

Quan sát đại thể bằng mắt thường và dưới kính lúp có độ phóng đại 25 lần thấy: màu sắc, hình thái của gan và thận ở hai lô dùng acid amin không khác so với chứng.

Kết quả nghiên cứu về mô bệnh học gan, thận chuột cho thấy chế phẩm bột Acid amin dùng đường uống với liều 140mg/kg/24h và liều 280mg/kg/24h liên tục trong 42 ngày, không gây tổn thương trên gan, thận của chuột.

IV. BÀN LUẬN

Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của bột acid amin thủy phân từ da cá Tra, cá Basa trên động vật thực nghiệm cho thấy với mức liều 11,00 g/kg TLCT/24h (mức liều cao nhất chưa xuất hiện chuột chết) và với mức liều 17,00 g/kg TLCT/24h (mức liều thấp làm chết 100% số chuột), đã tính được LD₅₀ của chế phẩm bột Acid amin theo đường uống trên chuột nhắt trắng là: LD₅₀ = 14,17 ± 0,43 (g/kg TLCT/24h). Như vậy, với mức liều LD₅₀ tìm được tương đương quy đổi ra liều trên người là 1,18g/kg TLCT/24h.

Đối với nghiên cứu độc tính bán trường diễn của bột acid amin, với các mức liều 140 mg và 280 mg/kg thể trọng chuột cống trắng/24h, quy đổi ra liều trên chuột nhắt 240 mg và 480 mg/kg thể trọng/24h quy đổi ra liều trên người là 20 mg và 40 mg/kg thể trọng /24h. Trong thử nghiệm này, chúng tôi có so sánh tự chứng (trước và sau dùng thuốc), đồng thời so sánh với nhóm đối chứng không dùng thuốc. Mặt khác chúng tôi thiết kế hai nhóm dùng thuốc với mức liều khác nhau (liều này gấp đôi liều kia). Kết quả thí

nghiệm cho thấy ở những mức liều cao, dùng hàng ngày thời gian dài (42 ngày) không gây ảnh hưởng đến tình trạng sức khỏe, không ảnh hưởng đến cơ quan tạo máu cũng như chức năng gan thận của động vật thí nghiệm [6].

V. KẾT LUẬN

Đã xác định được LD₅₀ theo đường uống LD₅₀ = 14,17 ± 0,43 (g/kg TLCT/24h). Chế phẩm bột acid amin cho chuột cống trắng uống với liều tương ứng 140mg/kg thể trọng/24h và 280mg/kg thể trọng/24h/kg liên tục trong 42 ngày không ảnh hưởng đến sự phát triển trong lượng cơ thể, không độc với cơ quan tạo máu, không ảnh hưởng đến chức năng và mô bệnh học gan, thận.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Trung Đàm (2014). Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc. Nhà xuất bản Y học, tr: 154-157
2. Viên Dược liệu (2004). Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, Nhà xuất bản khoa học kỹ thuật: Hà Nội, tập 1, trang 245-247.
3. Turner A (1965). Screening methods in pharmacology. Academic press, NewAcademic press, New York and London, Pages 60 – 68.
4. Abraham W.B (1978). Techniques of Animal and Clinical toxicology. Med. Pub. Chicago. Pp: 55-68.
5. WHO (1993). Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines. Manila, philipin, pages 35-41.
6. Olsson J and Hahn R. G (1999). Glycine toxicity after high-dose i.v. infusion of 1.5% glycine in the mouse. *British Journal of Anaesthesia* 82 (2): 250-254.

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ ĐỘC TÍNH BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA VIÊN NANG Y10 TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Lê Minh Hoàng¹, Nguyễn Hoàng Ngân², Đậu Văn Cảnh⁴,
Phạm Xuân Phong³, Nguyễn Duy Bắc³

TÓM TẮT

Viên nang Y10 được bào chế từ lộc nhung (*Cornu cervi parvum*) và đông trùng hạ thảo (*Cordyceps militaris*), đã được đánh giá trên thực nghiệm có tác

dụng tốt cải thiện khả năng sinh tinh. Nhằm đảm bảo tính an toàn và tạo tiền đề sử dụng viên nang Y10 trên lâm sàng, chế phẩm cần tiến hành nghiên cứu độc tính cấp và bán trường diễn trên động vật thực nghiệm. Phương pháp: xác định độc tính cấp đường uống trên chuột nhắt trắng dòng Swiss theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon và độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng dòng Wistar. Kết quả: chưa tìm thấy LD₅₀ của viên nang Y10 theo đường uống trên chuột nhắt trắng với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24 giờ là 25g/kg thể trọng. Với liều 140 mg/kg/24h và liều 420 mg/kg/24h cho chuột cống trắng uống liên tục trong 90 ngày, thuốc không ảnh hưởng đến trọng lượng cơ thể và điện tim của chuột; không gây các thay đổi có ý nghĩa thống kê các chỉ số

¹Đại học Y dược Cần Thơ

²Học viện Quân y

³Viện Y học Cổ truyền Quân đội

⁴Học viện Y học cổ truyền Việt Nam

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Duy Bắc

Email: bac_hvqy@yahoo.com

Ngày nhận bài: 9.4.2017

Ngày phản biện khoa học: 29.5.2017

Ngày duyệt bài: 8.6.2017

huyết học, sinh hóa. Mô bệnh học gan, lách, thận của chuột nghiên cứu. Kết luận: Viên nang Y10 không gây độc tính cấp và độc tính bán trường diễn trên đồng vật thực nghiệm.

Từ khóa: viên nang Y10, độc tính cấp, độc tính bán trường diễn.

SUMMARY

ACUTE AND SUBCHRONIC TOXICITY OF Y10 CAPSULES IN EXPERIMENTAL ANIMALS

Y10 capsules are made from *cornu cervi parvum* and *cordyceps militaris*, which has been evaluated in the experiment has a good effect to improve the fertility. To ensure the safety and create a premise of clinical use of Y10 capsules, the acute and subchronic toxicity of Y10 have been evaluated. Experimental methods: Oral acute toxicity was evaluated in Swiss mice according to Litchfield - Wilcoxon's method, and subchronic toxicity was evaluated in Wistar rat. The researched results showed that: The LD50 of the Y10 capsule was not detected at the highest possible oral dose for mice given in 24 hours of 25 g/kg body weight. After 90 consecutive days of using Y10 capsules with a dose of 140mg/kg/day and 420mg/kg/day in rats, Y10 capsules had no impacts on the increasing of body weigh and the electrocardiogram of rats; didn't change significantly hematological indices, biochemical indices. Liver, kidney and spleen histopathology of experimental rats were normal. Conclusion: Y10 capsules did not cause acute and chronic toxicities in experimental animals.

Key words: Y10 capsule, acute toxicity, subchronic toxicity.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở nước ta, có khoảng 8% số cặp vợ chồng không có khả năng sinh con nếu không có sự can thiệp y tế, tỷ lệ gia đình hiếm muộn cũng đang có xu hướng tăng lên. Trong quần đời, tỷ lệ vô sinh cũng gặp khá cao và việc điều trị vô sinh hiếm muộn cho quần nhân đã và đang được Bộ Quốc phòng dành nhiều sự quan tâm [1]. Vô sinh nam giới đóng vai trò khá lớn trong nguyên nhân gây vô sinh, nó chiếm tỉ lệ tương đương với các nguyên nhân vô sinh do nữ. Nguyên nhân dẫn đến vô sinh ở nam là do thiếu năng tinh trùng (TNTT), biểu hiện không có tinh trùng hoặc có tinh trùng nhưng số lượng tinh trùng ít, yếu và dị dạng [2]. Việc điều trị TNTT còn gặp nhiều khó khăn, chủ yếu do TNTT có nhiều nguyên nhân. Y học hiện đại đã đạt được nhiều thành tựu trong điều trị vô sinh do SGTG, nhưng kết quả chưa ổn định và đa số thuốc sử dụng đều có những tác dụng không mong muốn do SGTG thường phải điều trị kéo dài. Vì vậy, những năm gần đây, nhiều nhà khoa học quay lại với y học cổ truyền (YHCT) vì thuốc YHCT có hiệu quả lâu dài và ít tác dụng phụ [3].

Viên nang Y10 được bào chế từ Lộc nhung (*Cornu cervi parvum*) thu mua tại Hương Sơn - Hà Tĩnh và Đông trùng hạ thảo (*Cordyceps militaris*) nuôi cấy tại Học viện Quân y, đạt tiêu chuẩn cơ sở. Lộc nhung và Đông trùng hạ thảo là 2 loại dược liệu quý, đã được dân gian sử dụng trong điều trị suy giảm chức năng sinh dục sinh sản [4]. Chế phẩm Y10 đã được đánh giá trên chuột cống trắng gây thiếu năng tinh trùng bằng Natri valproat, cho thấy có tác dụng tốt cải thiện chức năng sinh tinh. Để có cơ sở khoa học về tính an toàn của viên nang Y10 và tạo tiền đề sử dụng viên nang Y10 trên lâm sàng, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm mục tiêu xác định độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của viên nang Y10 trên đồng vật thực nghiệm.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu, đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Chất liệu nghiên cứu: Viên nang Y10 từ Lộc nhung thu mua tại Hương Sơn - Hà Tĩnh và Đông trùng hạ thảo (*Cordyceps militaris*) nuôi cấy tại Học viện Quân y do Trung tâm nghiên cứu và sản xuất thuốc - Học viện Quân y bào chế, đạt tiêu chuẩn cơ sở. Bột thuốc trong viên nang (500mg/viên nang) được hòa tan trong nước cất, và được cho chuột uống qua kim cong đầu tù chuyên dụng.

2.1.2. Đối tượng nghiên cứu

- 80 chuột nhắt trắng trường thành dòng Swiss, không phân biệt giống, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, cân nặng mỗi con tại thời điểm bắt đầu thí nghiệm là 18-22g.

- 30 chuột cống trắng trường thành, dòng Wistar, không phân biệt giống, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, cân nặng mỗi con tại thời điểm bắt đầu thí nghiệm là 160-180g.

Động vật thí nghiệm do Ban chăn nuôi động vật thí nghiệm - Học viện Quân y cung cấp, nuôi dưỡng trong phòng nuôi động vật thí nghiệm ít nhất một tuần trước khi tiến hành thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD₅₀ của thuốc thử trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon [5] và hướng dẫn của WHO [6]. Chuột được chia ngẫu nhiên thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống dung dịch thuốc thử với liều tăng dần trong cùng một thể tích. Tìm liều cao nhất không gây chết chuột (0%), liều thấp nhất gây chết chuột hoàn toàn (100%) và các liều trung gian. Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động...) và số lượng

chuột chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau khi cho chuột uống thuốc lần cuối. Tiến hành phẫu tích quan sát tình trạng các tạng ngay sau khi có chuột chết để xác định nguyên nhân gây độc.

- Nghiên cứu độc tính bán trường diễn trên thực nghiệm: Theo qui định của Bộ Y tế Việt Nam [5],[7], hướng dẫn của WHO [6] về đánh giá tính an toàn và hiệu lực của thuốc Y học cổ truyền. Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành 3 lô, mỗi lô 10 con. Các chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình nghiên cứu: Tình trạng chung, thể trọng của chuột; điện tim của chuột ở

đạo trình DII; Đánh giá chức phận tạo máu; chức năng gan, chức năng thận và mô bệnh học. Các thông số theo dõi được kiểm tra vào trước lúc uống thuốc, sau 45 ngày, và sau 90 ngày uống thuốc.

2.3. Xử lý số liệu: Các số liệu được xử lý theo các phương pháp thống kê y sinh học, so sánh bằng anova test sử dụng phần mềm SPSS 16.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp

Bảng 1. Độc tính cấp theo đường uống của viên nang Y10 trên chuột nhắt trắng

Lô chuột	Số chuột thí nghiệm	Liều dùng (g/kg thể trọng)	Thể tích cho uống	Số chuột sống/chết sau 72 giờ	Số chuột sống/chết sau 7 ngày
Lô 1	10	11,0	25 mL/kg x 3 lần	10/0	10/0
Lô 2	10	13,0	25 mL/kg x 3 lần	10/0	10/0
Lô 3	10	15,0	25 mL/kg x 3 lần	10/0	10/0
Lô 4	10	17,0	25 mL/kg x 3 lần	10/0	10/0
Lô 5	10	19,0	25 mL/kg x 3 lần	10/0	10/0
Lô 6	10	21,0	25 mL/kg x 3 lần	10/0	10/0
Lô 7	10	23,0	25 mL/kg x 3 lần	10/0	10/0
Lô 8	10	25,0	25 mL/kg x 3 lần	10/0	10/0

Chuột nhắt trắng được uống thuốc thử với các mức liều khác nhau từ liều thấp nhất là 11,0g/kg thể trọng đến liều cao nhất là 25,0g/kg thể trọng, 25mL/kg x 3 lần trong 24 giờ. Chuột đã uống đến liều 25,0g/kg thể trọng là liều tối đa có thể dùng được bằng đường uống để đánh giá độc tính cấp của thuốc thử nhưng không có chuột nào chết, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống thuốc lần cuối và trong suốt 7 ngày sau uống thuốc. Như vậy, với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống

trong 24h là 25,0g/kg thể trọng không xuất hiện độc tính cấp, chưa thấy có LD₅₀ của viên nang Y10 theo đường uống trên chuột nhắt trắng.

3.2. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn: Chuột cống trắng được theo dõi hàng ngày về tình trạng chung gồm hoạt động, ăn uống, tình trạng lông, da, niêm mạc, chất tiết. Các chuột ở cả lô chứng và các lô dùng viên nang Y10 đều hoạt động bình thường, Chuột lông mượt, da niêm mạc bình thường, ăn uống bình thường, phân thành khuôn.

Bảng 2. Ảnh hưởng của viên nang Y10 đối với thể trọng chuột (n = 10, $\bar{x} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	P _{so sánh giữa các lô}
Trọng lượng cơ thể				
Trước thí nghiệm (a)	168,60 ± 4,99	170,20 ± 6,21	169,60 ± 3,95	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	192,90 ± 6,47	193,20 ± 6,09	194,20 ± 8,70	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	212,50 ± 6,74	209,50 ± 6,64	210,80 ± 10,32	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$
P_{so sánh trong cùng lô}	$p_{b,c-3} < 0,01; p_{c-b} < 0,01$			-

So sánh trong cùng lô giữa các thời điểm sau so với trước thấy thể trọng chuột của cả ba lô nghiên cứu đều tăng, sự thay đổi có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. So với giữa các lô tại cùng thời điểm nghiên cứu, thể trọng chuột của các lô không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy viên nang Y10 với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không gây ảnh hưởng đến sự phát triển thể trọng của chuột.

3.2.1. Ảnh hưởng của viên nang Y10 đối với điện tim chuột.

Bảng 3. Ảnh hưởng của viên nang Y10 đối với điện tim chuột (n = 10, $\bar{x} \pm SD$)

Thời điểm xét nghiệm	Lỗ chứng (1)	Lỗ trị 1 (2)	Lỗ trị 2 (3)	$P_{\text{so sánh giữa các lỗ}}$
Tần số tim (CK/phút, $\bar{x} \pm SD$)				
Trước thí nghiệm (a)	490,40 \pm 17,39	489,80 \pm 18,46	491,70 \pm 14,33	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	486,10 \pm 13,20	488,30 \pm 15,03	492,50 \pm 13,75	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	489,20 \pm 15,89	490,30 \pm 10,94	488,50 \pm 10,74	$p_{3-1} > 0,05$
$P_{\text{so sánh trong cùng lỗ}}$	$p_{b-ca} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-
Biên độ (mV, $\bar{x} \pm SD$)				
Trước thí nghiệm (a)	0,316 \pm 0,045	0,315 \pm 0,039	0,315 \pm 0,04	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	0,315 \pm 0,040	0,314 \pm 0,037	0,314 \pm 0,03	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	0,317 \pm 0,045	0,316 \pm 0,035	0,327 \pm 0,04	$p_{3-1} > 0,05$
$P_{\text{so sánh trong cùng lỗ}}$	$p_{b-ca} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-
Sóng bất thường	Không	Không	Không	-

So sánh các lỗ với nhau và trong từng lỗ giữa các thời điểm thí nghiệm, tần số và biên độ của điện tim chuột không có sự thay đổi ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Không có sóng bất thường trên điện tim của các lỗ chuột tại các thời điểm nghiên cứu. Như vậy viên nang Y10 với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên điện tim chuột.

3.2.2. Ảnh hưởng của viên nang Y10 đối với một số chỉ tiêu huyết học, sinh hóa của chuột.

Bảng 4. Ảnh hưởng của viên nang Y10 lên số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột (n = 10, $\bar{x} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lỗ chứng (1)	Lỗ trị 1 (2)	Lỗ trị 2 (3)	$P_{\text{so sánh giữa các lỗ}}$
Số lượng hồng cầu chuột ($\times 10^{12}/g/l$)				
Trước thí nghiệm (a)	5,79 \pm 0,64	5,66 \pm 0,76	5,88 \pm 1,06	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	5,96 \pm 0,75	5,86 \pm 0,99	5,94 \pm 0,43	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	5,99 \pm 0,48	5,82 \pm 0,64	5,98 \pm 0,69	$p_{3-1} > 0,05$
$P_{\text{so sánh trong cùng lỗ}}$	$p_{b-ca} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-
Hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột (g/dL)				
Trước thí nghiệm (a)	110,70 \pm 3,94	106,50 \pm 5,36	111,80 \pm 16,73	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	108,70 \pm 3,28	103,20 \pm 3,73	110,40 \pm 7,99	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	113,50 \pm 2,72	110,30 \pm 3,33	116,30 \pm 14,21	$p_{3-1} > 0,05$
$P_{\text{so sánh trong cùng lỗ}}$	$p_{b-ca} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-

So sánh các lỗ với nhau và trong từng lỗ giữa các thời điểm thí nghiệm, số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy viên nang Y10 với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên các chỉ tiêu về số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột.

Bảng 5. Ảnh hưởng của viên nang Y10 lên số lượng bạch cầu và tiểu cầu trong máu chuột (n = 10, $\bar{x} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lỗ chứng (1)	Lỗ trị 1 (2)	Lỗ trị 2 (3)	$P_{\text{so sánh giữa các lỗ}}$
Số lượng bạch cầu (G/l)				
Trước thí nghiệm (a)	8,62 \pm 2,15	8,38 \pm 3,07	8,48 \pm 2,99	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	7,70 \pm 3,30	8,16 \pm 3,86	8,25 \pm 3,92	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	8,17 \pm 2,26	8,68 \pm 3,02	8,71 \pm 2,82	$p_{3-1} > 0,05$
$P_{\text{so sánh trong cùng lỗ}}$	$p_{b-ca} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-
Số lượng tiểu cầu (G/l)				
Trước thí nghiệm (a)	338,50 \pm 105,34	336,00 \pm 82,32	341,60 \pm 91,36	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	355,00 \pm 18,21	306,70 \pm 62,97	297,30 \pm 104,44	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	403,10 \pm 126,09	377,00 \pm 121,81	326,0 \pm 114,77	$p_{3-1} > 0,05$
$P_{\text{so sánh trong cùng lỗ}}$	$p_{b-ca} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-

So sánh các lỗ với nhau và trong từng lỗ giữa các thời điểm thí nghiệm, số lượng bạch cầu và số lượng tiểu cầu trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy viên nang

Y10 với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên các chỉ tiêu về số lượng bạch cầu và số lượng tiểu cầu trong máu chuột.

Bảng 6. Ảnh hưởng của viên nang Y10 đối với hoạt độ AST và ALT ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	Pso sánh giữa các lô
Hoạt độ AST (UI/l)				
Trước thí nghiệm (a)	116,10±51,21	107,40±67,22	104,00±15,45	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	102,10±30,20	92,60±17,87	103,40±45,94	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	119,20±53,26	96,60±18,26	96,30±22,45	$p_{3-1} > 0,05$
Pso sánh trong cùng lô	$P_{b,c-a} > 0,05; P_{c-b} > 0,05$			-
Hoạt độ ALT (UI/l)				
Trước thí nghiệm (a)	39,70±13,10	40,00±11,79	45,40±9,86	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	33,20±13,64	30,50±15,36	36,10±10,66	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	39,60±21,78	39,70±11,45	38,70±10,09	$p_{3-1} > 0,05$
Pso sánh trong cùng lô	$P_{b,c-a} > 0,05; P_{c-b} > 0,05$			-

So sánh các lô với nhau và trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, hoạt độ các enzym AST và ALT trong máu của chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy viên nang Y10 với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi hoạt độ các enzym AST và ALT có ý nghĩa thống kê, cho thấy viên nang Y10 không gây ra hủy hoại tế bào gan trên chuột nghiên cứu.

Bảng 7. Ảnh hưởng của viên nang Y10 lên các chỉ số albumin và bilirubin toàn phần trong máu ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	Pso sánh giữa các lô
Albumin huyết tương (g/l)				
Trước thí nghiệm (a)	41,20±2,70	39,30±2,26	38,50±3,03	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	40,20±1,48	40,00±2,71	40,30±4,57	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	41,10±2,51	39,30±1,25	39,10±2,03	$p_{3-1} > 0,05$
Pso sánh trong cùng lô	$P_{b,c-a} > 0,05; P_{c-b} > 0,05$			-
Bilirubin toàn phần ($\mu\text{mol/L}$)				
Trước thí nghiệm (a)	87,56±59,66	105,20±41,75	89,10±44,35	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	117,44±43,77	109,00±27,60	122,00±47,23	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	89,56±46,34	128,67±38,25	116,10±53,11	$p_{3-1} > 0,05$
Pso sánh trong cùng lô	$P_{b,c-a} > 0,05; P_{c-b} > 0,05$			-

So sánh các lô với nhau và trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, các chỉ số albumin và bilirubin toàn phần máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy viên nang Y10 với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi các chỉ số albumin và bilirubin toàn phần trong máu chuột nghiên cứu.

Bảng 8. Ảnh hưởng của viên nang Y10 lên nồng độ cholesterol toàn phần trong máu ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	Pso sánh giữa các lô
Cholesterol toàn phần (mmol/l)				
Trước thí nghiệm (a)	1,89 ± 0,95	1,76 ± 0,51	1,50 ± 0,19	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	1,66 ± 0,75	1,65 ± 0,75	1,59 ± 0,43	$p_{3-1} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	1,72 ± 0,63	1,68 ± 1,25	1,65 ± 0,90	$p_{3-2} > 0,05$
Pso sánh trong cùng lô	$P_{b,c-a} > 0,05; P_{c-b} > 0,05$			-

So sánh các lô với nhau và trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, nồng độ cholesterol máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy viên nang Y10 với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi nồng độ cholesterol toàn phần trong máu chuột nghiên cứu.

Bảng 9. Ảnh hưởng của viên nang Y10 lên nồng độ creatinin máu chuột ($n = 10, \bar{x} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	Pso sánh giữa các lô
Creatinin ($\mu\text{mol/l}$)				
Trước thí nghiệm (a)	77,10 ± 11,90	71,70 ± 11,66	74,50 ± 6,50	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	83,50 ± 22,83	83,10 ± 15,07	84,60 ± 21,58	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	74,30 ± 8,50	72,40 ± 21,50	80,90 ± 9,09	$p_{3-1} > 0,05$
Pso sánh trong cùng lô	$P_{b,c-a} > 0,05; P_{c-b} > 0,05$			-

So sánh các lô với nhau và trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, nồng độ creatinin máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy viên nang Y10 với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi nồng độ creatinin trong máu chuột nghiên cứu.

3.2.3. Kết quả mô bệnh học tạng của chuột thí nghiệm: Quan sát đại thể bằng mắt thường và dưới kính lúp có độ phóng đại 25 lần thấy, hình ảnh đại thể các tạng gan, lách, thận của chuột ở các lô trị 1, lô trị 2 là các lô cho uống Y10, 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, lách, thận của chuột ở lô chứng.

Hình ảnh mô bệnh học gan, lách, thận chuột sau 90 ngày uống thuốc



Hình 1: Hình ảnh vi thể gan chuột lô trị 1 (chuột 13, lô trị 1). HE, x 400



Hình 2: Hình ảnh vi thể lách chuột lô trị 1 (chuột 15, lô trị 1). HE, x 400



Hình 3: Hình ảnh vi thể thận chuột lô trị 1 (chuột 16, lô trị 1). HE, x 400

IV. BÀN LUẬN

Theo quy định của Bộ Y tế Việt Nam [7] cũng như hướng dẫn của tổ chức y tế thế giới [6], ngoại trừ các bài thuốc cổ phương được chiết xuất theo phương pháp truyền thống, tất cả các thuốc có nguồn gốc từ dược liệu đều phải đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn trên động vật thực nghiệm trước khi đưa vào thử nghiệm trên người. Viên nang Y10 được bào chế theo phương pháp hiện đại từ dược liệu là lộc nhung (*Cornu cervi parvum*) và đông trùng hạ thảo (*Cordyceps militaris*), do đó là đối tượng cần được đánh giá về độc tính cấp và độc tính bán trường diễn.

- **Về độc tính cấp của viên nang Y10:** Kết quả nghiên cứu độc tính cấp theo đường uống của viên nang Y10 cho thấy, với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24h là 25,0g/kg thể trọng không xuất hiện độc tính cấp, chưa thấy có LD50 của viên nang Y10 theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Liều điều trị dự kiến sử dụng trên người của viên nang Y10 là 2-4 viên/người 50kg/24h, tức là 0,02 - 0,04g/kg/24h. Quy đổi ra liều trên chuột nhắt trắng (hệ số quy đổi 12) ta được liều điều trị là 0,24 - 0,48g/kg/24h. Mức liều 25g/kg gấp 104,17 - 52,08 lần so với liều điều trị. Ở mức liều cao như vậy mà chưa có LD50, chưa thấy xuất hiện biểu hiện bất thường nào chứng tỏ viên nang Y10 có tính an toàn cao trong thử nghiệm độc tính cấp.

- **Về độc tính bán trường diễn của viên nang Y10:** Theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới [6] và quy định của Bộ y tế Việt Nam

Các tiêu bản mô bệnh học 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 viên nang Y10 dùng đường uống với liều 140mg/kg/24h và liều 420mg/kg/24h liên tục trong 90 ngày, không gây tổn thương trên gan, thận, lách của chuột.

[5], thời gian nghiên cứu bán trường diễn trên động vật thường gấp 4 lần thời gian dự kiến dùng trên người. Tuy nhiên, nếu nghiên cứu trên động vật trong thời gian quá dài, đặc biệt khi cho động vật dùng thuốc cưỡng bức (qua kim cong đầu tù), một số yếu tố nhiễu có thể ảnh hưởng đến kết quả nghiên cứu. Theo quy định của Mỹ [5], và đang được áp dụng tại các cơ sở nghiên cứu trong nước, nếu thời gian dự định sử dụng trên người là dùng hàng ngày trên 30 ngày thì thời gian nghiên cứu bán trường diễn trên động vật là 3 tháng. Viên nang Y10 được sử dụng với mục đích điều trị vô sinh nam, làm tăng cường khả năng sinh tinh, cần được sử dụng dài ngày (2-3 tháng). Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn của viên nang Y10 cho thấy ở liều 140mg/kg/ngày (tương đương liều điều trị quy đổi từ người sang chuột công tỷ hệ số quy đổi là 7) và liều 420mg/kg/ngày (gấp 3 lần liều 1), dùng liên tục trong 90 ngày (3 tháng) không gây ảnh hưởng lên tất cả các chỉ tiêu nghiên cứu. Kết quả này bảo đảm được tính an toàn của chế phẩm khi dự kiến sử dụng trên người hàng ngày trong thời gian dài.

V. KẾT LUẬN

- Chưa tìm thấy LD₅₀ của viên nang Y10 theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống là 25,0g/kg thể trọng mà không gây chết chuột nào, không có biểu hiện nào của độc tính cấp.

- Trên các lô chuột cống trắng cho uống viên nang Y10 liều 140mg/kg/24h và liều 420mg/kg

/24h, liên tục trong 90 ngày, cho thấy, tình trạng chung gồm hoạt động, ăn uống, tình trạng lông, da, niêm mạc, chất tiết của chuột bình thường. Không gây ảnh hưởng các sóng điện tim chuột ở đạo trình DII; Không làm thay đổi các chỉ số huyết học (hồng cầu, huyết sắc tố, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu, số lượng và công thức bạch cầu, số lượng tiểu cầu), các chỉ tiêu sinh hóa máu (hoạt độ các enzym AST, ALT, Bilirubin toàn phần, Albumin, Cholesterol toàn phần và Creatinin) và không gây tổn thương mô bệnh học gan, lách, thận.

Như vậy viên nang Y10 an toàn ở các mức liều dùng và thời gian sử dụng trong nghiên cứu thực nghiệm trên chuột cống trắng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Trung Hải (2015), "Vô sinh, hiếm muộn và một số vấn đề cần quan tâm trong các đơn vị Quân đội", *Tạp chí y học Quân sự*, số 305 (3-4/2015).
2. Trần Quán Anh, Trần Thị Trung Chiến, Lê Văn Vệ (2009), "Vô sinh nam giới", *Bệnh học giới tính nam*, NXB Y học, tr. 253-323.
3. Viện Y học cổ truyền quân đội (2002) "Chứng bệnh vô sinh do nam giới", *Kết hợp đông, tây y chữa một số bệnh khó*, NXB Y học, tr. 278-87.
4. Hải Thượng Lãn Ông (2001), *Hải Thượng Lãn Ông Y tông tâm lĩnh*, Tài bản nguyên bản, NXB Y học, tập 1-2, tr.265-75, 423-24, 432-41, 550-71.
5. Đỗ Trung Đàm (2014), Phương pháp xác định độc tính của thuốc. Nhà xuất bản y học.
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.
7. Bộ Y Tế (2007), Quyết định số 01/2007/QĐ-BYT về việc ban hành "quy định về thử thuốc trên lâm sàng".

TƯƠNG QUAN GIỮA MỨC ĐỘ KIỂM SOÁT GLUCOSE MÁU VỚI TEST MONOFILAMENT TRÊN BỆNH NHÂN ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TYPE 2

Phan Hồng Long*, Nguyễn Thị Bình[†]

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành trên 24 bệnh nhân được chẩn đoán đái tháo đường (ĐTĐ) type 2 có tổn thương thần kinh ngoại biên với test Monofilament dương tính, nhằm đánh giá tương quan giữa mức độ kiểm soát glucose máu và mức độ tổn thương (số vị trí mất nhận cảm) với test Monofilament. Kết quả cho thấy tổn thương thần kinh ngoại biên ở nhóm bệnh nhân nghiên cứu chủ yếu là rối loạn cảm giác biểu hiện bằng tê bì, dị cảm; thời gian mắc bệnh càng dài, mức độ kiểm soát glucose máu HbA1c càng kém thì số vị trí tổn thương thần kinh qua thăm khám Monofilament càng lớn.

Từ khóa: Đái tháo đường type 2, Monofilament, biến chứng thần kinh ngoại vi

SUMMARY

RELATIONSHIP BETWEEN THE BLOOD GLUCOSE HbA1c CONTROL AND TEST MONOFILAMENT IN DIABETIC TYPE 2 PATIENTS

This study was conducted to evaluate the relationship between test Monofilament and control level of blood glucose HbA1c. Studying was carried on 24 diagnostic diabetic type 2 patient, whose have peripheral neuropathy complication with positive test Monofilament. The results show: The mainly clinical

symptom in studying group is numbness. The time of diabetic diagnostic and control level of HbA1c have correlation with Monofilament test, the longer the time of diabetic diagnostic the higher the number of positive point in the foot with Monofilament test and the worse the control level of HbA1c the higher the number of positive point in the foot with Monofilament test.

Keywords: Diabetic type 2, Monofilament, peripheral neuropathy complication

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Biến chứng thần kinh ngoại vi ở người bệnh Đái tháo đường type 2 là một biến chứng hay gặp nhưng thường được phát hiện muộn do triệu chứng nghèo nàn, người bệnh ít để ý tới; là biến chứng ít gây tử vong nhưng gây ảnh hưởng đáng kể đến chất lượng cuộc sống hàng ngày của người bệnh do tình trạng rối loạn về cảm giác gây ra và những tổn thương khó hồi phục về vận động như teo cơ, yếu liệt gây ra [1]. Biến chứng thần kinh ngoại vi phối hợp với bệnh lý thần kinh tự động và nhiễm trùng là những yếu tố làm bệnh nhân dễ trở thành người tàn phế như tắc mạch chi, hoại tử và loét bàn chân ở người đái tháo đường, làm cho tỷ lệ cắt cụt chi do biến chứng thần kinh ngày càng cao [2]. Vì vậy việc chẩn đoán sớm trở thành yếu tố quyết định trong điều trị và tiên lượng tổn thương thần kinh ngoại vi ở người đái tháo đường.

Một số phương pháp được dùng để đánh giá tổn thương thần kinh ngoại vi như đánh giá cảm

*Trường Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Bình

Email: binh.bm@gmail.com

Ngày nhận bài: 9.3.2017

Ngày phản biện khoa học: 29.5.2017

Ngày duyệt bài: 8.6.2017