30 ngày giúp khẳng định được tính an toàn của bài thuốc khi sử dụng trên người trong thời gian trên 01 tháng [5,6].

KẾT LUẬN

Từ các kết quả thu được trên thực nghiệm, chúng tôi kết luận: Trên các lô chuột uống "Thái bình HV" ở các mức liều 11,90 g/kg/24h và liều 35,70 g/kg/24h liên tục trong 30 ngày cho thấy:

- Không làm thay đổi các chỉ tiêu sinh hóa máu bao gồm nồng độ men gan AST, ALT, bilirubin toàn phần, cholesterol toàn phần, creatinin, albumin huyết tương.
- Không gây tổn thương mô bệnh học gan, lách, thận.

Như vậy "Thái bình HV" an toàn với các mức liều dùng và thời gian sử dụng trong nghiên cứu thực nghiệm trên chuột cống trắng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Arthritis Foundation (2018)**. Arthritis By the Numbers / Book of Trusted Facts & Figures; v2; 4100.17.10445.
2. **Bộ Y tế (2016)**. Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị các bệnh cơ xương khớp. Nhà xuất bản Y học.
3. **Nguyễn Văn Hưởng (2012)**. Toa thuốc Đông y cổ truyền Việt Nam. NXB Tổng hợp TP. Hồ Chí Minh, tr 297.
4. **Bộ Y tế (2018).** Dược điển Việt Nam, lần xuất bản thứ năm, tập 2, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
5. **Đỗ Trung Đàm (2014)**. Phương pháp xác định độc tính của thuốc, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
6. **World Health Organization (2000),** *Working group on the safety and efficacy of herbal medicine*, Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization.