

KHẢO SÁT ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC ĐỘNG CHỐNG ĐÔNG MÁU CỦA NỌC RẮN LỤC ĐUÔI ĐỎ VIỆT NAM TRIMERESURUS ALBOLABRIS VIPERIDAE

Nguyễn Thị Thùy Trang^{1,2}, Hoàng Ngọc Anh¹, Nguyễn Cửu Khoa¹, Nguyễn Đình Trung³, **Ông Lê Phúc Thịnh²**

TÓM TẮT

Huyết khối tắc mạch đang là một trong những nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trên toàn thế giới. Các nghiên cứu ngoài nước cho thấy nọc rắn lục đuôi đỏ (*Trimeresurus albolabris*, họ Viperidae) gây rối loạn đông máu kéo dài, suy giảm fibrin, giảm tiểu cầu,... Vì vậy, nọc rắn *T. albolabris* là nguyên liệu tiềm năng trong nghiên cứu tác động chống đông máu, ngừa huyết khối. Tại Việt Nam, *T. albolabris* phân bố khắp cả nước. Tuy nhiên, các nghiên cứu về độc tính cấp và tác động dược lý của nọc rắn này ở Việt Nam vẫn chưa được nghiên cứu. Các thử nghiệm trong nghiên cứu này nhằm đánh giá độc tính cấp và tác động chống đông máu của nọc *T. albolabris* Việt Nam. Kết quả thử nghiệm cho thấy LD₅₀ nọc *T. albolabris* trên chuột Swiss albino là 0,45 – 0,57 mg/kg theo phương pháp Miller-Tainter và 0,47 mg/kg theo phương pháp Behrens-Karber. Đối với đường tiêm dưới da, kết quả LD₅₀ là 4,42 – 5,54 mg/kg theo phương pháp Miller-Tainter và 4,47 mg/kg theo phương pháp Behrens-Karber. Nọc *T. albolabris* liều 0,5 mg/kg và 0,25 mg/kg (tiêm dưới da) giúp kéo dài thời gian đông máu và chảy máu trên chuột thử nghiệm so với nhóm chứng. **Từ khóa:** nọc rắn lục đuôi đỏ, *Trimeresurus albolabris*, chống đông máu, thời gian chảy máu, độc tính cấp, LD50

SUMMARY

STUDY ON ACUTE TOXICITY AND ANTICOAGULANT ACTIVITY OF TRIMERESURUS ALBOLABRIS VIPERIDAE VENOMS IN VIETNAM

Thromboembolism is one of the leading causes of death in the world. Foreign studies show that the green pit viper (*Trimeresurus albolabris*, family Viperidae) causes persistent blood clotting disorders, fibrin depletion, thrombocytopenia, ... Therefore, *T. albolabris* venom is a potential material in the study of anticoagulant effects, preventing thrombosis. In Vietnam, *T. albolabris* is distributed in the whole our country. However, studies on acute toxicity and pharmacological effects on them in Vietnam have not yet been studied. In this study, we evaluate the acute toxicity and anticoagulant effects of *T. albolabris* venom in Viet Nam. The results showed that the LD₅₀ of *T. albolabris* venom in Swiss albino mice was 0.45 - 0.57 mg/kg by Miller-Tainter method and 0.47 mg/kg

by the Behrens-Karber method. For subcutaneous injection, LD₅₀ results are 4.42 - 5.54 mg/kg by the Miller-Tainter method and 4.47 mg/kg according to the Behrens-Karber method. *T. albolabris* venom at doses of 0.5 mg/kg and 0.25 mg/kg (subcutaneous injection) helps prolong blood clotting and bleeding time in test mice which compared to the control group. **Keywords:** green pit viper venoms, *Trimeresurus albolabris*, anticoagulant, bleeding time, coagulation time.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Huyết khối tắc mạch là bệnh lý chiếm 25% trường hợp tử vong trên toàn thế giới và hiện đang trở thành nguyên nhân gây tử vong hàng đầu vì các bệnh lý liên quan như rung nhĩ, nhồi máu cơ tim, thuyên tắc phổi, đột quỵ và huyết khối tĩnh mạch... [3]. Các thuốc kháng tiểu cầu (aspirin, clopidogrel, aggrenox,...) và thuốc chống đông máu (warfarin, dabigatran, rivaroxaban,...) thường được sử dụng để phòng ngừa, điều trị và giảm sự tái phát của bệnh. Mỗi thuốc đều có một cơ chế tác dụng riêng và có chung một số tác dụng phụ thường gặp như xuất huyết tiêu hóa, xuất huyết nội sọ. Vì vậy, tìm ra những hoạt chất có hoạt tính chống đông máu, ngừa huyết khối với tác dụng phụ thấp hơn so với các thuốc hóa dược là vấn đề đang được quan tâm nghiên cứu [1,2].

Rắn lục đuôi đỏ *Trimeresurus albolabris* là một loài rắn thuộc họ rắn lục Viperidae. Ở nước ta, chúng phân bố khắp cả nước. Các nghiên cứu trên thế giới cho thấy nọc độc của chúng có tác động lên quá trình đông máu, suy giảm fibrinogen, giảm số lượng tiểu cầu,...[4]. Tuy nhiên, thông tin về độc tính và đặc tính của *T. albolabris* ở Việt Nam vẫn còn hạn chế. Tính đến thời điểm 4/2024, ở Việt Nam vẫn chưa có công trình nghiên cứu về tác động dược lý của nọc độc rắn lục đuôi đỏ.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu. Nọc rắn lục đuôi đỏ đông khô được cung cấp từ Trại rắn Đồng Tâm thuộc Trung Tâm Nuôi trồng Nghiên cứu Chế biến Dược liệu – Cục Hậu cần – Quân Khu 9. Nọc được bảo quản trong ngăn đông tủ lạnh, nhiệt độ -20°C.

Động vật thử nghiệm. Chuột nhắt trắng

¹Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

³Trường Đại học Duy Tân

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Thùy Trang
Email: ntttrang@ntt.edu.vn

Ngày nhận bài: 7.5.2024

Ngày phản biện khoa học: 14.6.2024

Ngày duyệt bài: 19.7.2024

được chủng Swiss albino, 4 – 6 tuần tuổi, khỏe mạnh và không có dị tật do Viện Vắc xin và Sinh phẩm y tế Nha Trang cung cấp. Trọng lượng mỗi con khoảng 18 – 22g. Được nuôi ổn định 2 - 4 ngày trước khi tiến hành thử nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Đánh giá độc tính cấp của nọc rắn lục đuôi đỏ trên chuột nhắt trắng. Chuột thử nghiệm cho nhịn đói ít nhất 12 giờ trước thử nghiệm, nước uống đầy đủ.

Thử nghiệm sơ khởi

Mục đích: xác định LD₀ và LD₁₀₀

Dựa trên nghiên cứu đã công bố, chọn liều 0,1 mg/kg (đường tiêm tĩnh mạch) và 2 mg/kg (đường tiêm dưới da) làm liều khởi đầu [5].

Ở các liều tiếp theo, tiến hành chọn theo nguyên tắc:

Xác định liều LD₁₀₀: nếu liều thử nghiệm gây chết 100% động vật thử nghiệm thì giảm liều 1/2 so với liều ban đầu và tiếp tục cho đến khi xác định được liều không gây chết 100% động vật thử nghiệm thì tăng liều trở lại bằng cách lấy trung bình của liều không gây chết 100% và liều thấp nhất gây chết 100% có thể xác định được cho đến khi tìm được liều thấp nhất có thể gây chết 100% động vật thử nghiệm (LD₁₀₀).

Xác định liều LD₀: giảm 1/2 liều không gây chết 100% động vật thử nghiệm cho đến khi tìm được liều không gây chết con nào. Sau đó tiếp tục tăng liều trở lại bằng cách lấy trung bình giữa liều không gây chết con nào và liều gây chết thấp nhất có thể xác định được cho đến khi tìm được liều cao nhất không gây chết động vật thử nghiệm (LD₀).

Mỗi liều khảo sát tiến hành trên 3 – 6 chuột.

Thử nghiệm xác định: Chuột nhắt trắng đạt tiêu chuẩn thử nghiệm được chia làm 5 lô. Mỗi lô ít nhất 6 con. Cho sử dụng thuốc trong khoảng liều từ LD₀ và LD₁₀₀ theo một cấp số lựa chọn. Ở những liều gần LD₅₀ tăng số thú vật thử nghiệm lên để sự đo lường được chính xác.

Quan sát các biểu hiện của thú thử nghiệm và ghi nhận số lượng thú sống, chết ở mỗi lô sau 24 giờ dùng thuốc. Tiếp tục quan sát trong 14 ngày. Mổ và quan sát đại thể của những con chuột còn sống.

Khảo sát tác động chống đông máu nọc rắn lục đuôi đỏ trên chuột nhắt trắng. Chuột thí nghiệm được phân thành các lô sau:

- Lô chứng (n = 8): dung dịch NaCl 0,9% (SC).

- Lô thử nghiệm 1 (n = 8): dung dịch nọc rắn lục đuôi đỏ liều 1/10 LD₅₀(SC).

- Lô thử nghiệm 2 (n = 8): dung dịch nọc rắn lục đuôi đỏ liều 1/20 LD₅₀(SC).

Thời gian chảy máu: cầm chuột bằng cách

nắm giữ phần da đầu và da lưng chuột tránh tác động vào đuôi chuột. Dùng kéo sắt cắt một đoạn đuôi dài khoảng 5 mm tính từ đầu mút ngoài, đường kính đuôi khoảng 1,5 mm. Ngâm phần đuôi còn lại vào dung dịch NaCl 0,9% ở 37°C. Tính thời gian từ lúc bắt đầu chảy máu đến khi máu ngừng chảy ở các thời điểm 0, 5, 10, 20, 30, 60, 90, 120 phút sau khi tiêm thuốc.

Thời gian đông máu: hứng một giọt máu từ đuôi chuột lên lam kính được đặt trong đĩa petri (để tránh tác động của các yếu tố ảnh hưởng), đường kính giọt máu khoảng 6 - 7 mm. Theo dõi thời gian từ lúc lấy giọt máu ra khỏi đuôi chuột đến khi giọt máu đông hoàn toàn tại các thời điểm 0, 5, 10, 20, 30, 60, 90, 120 phút sau khi tiêm thuốc.

2.3. Phân tích thống kê kết quả. Kết quả về giá trị LD₅₀ nọc rắn trên chuột được tính theo 02 phương pháp: phương pháp Karber – Behrens và phương pháp Miller – Tainter, đường biểu diễn tỷ lệ (%) chuột chết theo liều được vẽ bằng phần mềm Excel 2016.

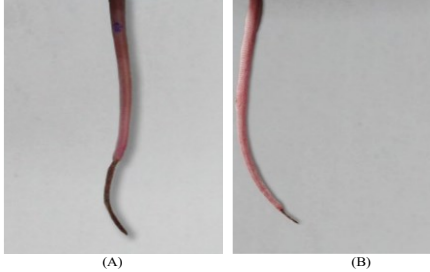
Các số liệu về thời gian chảy máu, thời gian đông máu được trình bày ở dạng số trung bình ± SEM (Standard error of mean – sai số chuẩn của số trung bình). Sự khác biệt giữa các lô thử, lô đối chứng so với lô chứng được kiểm tra, phân tích bằng phép kiểm Mann-Whitney với phần mềm Minitab 16.0, p<0,05 được cho là khác biệt có ý nghĩa thống kê. Biểu đồ được vẽ bằng phần mềm Excel 2016.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Kết quả thử nghiệm độc tính cấp nọc rắn lục đuôi đỏ đường tiêm tĩnh mạch trên chuột nhắt trắng

Biểu hiện của chuột sau khi tiêm nọc rắn lục đuôi đỏ. Sau khi tiêm tĩnh mạch ở các liều khác nhau, nghiên cứu ghi nhận được các biểu hiện của chuột trong 24 giờ như sau: chuột tử vong trong 1 đến 3 giờ. Sau vài chục giây đến vài phút sau khi tiêm thuốc, chuột bắt đầu giảm hoạt động, thờ ơ. Sau đó chuột nằm im một chỗ, có xuất hiện tình trạng co thắt cơ hoành. Liều càng cao thì sự co thắt cơ hoành càng rõ rệt và tần suất xuất hiện nhiều hơn. Biểu hiện của chuột trước khi chết: chuột thờ rất gấp, mắt mở to, hai chân sau duỗi, thỉnh thoảng đập mạnh hai chân sau, thỉnh thoảng nhẩy lên, mất hết phản xạ, duỗi thẳng chân, ưỡn người về phía trước. Hiện tượng này thường xảy ra từ 7 – 30 phút trước khi tử vong. 24 giờ sau khi tiêm thuốc, chuột còn sống phục hồi hoàn toàn và được theo dõi đến hết thời gian quan sát. Những ngày đầu sau khi tiêm thuốc, chuột có biểu hiện

lừ đừ, mệt mỏi, chán ăn trong 3 đến 4 ngày đầu, sau đó hồi phục, tăng cân trở lại. Một tuần sau tiêm, xuất hiện hoại tử vùng chóp đuôi. Liều càng cao, tỷ lệ và mức độ hoại tử càng tăng. Cụ thể, liều 0,52 mg/kg có tỷ lệ hoại tử 14,29% trong khi liều 0,61 mg/kg tỉ lệ này là 50%.



Hình 1. Hoại tử đuôi chuột ở (A) liều 0,61 mg/kg (IV) và ở (B) liều 0,52 mg/kg (IV)

Chuột ngay sau khi tử vong và sau 14 ngày theo dõi được mổ và quan sát các cơ quan. Nhận thấy không có bất thường về mặt đại thể.



Hình 2. Giải phẫu đại thể chuột sau 14 ngày thử nghiệm

(A) Chuột tiêm tĩnh mạch nọc rắn
(B) Chuột sinh lý

Kết quả thử nghiệm xác định LD₅₀

Kết quả thử nghiệm sơ khởi

Sau khi thử nghiệm ở các liều khác nhau, thu được kết quả sau:

- LD₀ = 0,34 mg/kg
- LD₁₀₀ = 0,7 mg/kg

Kết quả thử nghiệm xác định LD₅₀

Bảng 1. Phân suất tử vong của chuột ở các lô thử nghiệm tiêm tĩnh mạch nọc rắn lục đuôi đỏ

Liều (mg/kg)	0,34	0,43	0,52	0,61	0,7
Số thú vật/lô	6	14	24	16	6
Số thú vật chết/lô	0	2	17	12	6
Phân suất tử vong (%)	0	14	71	75	100

❖ Phương pháp Behrens – Karber:

A	0	1	9,5	14,5	9
b	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09
ab	0	0,09	0,855	1,305	0,81

$$\sum ab = 3,06 \quad n = \frac{66}{5} = 13,2$$

$$\text{Công thức tính LD}_{50}: \text{LD}_{50} = D_f - \frac{\sum ab}{n}$$

$$\text{Suy ra: } \text{LD}_{50} = 0,7 - \frac{3,06}{13,2} = 0,47 \text{ (mg/kg)}$$

Vậy LD₅₀ của nọc rắn lục đuôi đỏ đường tiêm tĩnh mạch trên chuột nhắt trắng Swiss albino là 0,47 mg/kg.

❖ Phương pháp Miller – Tainter:

➤ Tính LD₅₀

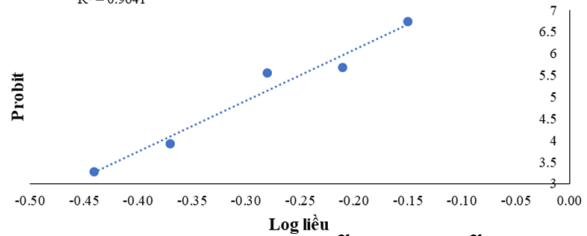
Bảng 2. Bảng kết quả theo phương pháp Miller – Tainter (IV)

Liều (mg/kg)	Số thú vật/lô	Số thú vật chết	Phân suất tử vong	Phân suất tử vong điều chỉnh	Probit
0,34	6	0	0,00	0,04	3,27
0,43	14	2	0,14	0,14	3,92
0,52	24	17	0,71	0,71	5,55
0,61	16	12	0,75	0,75	5,67
0,70	6	6	1,00	0,96	6,73

$$y = 11,767x + 8,4405$$

$$R^2 = 0,9641$$

Đường thoái dẫn



Hình 3. Đường thoái dẫn biểu diễn tỷ lệ (%) chuột chết (IV)

Từ đường thoái dẫn, ta suy ra:

- Probit 6,0 (84% chết) = 0,62
- Probit 4,0 (16%) chết = 0,42
- 2S = 0,20
- N' = 14+24+16=54

$$E = \frac{2S}{\sqrt{2N'}} = 0,03$$

Suy ra $\text{LD}_{50} = 0,51 \pm 0,03$ (mg/kg)

➤ Tính khoảng tin cậy 95%

Áp dụng công thức: $\mu = t \times E$

Vì N' = 54 nên số bậc tự do = N' - 1 = 54 - 1 = 53

Ta có t = 1,960 ở P = 0,05 và $\mu = 1,960 \times 0,03 = 0,06$

Do đó:

- I_d = 0,51 - 0,06 = 0,45
- I_t = 0,51 + 0,06 = 0,57

Vậy với khoảng tin cậy 95% thì LD₅₀ của nọc rắn lục đuôi đỏ đường tiêm tĩnh mạch trên chuột nhắt Swiss albino là 0,45 - 0,57 (mg/kg)

3.2. Kết quả thử nghiệm độc tính cấp nọc rắn lục đuôi đỏ đường tiêm dưới da trên chuột nhắt trắng

Biểu hiện của chuột sau khi tiêm nọc

rắn lục đuôi đỏ. Sau khi tiêm dưới da ở các liều khác nhau, nghiên cứu ghi nhận được các biểu hiện của chuột trong 24 giờ như sau: chuột tử vong trong 2 đến 6 giờ. Triệu chứng của chuột xảy ra tương tự như đường tiêm tĩnh mạch nhưng chuột ở đường tiêm dưới da có hiện tượng tăng hoạt động, chạy nhảy, tím tái tại vùng tiêm sau khoảng vài chục giây sau khi tiêm. Xuất hiện tình trạng chết rải rác, kéo dài đến ngày thứ 4 thì kết thúc. Điều này không xảy ra ở đường tiêm tĩnh mạch, có thể do khả năng hấp thu của đường tiêm dưới da chậm hơn đường tiêm tĩnh mạch nên chuột được tiêm nọc rắn đường tiêm dưới da xảy ra hiện tượng này. Những con chuột còn sống phục hồi khỏe mạnh. Sau khoảng một tuần theo dõi, chuột rụng lông vùng da tiêm. Liều càng cao diện tích vùng da rụng lông càng lớn. Ở liều 4,65 mg/kg, tỉ lệ là 37,5%, ở liều 6,75 mg/kg tỉ lệ xuất hiện là 100%. Sau 14 ngày quan sát, cũng tiến hành mổ và quan sát đại thể những con còn sống. Kết quả thu được không có bất thường về mặt đại thể tương tự như kết quả thu được trên chuột đường tiêm tĩnh mạch.

Kết quả thử nghiệm xác định LD₅₀

Kết quả thử nghiệm sơ khởi

Sau khi thử nghiệm ở các liều khác nhau, thu được kết quả sau:

- LD₀ = 3,60 mg/kg
- LD₁₀₀ = 7,80 mg/kg

Kết quả thử nghiệm xác định LD₅₀

Bảng 3. Phân suất tử vong của chuột ở các lô thử nghiệm tiêm dưới da nọc rắn lục đuôi đỏ

Liều (mg/kg)	3,6	4,65	5,7	6,75	7,8
Số thú vật/lô	6	12	12	16	6
Số thú vật chết/lô	0	4	11	15	6
Phân suất tử vong (%)	0	33	92	94	100

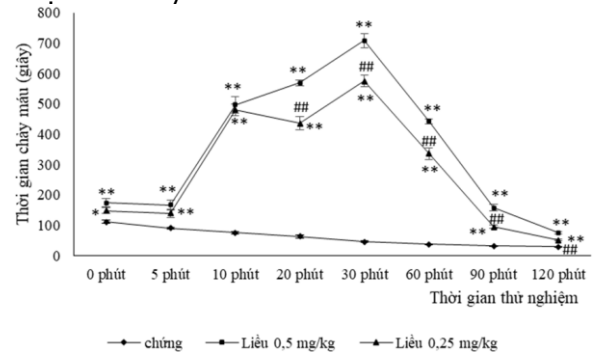
Bằng cách tính tương tự trên đường tiêm tĩnh mạch, kết quả nghiên cứu cho thấy LD₅₀ của nọc rắn lục đuôi đỏ đường tiêm dưới da trên chuột nhắt Swiss albino là 4,47 mg/kg (phương pháp Behrens – Karber) và 4,42 – 5,54 (mg/kg) (phương pháp Miller – Tainter).

Kết quả nghiên cứu cho thấy nọc rắn lục đuôi đỏ Việt Nam được xếp vào loại cực độc theo bảng phân loại độc tính. Kết quả nghiên cứu tương đồng với công bố của Jia Lee Liew và cộng sự trên nọc độc rắn lục đuôi đỏ Thái Lan [5] và công bố của Darmawan trên nọc độc rắn lục đuôi đỏ Indonesia [6]. Kết quả nghiên cứu góp phần khẳng định độc tính của nọc rắn lục đuôi đỏ ở các vùng địa lý khác nhau. Ở Việt Nam chưa có công bố nào về LD₅₀ nọc độc loài rắn

này. Vì vậy, kết quả nghiên cứu là tiền đề quan trọng cho việc xác định liều cho các thử nghiệm được lý tiếp theo.

3.3. Kết quả khảo sát tác động chống đông máu của nọc rắn lục đuôi đỏ trên chuột nhắt trắng

Khảo sát thời gian chảy máu. Kết quả khảo sát thời gian chảy máu của nọc rắn lục đuôi đỏ (đường tiêm dưới da) trên chuột thử nghiệm được trình bày ở hình 4



Hình 4. Thời gian chảy máu của các lô thử nghiệm ở các thời điểm khảo sát

(*) p-value <0,05; (**) p-value <0,01; thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ở cùng thời điểm

(#) p-value <0,05; (##) p-value <0,01; thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô 0,5mg/kg ở cùng thời điểm

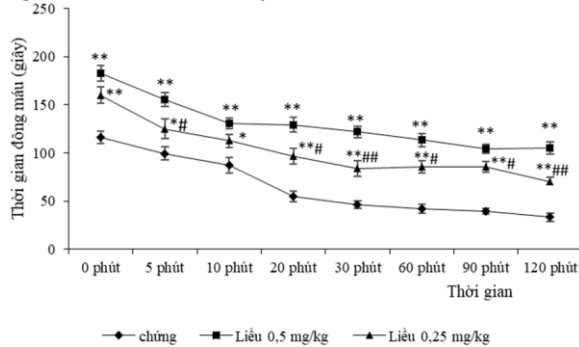
Kết quả thử nghiệm cho thấy:

Chuột ở lô thử nghiệm liều 0,5 mg/kg có thời gian chảy máu dài hơn có ý nghĩa thống kê (p<0,01) so với lô chứng trong tất cả các thời gian khảo sát. Vậy nọc rắn lục đuôi đỏ liều 0,5 mg/kg có tác động kéo dài thời gian chảy máu. Thời điểm có thời gian chảy máu dài nhất là ở thời điểm 30 phút với lô chứng, gấp 15,30 lần so với lô chứng.

Chuột ở lô thử nghiệm liều 0,25 mg/kg có thời gian chảy máu dài hơn có ý nghĩa thống kê (p<0,01) so với lô chứng trong tất cả các thời gian khảo sát. Vậy nọc rắn lục đuôi đỏ liều 0,25 mg/kg có tác động kéo dài thời gian chảy máu. Thời điểm có thời gian chảy máu dài nhất là ở thời điểm 30 phút với lô chứng, gấp 12,43 lần so với lô chứng. So với liều 0,5 mg/kg, chuột ở lô thử nghiệm liều 0,25 mg/kg có thời gian chảy máu thấp hơn ở tất cả thời điểm khảo sát. Ở 10 phút đầu của quá trình khảo sát, sự khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê. Từ thời điểm 20 phút đến hết thời gian khảo sát, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Vậy nọc rắn lục đuôi đỏ có tác động kéo dài thời gian chảy máu phụ thuộc liều, liều càng cao thì tác động kéo dài thời gian

chảy máu càng mạnh.

Khảo sát thời gian đông máu. Kết quả khảo sát thời gian đông máu của nọc rắn lục đuôi đỏ (đường tiêm dưới da) trên chuột thử nghiệm được trình bày ở hình 5



Hình 5. Thời gian đông máu của các lô thử nghiệm ở các thời điểm khảo sát

(*) p-value <0,05; (**) p-value <0,01; thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ở cùng thời điểm

(#) p-value <0,05; (##) p-value <0,01; thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô 0,5mg/kg ở cùng thời điểm

Kết quả thử nghiệm cho thấy:

Chuột ở lô liều 0,5 mg/kg có thời gian đông máu dài hơn có ý nghĩa thống kê (p<0,01) so với lô chứng ở tất cả các thời điểm khảo sát. Vậy nọc rắn lục đuôi đỏ liều 0,5 mg/kg có tác động kéo dài thời gian đông máu.

Chuột ở lô liều 0,25 mg/kg có thời gian đông máu dài hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ở tất cả các thời điểm khảo sát. Vậy nọc rắn lục đuôi đỏ liều 0,25 mg/kg có tác động kéo dài thời gian đông máu. So với liều 0,5 mg/kg, chuột ở lô 0,25 mg/kg có thời gian đông máu thấp hơn ở tất cả các thời điểm khảo sát. Ở các thời điểm 5 phút, 20 – 120 phút, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Vậy nọc rắn lục đuôi đỏ có tác động kéo dài thời gian đông máu phụ thuộc liều, liều càng cao thì tác động càng mạnh.

Như vậy, nọc rắn lục đuôi đỏ Việt Nam có tác động chống đông máu phụ thuộc liều trên động vật thử nghiệm. Ở Việt Nam, chưa có công bố nào trước đây về liều có tác động chống đông máu của loài rắn này. Vì vậy, kết quả của nghiên cứu giúp đặt nền móng cho các thử nghiệm được lý tiếp theo nhằm tách chiết các hoạt chất thực sự có hoạt tính. Kết quả nghiên cứu trên cũng tương đồng với nghiên cứu trên mô hình in vitro của Rojnuckarin và cộng sự trên nọc rắn lục đuôi đỏ ở Indonesia [7]. Vì vậy, kết quả nghiên cứu khẳng định tác động chống đông máu của nọc rắn lục đuôi đỏ ở các vùng địa lý khác nhau.

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy nọc rắn lục đuôi đỏ Việt Nam được xếp vào loại cực độc theo bảng phân loại độc tính với LD₅₀ đường tiêm tĩnh mạch trên chuột thử nghiệm là 0,45 – 0,57 mg/kg theo phương pháp Miller-Tainter và 0,47 mg/kg theo phương pháp Behrens-Karber. Đối với đường tiêm dưới da, kết quả LD₅₀ là 4,42 – 5,54 mg/kg theo phương pháp Miller-Tainter và 4,47 mg/kg theo phương pháp Behrens-Karber. Đồng thời nghiên cứu cũng khẳng định nọc rắn lục đuôi đỏ Việt Nam liều 0,25 mg/kg và 0,5 mg/kg đường tiêm dưới da có tác động chống đông máu thông qua việc kéo dài thời gian đông máu và thời gian chảy máu so với lô chứng. Đến thời điểm tháng 04/2024, chưa có nghiên cứu trong nước nào công bố về độc tính cấp và liều có tác động chống đông máu nọc rắn lục đuôi đỏ Việt Nam, kết quả này góp phần tạo tiền đề cho các thí nghiệm tiếp theo để tách chiết các hoạt chất thực sự có hoạt tính chống đông máu tốt và ít tác dụng phụ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Kapil, Nikhil, et al,** (2017), "Antiplatelet and anticoagulant therapies for prevention of ischemic stroke", Clinical applied thrombosis/hemostasis. 23(4), pp. 301-318.
2. **Raskob, Gary E, et al,** (2014), "Thrombosis: a major contributor to global disease burden", Arteriosclerosis, thrombosis, vascular biology. 34(11), pp. 2363-2371.
3. **Wendelboe, A. M., & Raskob, G. E.** (2016). Global Burden of Thrombosis: Epidemiologic Aspects. Circ Res, 118(9), 1340-1347.
4. **Bourke, L. A., Youngman, N. J., Zdenek, C. N., Op den Brouw, B., Violette, A., Fourmy, R., & Fry, B. G.** (2020). Trimeresurus albolabris snakebite treatment implications arising from ontogenetic venom comparisons of anticoagulant function, and antivenom efficacy. Toxicol Lett, 327, 2-8.
5. **Liew, J. L., Tan, N. H., & Tan, C. H.** (2020). Proteomics and preclinical antivenom neutralization of the mangrove pit viper (Trimeresurus purpureomaculatus, Malaysia) and white-lipped pit viper (Trimeresurus albolabris, Thailand) venoms. Acta Trop, 209, 105528.
6. **Darmawan, M. R., Rahardjo, D., Tyasningsih, W., Kurnijasanti, R., Legowo, D., & Setiawan, B.** (2021). Acute Toxicity Test Of The Green Viper Snake (Trimeresurus albolabris), Macroscopic Description Of The Kidney And Liver Of Mice (Mus musculus). Journal of Basic Medical Veterinary, 10(2), 59-65
7. **Rojnuckarin, P., Intragumtornchai, T., Sattapiboon, R., Muanpasitporn, C., Pakmanee, N., Khoo, O., & Swasdikul, D.** (1999). The effects of green pit viper (Trimeresurus albolabris and Trimeresurus macrops) venom on the fibrinolytic system in human. Toxicon, 37(5), 743-755.

KHẢO SÁT NỒNG ĐỘ HEPCIDIN HUYẾT TƯƠNG Ở BỆNH NHÂN BỆNH THẬN MẠN TÍNH GIAI ĐOẠN CUỐI

Bùi Văn Tuấn¹, Đặng Thành Chung¹, Lê Việt Thắng¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Khảo sát nồng độ Heparidin huyết tương và mối liên quan với một số chỉ số lâm sàng và cận lâm sàng ở bệnh nhân bệnh thận mạn tính giai đoạn cuối. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu mô tả, cắt ngang trên 157 bệnh nhân bệnh thận mạn tính giai đoạn cuối và 54 người bình thường tương đồng về tuổi và giới tại Bệnh viện Quân y 103 từ tháng 1 năm 2022 đến tháng 12 năm 2023. Thu thập đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của đối tượng nghiên cứu, nồng độ Heparidin huyết tương được định lượng bằng phương pháp ELISA. **Kết quả:** Nồng độ Heparidin huyết tương ở nhóm bệnh là 3,14(2,17 – 11,05 ng/ml) cao hơn nhóm chứng là 2,8 (1,27 – 3,86 ng/ml) với $p < 0,005$. Có tới 35,0% bệnh nhân tăng nồng độ Heparidin so với nhóm chứng. Tỷ lệ tăng Heparidin ở nhóm lọc máu là 40,9%, nhóm chưa lọc máu là 19,0%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Tỷ lệ tăng nồng độ Heparidin huyết tương ở nhóm hết nước tiểu tồn dư là 47,1% cao hơn nhóm còn nước tiểu tồn dư là 21,4% với $p < 0,05$. Nồng độ Heparidin huyết tương tương quan nghịch với nồng độ Hemoglobin ($r = -0,207$, $p < 0,01$), Hematocrit ($r = -0,166$, $p < 0,05$) và với MCHC ($r = -0,238$, $p < 0,005$). Nồng độ và tỷ lệ tăng Heparidin ở nhóm tăng nồng độ CRP và nhóm quá tải sắt cao nhóm không tăng CRP và không quá tải sắt với $p < 0,05$. **Kết luận:** Nồng độ Heparidin huyết tương tăng cao ở bệnh nhân bệnh thận mạn tính giai đoạn cuối. Nồng độ Heparidin huyết tương liên quan đến tình trạng quá tải sắt, tăng CRP và lượng nước tiểu tồn dư. Trong khi đó tương quan nghịch với các chỉ số Hồng cầu.

Từ khóa: Bệnh thận mạn tính giai đoạn cuối, Heparidin, Thiếu máu.

SUMMARY

SURVEYING THE CONCENTRATION OF PLASMA HEPCIDIN IN PATIENTS WITH END-STAGE CHRONIC RENAL DISEASE

Objectives: To evaluate plasma Heparidin concentrations and its relation with some clinical and subclinical indicators in patients with end-stage chronic renal disease (ESRD). **Subjects and methods:** A cross-sectional, descriptive study on 157 patients with end-stage chronic renal disease and 54 healthy controls matched for age and gender at 103 Military Hospital from January, 2022 to December, 2023. All above patients had measured plasma Heparidin by ELISA method. **Results:** The concentration of plasma Heparidin in the group of

patients 3,14 (2,17 – 11,05 ng/mL) was higher than in the control group 2,80 (1,27 – 3,86 ng/ml), $p < 0,005$. Up to 35,0% of patients had elevated Heparidin levels compared to the control group. The rate of Heparidin elevation was 40,9% in the dialysis group and 19,0% in the non-dialysis group, with $p < 0,05$. The rate of increased plasma Heparidin levels was 47,1% in the group with no residual urine, higher than the 21,4% in the group with residual urine, with $p < 0,05$. Plasma Heparidin levels were inversely correlated with Hemoglobin levels ($r = -0,207$, $p < 0,01$), Hematocrit levels ($r = -0,166$, $p < 0,05$), and MCHC ($r = -0,238$, $p < 0,005$). The concentration and rate of increased Heparidin levels in the group with elevated CRP and iron overload were higher than in the groups without elevated CRP and without iron overload, with $p < 0,05$. **Conclusion:** Plasma Heparidin levels are elevated in patients with end-stage chronic renal disease. Plasma Heparidin levels are associated with iron overload, increased CRP, and residual urine. Meanwhile, it is negatively correlated with red blood cell count. **Keywords:** End-stage renal disease (ESRD), Heparidin, Anemia

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thiếu máu là biến chứng phổ biến ở bệnh thận mạn tính (BTMT) giai đoạn cuối làm tăng biến chứng tim mạch, tăng tỷ lệ tử vong và làm giảm chất lượng cuộc sống [1]. Cơ chế thiếu máu do nhiều yếu tố bao gồm giảm nồng độ Erythropoietin (EPO), thiếu sắt tuyệt đối hoặc thiếu sắt chức năng do tăng nồng độ Heparidin huyết tương...Thiếu sắt làm giảm hiệu quả điều trị thiếu máu bằng Erythropoietin tái tổ hợp ở bệnh thận mạn tính giai đoạn cuối [2]. Vì vậy, đánh giá tình trạng sắt ở bệnh nhân BTMT giai đoạn cuối có vai trò quan trọng trong điều trị thiếu máu. Theo Hội Thận học Hoa Kỳ (KDIGO) sử dụng xét nghiệm ferritin và độ bão hoà transferrin (TSAT) được tính qua chỉ số sắt huyết tương và TIBC (khả năng gắn sắt toàn phần huyết tương) để đánh giá tình trạng sắt [3]. Tuy nhiên, ở bệnh nhân BTMT, chuyển hóa sắt bị gián đoạn thông qua nhiều cơ chế ảnh hưởng đến các thông số đánh giá tình trạng sắt bao gồm cả ferritin và độ bão hoà transferrin. Heparidin là một peptid do gan tiết ra có vai trò trung tâm điều hoà nồng độ sắt trong huyết tương [4]. Kết quả các nghiên cứu trên thế giới cho thấy nồng độ Heparidin huyết tương tăng cao ở bệnh nhân bệnh thận mạn tính giai đoạn cuối. Có nhiều yếu tố làm tăng nồng độ Heparidin huyết tương ở bệnh nhân BTMT giai đoạn cuối bao gồm thừa sắt, tình trạng viêm, giảm độ

¹Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

Chịu trách nhiệm chính: Bùi Văn Tuấn

Email: btuan.nt12@gmail.com

Ngày nhận bài: 9.5.2024

Ngày phản biện khoa học: 14.6.2024

Ngày duyệt bài: 18.7.2024