

mổ, tỷ lệ tử vong và di chứng nặng của bệnh nhân chấn thương sọ não đã giảm đáng kể.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Maas AIR, Roozenbeek B, Manley GT.** Clinical trials in traumatic brain injury: past experience and current developments. *Neurotherapeutics*. 2010;7(1): 115-126. doi: 10.1016/j.nurt.2009.10.022
2. **Huang YH, Deng YH, Lee TC, Chen WF.** Rotterdam computed tomography score as a prognosticator in head-injured patients undergoing decompressive craniectomy. *Neurosurgery*. 2012; 71(1): 80-85. doi:10.1227/NEU.0b013e3182517aa1
3. **Nguyễn Thế Hào, Phạm Quỳnh Trang.** (2013) Nghiên cứu biến chứng sớm sau phẫu thuật giảm áp trong chấn thương sọ não nặng. *Y Học Thực Hành.*, 891:265 - 267.
4. **Chesnut RM.** Intracranial pressure monitoring: headstone or a new head start. The BEST TRIP trial in perspective. *Intensive Care Med*. 2013;39(4): 771-774. doi:10.1007/s00134-013-2852-9
5. **Wu X, Hu J, Zhuo L, et al.** Epidemiology of traumatic brain injury in eastern China, 2004: a prospective large case study. *J Trauma*. 2008; 64(5): 1313-1319. doi:10.1097/TA.0b013e318165c803
6. **Carney N, Totten AM, O'Reilly C, et al.** Guidelines for the Management of Severe Traumatic Brain Injury, Fourth Edition. *Neurosurgery*. 2017;80(1):6-15. doi:10.1227/NEU.0000000000001432
7. **Bùi Ngọc Tiến.** (2012) Phẫu thuật giải phóng chèn ép não trên bệnh nhân chấn thương sọ não nặng. *Y Học Thực Hành.*, 16:212 - 214.
8. **Nguyễn Công Tô, Nguyễn Đình Hưng.** (2010) Các yếu tố tiên lượng của chấn thương sọ não vừa và nặng. *Y Học Thực Hành.*, 734:247 - 252.

ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH CẤP VÀ ĐỘC TÍNH BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA VIÊN NANG “NÃO THÔNG LẠC” TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Lê Hồng Phú¹, Nguyễn Công Thực¹

TÓM TẮT

Viên nang Não thông lạc bào chế từ bài thuốc Bổ dương hoàn ngũ được đánh giá độc tính cấp trên chuột nhắt trắng và đánh giá độc tính bán trường diễn trên thỏ thực nghiệm. Kết quả nghiên cứu cho thấy: viên nang Não thông lạc không gây độc tính cấp trên chuột nhắt với liều 60g/kg cân nặng (tương ứng với 12,5 lần liều dùng trên lâm sàng). Về độc tính bán trường diễn: sau 4 tuần trên cả 2 lô thỏ được uống viên nang Não thông lạc liên tục với liều 0,28g/kg/ngày (tương đương với liều dùng cho người, tính theo hệ số 4) và một lô uống liều 0,84g/kg/ngày (cao gấp 3 lần liều tương đương trên người): thuốc không ảnh hưởng đến trạng thái chung cũng như các thông số đánh giá chức năng tạo máu của thỏ; không làm thay đổi kết quả các xét nghiệm đánh giá chức năng gan (ALT, AST, bilirubin toàn phần, protein) và chức năng thận (urea, creatinin) của thỏ.

Từ khóa: Độc tính cấp; độc tính bán trường diễn; Não thông lạc.

SUMMARY

INVESTIGATION OF "NAO THONG LAC" FOR THE ACUTE AND SUBCHRONIC ORAL TOXICITY IN EXPERIMENTAL ANIMALS

The capsule of Nao thong lac processed from Bo duong hoan ngu prescription was used to evaluate the acute toxicity on white mice and sub-chronic toxicity in

experimental rabbits. It was shown in the result that the dose of 60g/kg (equivalent to 12.5 times of clinical dose) had caused no acute toxicities. Regarding subchronic toxicity: the usage of doses 0.28 and 0.84g/kg in 4 weeks caused no effects on health condition and their hematopoietic function criteria; no changes were seen in the results of experiments evaluating liver function (ALT, AST, total bilirubin, and protein) and kidney function (urea and creatinin).

Keywords: Acute toxicity, subchronic toxicity; Nao thong lac.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viên nang Não thông lạc được nghiên cứu bào chế từ bài thuốc "Bổ dương hoàn ngũ" gồm các vị thuốc: Hoàng kỳ, Đương quy, Xích thược, Địa long, Xuyên khung, Hồng hoa, Đào nhân để điều trị chứng bệnh bán thân bất toại, khẩu nhân oa tà, trở ngại ngôn ngữ... sau trúng phong (di chứng liệt nửa người, miệng méo mắt sếch, nói ngọng... do đột quỵ não) của y học cổ truyền...[3][4]. Để có cơ sở khoa học chắc chắn về độ an toàn của viên nang Não thông lạc, chúng tôi tiến hành nghiên cứu độc tính cấp và ảnh hưởng của viên nang Não thông lạc lên thể trạng, hệ thống tạo máu và ảnh hưởng của thuốc đến chức năng gan và thận trên động vật thực nghiệm trước khi tiến hành nghiên cứu và đánh giá hiệu quả của thuốc trên lâm sàng[1].

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và đối tượng nghiên cứu

* **Nguyên liệu:** Các vị thuốc đã được bào

¹Viện YHCT Quân đội

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Công Thực

Email: thucbs@yahoo.com

Ngày nhận bài: 23.01.2024

Ngày phản biện khoa học: 12.3.2024

Ngày duyệt bài: 29.3.2024

chế và phối hợp theo tỷ lệ như sau: Hoàng kỳ (*Aslagalus mongholius* Bunge): 120, Đương quy (*Angelica sinensis* Diels): 06, Xích thực (*Radix Paeonia lactifolia* Pall): 06, Địa long (*Perichaeta siebotdii* Horst): 03, Xuyên khung (*Ligusticum wallichii* Franch): 03, Hồng hoa (*Carthamus tinctorius* L.): 03, Đào nhân (*Prunus persica* Stokes): 03 được chiết suất, sấy khô... theo qui trình thống nhất tại khoa Dược, Viện Y học cổ truyền Quân đội và được tán bột mịn đóng dưới dạng viên nang hàm lượng 0,5 gam bột khô/viên nang, đạt theo Tiêu chuẩn cơ sở.

Khi dùng hòa tan lượng bột thuốc từ các viên nang trên với nước ấm đến dạng lỏng với nồng độ thích hợp với động vật thí nghiệm.

*** Động vật thực nghiệm và vật tư, thiết bị, hóa chất xét nghiệm:**

- Chuột nhắt trắng chủng Swiss, trọng lượng 18 - 20 g do Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương cung cấp. Động vật thực nghiệm được nuôi trong điều kiện chuồng thoáng mát, đảm bảo hợp vệ sinh, chế độ ăn uống theo nhu cầu của chuột.

- Thỏ khoẻ mạnh cả hai giống, trọng lượng từ 2,0- 2,2 kg do Trung tâm Chăn nuôi Viện Kiểm nghiệm Bộ Y tế cung cấp. Động vật thực nghiệm được nuôi tại phòng thí nghiệm Viện kiểm nghiệm thuốc trung ương, bằng thức ăn chuẩn dành cho mỗi loại, uống nước tự do.

- Dung dịch xét nghiệm máu ABX Minidil LMG của hãng ABX Diagnostics, định lượng trên máy Vet ABC TM Animal Blood Counter.

- Kit định lượng hoạt độ các enzym và chất chuyển hoá trong máu: ALT, AST, bilirubin toàn phần, protein toàn phần, ure và creatinin của hãng DIALAB GmbH (Áo), định lượng trên máy Screen master.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu độc tính cấp. Tiến hành theo hướng dẫn của Bộ Y tế, OECD và WHO [2], [5], [6].

- Chuột được nhịn ăn 15 giờ trước khi thí nghiệm, nước uống theo nhu cầu. Kiểm tra cân nặng trước khi thử nghiệm, chuột đạt các yêu cầu về cân nặng được đưa vào thử nghiệm.

- Cách dùng: Đưa mẫu thử dưới dạng hỗn dịch theo đường uống, lấy thể tích mẫu thử theo quy định, cho chuột uống bằng kim cong đầu tù.

- Dựa trên kết quả thăm dò trong thử nghiệm sơ bộ, tiến hành thử nghiệm chính thức trên 60 chuột, chia thành 6 nhóm gồm 1 nhóm chứng dùng nước cất và 5 nhóm dùng thuốc thử theo mức liều đã dự định: 20,0g/kg chuột, 30,0g/kg chuột, 40,0g/kg chuột, 50,0g/kg chuột, 60,0g/kg chuột;

Theo dõi biểu hiện của chuột sau khi uống trong 24 giờ, 72 giờ đầu và theo dõi hoạt động của động vật thí nghiệm đủ thời gian 7 ngày sau khi uống. Dựa vào tỷ lệ chuột chết, tính LD₅₀ của viên nang Não thông lạc theo phương pháp Litchfield-Wilcoxon.

2.2.2. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn. Tiến hành theo quy định của WHO và Bộ Y tế [2], [6].

a) Nghiên cứu ảnh hưởng của viên nang Não thông lạc đối với thể trạng và hệ thống tạo máu

Theo qui định của WHO về an toàn thuốc y học cổ truyền, thỏ được chia thành 3 lô, mỗi lô 7 con, mỗi con nhốt riêng một chuồng.

Lô chứng (n=7): uống dung dịch NaCl 0,9% liều 5ml/kg/ngày;

Lô thử 1 (n=7): uống thuốc thử Não thông lạc liều 0,28g/kg/ngày;

Lô thử 2 (n=7): uống thuốc thử Não thông lạc liều 0,84g/kg/ngày (gấp 3 lần liều ở lô thử 1).

Thỏ ở cả 3 lô được uống dung dịch NaCl 0,9% hoặc thuốc nghiên cứu trong 4 tuần liền, mỗi ngày một lần vào 8 giờ sáng với thể tích 5ml/kg.

Trước thí nghiệm, xác định cân nặng của thỏ, các dấu hiệu toàn thân, lấy máu xét nghiệm đánh giá các chỉ số huyết học (số lượng hồng cầu, hemoglobin, hematocrit, bạch cầu, tiểu cầu). Theo dõi cân nặng của thỏ hàng tuần. Sau 28 ngày uống thuốc, xác định cân nặng của thỏ và lấy máu để làm các xét nghiệm như trên. So sánh kết quả của nhóm thử và nhóm chứng theo phương pháp thống kê.

b) Nghiên cứu ảnh hưởng của viên nang Não thông lạc đối với chức năng gan, thận

Thỏ được chia thành 3 lô, mỗi lô 7 con, mỗi con nhốt riêng một chuồng.

Lô chứng (n=7): uống dung dịch NaCl 0,9% liều 5ml/kg/ngày;

Lô thử 1 (n=7): uống thuốc thử viên nang Não thông lạc liều 0,28g/kg/ngày;

Lô thử 2 (n=7): uống thuốc thử Não thông lạc liều 0,84g/kg/ngày (gấp 3 lần liều lô thử 1).

Thỏ ở cả 3 lô được uống dung dịch NaCl 0,9% hoặc thuốc nghiên cứu trong 4 tuần liền, mỗi ngày một lần vào 8 giờ sáng với thể tích 5ml/kg.

Thỏ được theo dõi các chỉ số đánh giá chức năng gan: Định lượng hoạt độ các transaminase (ALT, AST), nồng độ Bilirubin toàn phần, Protein toàn phần; đánh giá chức năng thận thông qua định lượng Ure và Creatinin. Các chỉ số trên được theo dõi tại 2 thời điểm trước dùng thuốc và sau 28 ngày uống thuốc liên tục. So sánh kết quả của nhóm thử và nhóm chứng theo phương pháp thống kê.

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu. Các số liệu nghiên cứu được xử lý thống kê theo phương pháp t-test Student và test trước sau (Avant- Apres). Sự khác biệt có ý nghĩa khi $P < 0,05$.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đánh giá độc tính cấp trên chuột nhắt trắng. Sau khi cho các lô chuột uống thuốc thử theo liều tăng dần từ 20g/kg đến 40g/kg chuột (tương ứng với khoảng 40 - 80 viên mẫu thử/kg chuột/ngày) không nhận thấy biểu hiện gì khác thường, không nhận thấy biểu hiện ngộ độc trên chuột thí nghiệm trong thời gian theo dõi. Chuột ở các mức liều 50g/kg đến 60g/kg chuột (tương ứng với khoảng 100 - 120 viên mẫu thử/kg chuột/ngày) sau khi uống mẫu thử khoảng 2 giờ, chuột có biểu hiện giảm hoạt

động. Sau 24 giờ chuột ở mức liều 60g/Kg có 2 chuột chết (20%), còn lại tất cả chuột theo dõi đủ 7 ngày không có biểu hiện ngộ độc, chuột ăn uống, hoạt động bình thường. Như vậy với mức liều 60g/Kg chuột vẫn không xác định được liều gây chết 50% động vật thí nghiệm (LD_{50}).

3.2. Đánh giá độc tính bán trường diễn trên thỏ

3.2.1. Tình trạng chung. Trong suốt thời gian thí nghiệm, thỏ ở cả 3 lô vẫn ăn uống, hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, ăn uống tốt, phân khô, lông mượt, mắt sáng. Không thấy biểu hiện gì đặc biệt ở cả 3 lô thỏ trong suốt thời gian nghiên cứu.

3.2.2. Ảnh hưởng của viên nang Não thông lạc đến trọng lượng thỏ

Bảng 1. Ảnh hưởng của viên nang Não thông lạc đến trọng lượng thỏ

Thời gian	Lô chứng	Lô thử 1 (0,28g/kg)	Lô thử 2 (0,84g/kg)	P so với chứng
	Trọng lượng ($\bar{X} \pm SD$)	Trọng lượng ($\bar{X} \pm SD$)	Trọng lượng ($\bar{X} \pm SD$)	
Trước uống thuốc	2,21 ± 0,13	2,14 ± 0,05	2,33 ± 0,16	$P_{T1-C} > 0,05$ $P_{T2-C} > 0,05$
Sau 1 tuần	2,26 ± 0,10	2,20 ± 0,03	2,31 ± 0,10	
Sau 2 tuần	2,36 ± 0,07	2,28 ± 0,05	2,37 ± 0,11	
Sau 3 tuần	2,42 ± 0,08	2,27 ± 0,07	2,44 ± 0,12	
Sau 4 tuần	2,42 ± 0,09	2,31 ± 0,08	2,45 ± 0,12	
P sau 4 tuần	< 0,001	< 0,01	< 0,05	$P_{T1-C} > 0,05$ $P_{T2-C} > 0,05$

Nhận xét: Cân nặng trung bình của thỏ ở các nhóm thử trước khi đưa vào thí nghiệm không có sự khác biệt so với chứng ($P > 0,05$). Sau 28 ngày thử nghiệm, thỏ ở các nhóm thử và chứng đều tăng cân rõ rệt ($P < 0,001$; 0,05),

nhưng không có sự khác biệt về mức độ gia tăng trọng lượng thỏ giữa lô chứng và các lô dùng thuốc thử không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

3.2.3. Ảnh hưởng của viên nang Não thông lạc lên một số chỉ số huyết học của thỏ

Bảng 2. Ảnh hưởng của viên nang Não thông lạc đến một số chỉ số huyết học của thỏ

Thời gian	Số lượng hồng cầu (T/L)			P trước thí nghiệm
	Lô chứng ($\bar{X} \pm SD$)	Lô thử 1 (0,28g/kg) ($\bar{X} \pm SD$)	Lô thử 2 (0,84g/kg) ($\bar{X} \pm SD$)	
Trước uống thuốc	5,68 ± 0,19	5,66 ± 0,32	5,52 ± 0,22	$P_{C-T1} > 0,05$ $P_{C-T2} > 0,05$
Sau 4 tuần uống thuốc	6,08 ± 0,24	5,89 ± 0,33	5,45 ± 0,31	
P sau 4 tuần		$P_{C-T1} > 0,05$	$P_{C-T2} > 0,05$	
Huyết sắc tố (g/dl)				
Trước uống thuốc	10,8 ± 0,4	10,9 ± 0,3	10,6 ± 0,4	$P_{C-T1} > 0,05$ $P_{C-T2} > 0,05$
Sau 4 tuần uống thuốc	13,4 ± 0,6	12,9 ± 0,4	11,8 ± 0,6	
P sau 4 tuần		$P_{C-T1} > 0,05$	$P_{C-T2} > 0,05$	
Hematocrit (%)				
Trước uống thuốc	37,9 ± 1,2	37,7 ± 1,1	37,0 ± 1,4	$P_{C-T1} > 0,05$ $P_{C-T2} > 0,05$
Sau 4 tuần uống thuốc	41,1 ± 1,9	40,1 ± 1,8	36,4 ± 1,8	
P sau 4 tuần		$P_{C-T1} > 0,05$	$P_{C-T2} > 0,05$	
Số lượng bạch cầu (G/L)				
Trước uống thuốc	9,19 ± 0,93	9,20 ± 1,14	9,04 ± 1,09	$P_{C-T1} > 0,05$

				P _{C-T2} >0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	11,1 ± 1,19	9,74 ± 0,78	9,43 ± 1,24	
P sau 4 tuần		P _{C-T1} <0,05	P _{C-T2} >0,05	
Số lượng tiểu cầu (G/L)				
Trước uống thuốc	299,6 ± 61,4	286,6 ± 63,8	340,1 ± 72,0	P _{C-T1} >0,05 P _{C-T2} >0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	355,1 ± 60,0	339,1 ± 64,6	328,7 ± 58,9	
P sau 4 tuần		P _{C-T1} >0,05	P _{C-T2} >0,05	

Nhận xét: Trước khi thử nghiệm các thử nghiệm được kiểm tra các thông số về huyết học thì không có sự khác biệt giữa nhóm chứng và 2 nhóm thử (P>0,05). Sau 4 tuần uống thuốc, các chỉ số về huyết học ở 2 lô thử so với lô chứng

thay đổi không có ý nghĩa thống kê (P>0,05).

3.3. Ảnh hưởng của viên nang Nảo thông lạc đến chức năng gan, thận của thỏ
3.3.1. Ảnh hưởng đến chức năng gan:

Bảng 3: Ảnh hưởng của viên nang Nảo thông lạc đến chức năng gan của thỏ

Thời gian	Hoạt độ ALT (UI/L)			P trước thí nghiệm
	Lô chứng (X ± SD)	Lô thử 1 (X ± SD)	Lô thử 2 (X ± SD)	
Trước uống thuốc	82,1 ± 15,8	82,0 ± 17,3	82,3 ± 17,6	P _{T1-C} >0,05 P _{T2-C} >0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	94,0 ± 22,3	98,1 ± 41,1	79,3 ± 20,7	
P sau 4 tuần		P _{C-T1} >0,05	P _{C-T2} >0,05	
Hoạt độ AST (UI/L)				
Trước uống thuốc	66,7 ± 15,5	60,6 ± 15,8	64,3 ± 18,5	P _{T1-C} >0,05 P _{T2-C} >0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	71,4 ± 27,2	71,3 ± 33,5	68,9 ± 31,1	
P sau 4 tuần		P _{C-T1} >0,05	P _{C-T2} >0,05	
Bilirubin toàn phần (μmol/L)				
Trước uống thuốc	2,43 ± 0,58	3,29 ± 1,18	2,29 ± 0,56	P _{T1-C} >0,05 P _{T2-C} >0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	3,57 ± 1,33	2,57 ± 0,58	2,71 ± 0,56	
P sau 4 tuần		P _{C-T1} >0,05	P _{C-T2} >0,05	
Protein toàn phần (g/L)				
Trước uống thuốc	72,1 ± 6,4	66,6 ± 8,3	71,1 ± 6,9	P _{T1-C} >0,05 P _{T2-C} >0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	64,7 ± 6,4	64,7 ± 9,5	62,6 ± 3,2	
P sau 4 tuần		P _{C-T1} >0,05	P _{C-T2} >0,05	

Nhận xét: Hoạt độ ALT, AST; hàm lượng Bilirubin toàn phần; hàm lượng protein toàn phần ở lô thử 1 và lô thử 2 đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng cả thời điểm trước và sau 4 tuần uống viên nang Nảo thông lạc (P>0,05).

3.3.2. Ảnh hưởng đến chức năng thận:

Bảng 4: Ảnh hưởng của viên nang Nảo thông lạc đến chức năng thận của thỏ

Thời gian	Ure (mmol/L)			P trước thí nghiệm
	Lô chứng (X ± SD)	Lô thử 1 (X ± SD)	Lô thử 2 (X ± SD)	
Trước uống thuốc	4,71 ± 0,81	4,44 ± 0,68	4,76 ± 0,29	P _{T1-C} >0,05 P _{T2-C} >0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	5,57 ± 1,02	4,89 ± 0,65	4,37 ± 0,57	
P sau 4 tuần		P _{C-T1} >0,05	P _{C-T2} >0,05	
Creatinin (μmol/dL)				
Trước uống thuốc	113,0 ± 18,2	135,0 ± 21,1	118,4 ± 10,9	P _{T1-C} >0,05 P _{T2-C} >0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	125,0 ± 16,5	140,1 ± 14,2	132,9 ± 21,4	
P sau 4 tuần		P _{C-T1} >0,05	P _{C-T2} >0,05	

Nhận xét: Hàm lượng Urea và Creatinin ở lô thử 1 và lô thử 2 đều không có sự khác biệt có ý

nghĩa so với lô chứng cả trước và sau 4 tuần uống thuốc Nảo thông lạc (P>0,05).

IV. BÀN LUẬN

Bài thuốc "Bổ dương hoàn ngũ" là một bài thuốc cổ phương đã được sử dụng từ nhiều đời nay an toàn và hiệu quả. Tuy nhiên, để tiện sử dụng, bài thuốc được nghiên cứu bào chế thành dạng bột cao thuốc cũng cần được nghiên cứu độc tính để đảm bảo an toàn trước khi được sử dụng trong điều trị. Qua nghiên cứu, các kết quả bước đầu cho chúng ta thấy:

4.1. Độc tính cấp của viên nang Não thông lạc. Cho chuột uống thuốc thử đến liều cao nhất có thể được (nồng độ và thể tích tối đa cho phép) là 60g/kg thể trọng thì có biểu hiện ngộ độc, nhưng số lượng chuột chết trong 24 giờ đầu là 20%, các chuột khác hồi phục bình thường vì vậy chưa xác định được LD₅₀ trên chuột nhắt trắng theo đường uống. Liều dưới liều chết LD₀ là 50g mẫu thử/kg chuột.

Liều 60g/kg chuột nhắt trắng tương đương trên người 5g/kg (tính theo hệ số 12) vẫn chưa xác định được LD₅₀. Như vậy nếu so với liều thường dùng trên người theo kinh nghiệm dân gian là 0,4g/kg thì liều gấp 12,5 lần vẫn chưa gây độc. Điều này cho thấy mẫu thử viên nang Não thông lạc có độc tính rất thấp.

4.2. Độc tính bán trường diễn. Căn cứ theo liều dự kiến lâm sàng của viên nang Não thông lạc là 10 viên/ngày/người có thể trọng khoảng 70kg, từ đó tính được liều thử trên thỏ (gấp 4 lần liều dự kiến lâm sàng). Như vậy mức liều 0,28g/kg là tương đương liều dự kiến lâm sàng, liều 0,84g/kg cao gấp 3 lần liều dự kiến lâm sàng. Thời gian thử 4 tuần là thời gian gấp 3 – 4 lần thời gian dự kiến sử dụng thuốc cho mỗi đợt điều trị (7 – 10 ngày) trên lâm sàng.

Với mức liều và thời gian thử nghiệm này đã không thấy có những biến đổi bất thường về tình trạng chung, các chỉ số về huyết học và sinh hóa.

4.2.1. Tình trạng chung và trọng lượng cơ thể. Các kết quả nghiên cứu thu được cho thấy: sau 4 tuần uống thuốc liên tục thỏ ở tất cả các lô đều ăn uống, hoạt động bình thường, lông mượt, phân không thay đổi. Trọng lượng thỏ (bảng 1) ở cả 3 lô (1 lô chứng và 2 lô thử) đều tăng so với trước khi dùng thuốc, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$; $0,01$; $0,001$). So sánh sự tăng cân giữa các nhóm nghiên cứu và nhóm chứng thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,5$) chứng tỏ thuốc nghiên cứu không ảnh hưởng đến tình trạng chung và quá trình tăng cân của thỏ.

4.2.2. Ảnh hưởng trên cơ quan tạo máu

Kết quả thu được ở bảng 2 cho thấy:

- Với liều 0,28g thuốc thử/kg thỏ, các chỉ số

dùng để đánh giá chức năng hệ thống tạo máu của cơ thể như số lượng Hồng cầu, Huyết sắc tố, Hematocrit và số lượng Tiểu cầu. Kết quả sau 4 tuần, các chỉ số huyết học đều tăng và so với nhóm chứng không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

- Với liều 0,84g thuốc thử/kg thỏ (gấp 3 liều lâm sàng). Kết quả sau 4 tuần, các chỉ số dùng để đánh giá chức năng hệ thống tạo máu của cơ thể có 3 chỉ số là Huyết sắc tố, số lượng Bạch cầu, số lượng tiểu cầu tăng nhẹ; 2 chỉ số là số lượng Hồng cầu, Hematocrit có giảm nhẹ, nhưng tất cả đều không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Điều này cho thấy, mặc dù sử dụng thuốc ở liều cao, trong thời gian khá dài thì ảnh hưởng của thuốc thử tới chức năng cơ quan tạo máu là không đáng kể.

4.2.3. Ảnh hưởng của viên nang Não thông lạc đến chức năng gan. Trong cơ thể, gan là cơ quan đảm nhận nhiều chức năng rất quan trọng. Khi đưa thuốc vào cơ thể có thể gây độc với gan, làm ảnh hưởng đến chức năng gan. Vì vậy, khi đánh giá độc tính của thuốc, nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc đối với chức năng gan là rất cần thiết.

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3 cho thấy: Trên cả hai lô thỏ, một lô uống viên nang Não thông lạc 0,28g/kg/ngày (tương đương với liều dùng cho người, tính theo hệ số 4) và một lô uống liều cao gấp 3 lần (0,84g/kg/ngày) liên tục trong 4 tuần đã không làm thay đổi kết quả các xét nghiệm đánh giá chức năng gan (ALT, AST, Bilirubin toàn phần, Protein toàn phần) điều đó chứng tỏ viên nang Não thông lạc không làm ảnh hưởng tới chức năng gan.

4.2.4. Ảnh hưởng của viên nang Não thông lạc đến chức năng thận. Thận là cơ quan bài tiết của cơ thể. Nhu mô thận rất dễ bị tổn thương bởi các chất nội sinh và ngoại sinh. Vì vậy, khi đưa thuốc vào cơ thể có thể gây độc, làm tổn thương thận, từ đó ảnh hưởng đến chức năng thận. Đánh giá chức năng thận sau khi dùng thuốc thường định lượng urê và creatinin máu. Creatinin là thành phần đạm trong máu ổn định nhất, hầu như không phụ thuộc vào chế độ ăn hoặc những thay đổi sinh lý mà chỉ phụ thuộc vào khả năng đào thải của thận. Khi cầu thận bị tổn thương, nồng độ creatinin máu tăng sớm hơn urê.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, urea và creatinin trong máu thỏ sau 4 tuần uống viên nang Não thông lạc ở cả 2 liều 0,28g/kg và 0,84g/kg không có sự thay đổi so với trước khi dùng thuốc và so với lô chứng, chứng tỏ viên nang Não thông lạc với các liều trên không ảnh hưởng tới chức năng lọc của cầu thận.

V. KẾT LUẬN

- Viên nang Não thông lạc không xác định được liều LD₅₀ theo đường uống khi thử tới liều dung nạp tối đa 60g thuốc thử/kg chuột nhắt, là liều gấp 12,5 lần liều thường dùng trên người.

- Viên nang Não thông lạc sau 4 tuần dùng liên tục trên thỏ ở 2 mức liều: 0,28g/kg/ngày (liều tương đương với liều dùng trên người) và 0,84g/kg/ngày (gấp 3 lần liều dùng trên người) không ảnh hưởng tới thể trạng và chức năng hệ thống tạo máu của thỏ thực nghiệm cũng như tất cả các chỉ số theo dõi về chức năng gan (hoạt độ ALT, AST, nồng độ Bilirubin toàn phần, Protein toàn phần) và chức năng thận (Urea và Creatinin huyết thanh) đều nằm trong giới hạn bình thường, không có sự khác biệt rõ rệt so với

lô chứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Y Tế.** Thông tư Hướng dẫn về thử thuốc trên lâm sàng (03/2012/TT-BYT). 2012.
- Đỗ Trung Đàm.** Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc. NXB Y học. 2006.
- Giang Khắc Minh, Bao Minh Huệ.** Giải minh phương tế từ điển (Tái bản lần 2). NXB Khoa học kỹ thuật Thượng Hải, 2002: 649 (tiếng Trung).
- Câu Bái Nhiên.** Tuyển tập phương thuốc Trung y nổi tiếng các triều đại. NXB Từ thư Thượng Hải, 1998: 483 (tiếng Trung).
- OECD 423** (2001). OECD guideline for testing of chemicals - Acute oral toxicity – Acute toxic class method.
- World Health Organization.** Working group on the safety and efficacy of herbal medicine. Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization. 2000.

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM DI TRUYỀN LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ KHÁNG THUỐC CLOPIDOGREL

Trương Đình Cẩm¹, Tạ Anh Hoàng¹, Trần Văn Công Thắng¹,
Lương Bắc An², Lê Gia Hoàng Linh², Đỗ Đức Minh²

TÓM TẮT

Mở đầu: Clopidogrel là một thuốc kháng kết tập tiểu cầu nền tảng trong điều trị bệnh mạch vành. Tuy nhiên, hiệu quả ức chế kết tập tiểu cầu của clopidogrel phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố mà trong đó yếu tố di truyền của bệnh nhân có vai trò hết sức quan trọng. **Mục tiêu:** Khảo sát mối liên quan giữa các điểm đa hình đơn trên các gen CYP2C19, PON1 bao gồm rs4244285, rs4986893 và rs662 với tình trạng đề kháng clopidogrel ở các bệnh nhân có chỉ định dùng thuốc này. **Phương pháp:** 198 bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh lí động mạch vành có chỉ định dùng thuốc clopidogrel. DNA được tách chiết từ máu ngoại biên của bệnh nhân và kiểu gen của các điểm đa hình rs4244285, rs4986893, rs662 được xác định bằng phương pháp PCR. Độ ngưng tập tiểu cầu sau khi dùng thuốc được xác định bằng phương pháp đo độ truyền quang với ADP. **Kết quả:** Trong 198 bệnh nhân tham gia nghiên cứu, chúng tôi ghi nhận có 121 bệnh nhân có tình trạng đề kháng với clopidogrel. Các điểm đa hình không liên quan có ý nghĩa thống kê với tình trạng đề kháng clopidogrel. Tuy nhiên, người mang kiểu gen tổ hợp G/A/T của 3 điểm đa hình cho thấy có liên quan đến gia tăng nguy cơ đề kháng clopidogrel lên 4,04 lần so với người không mang tổ hợp gen này. **Kết luận:** Nghiên cứu

bước đầu xác định được mối liên quan của 3 biến thể di truyền rs4244285, rs4986893, rs662 với tình trạng đề kháng clopidogrel ở người Việt Nam. **Từ khóa:** clopidogrel, đề kháng, điểm đa hình đơn nucleotide

SUMMARY**GENETIC CHARACTERISTICS ASSOCIATED WITH CLOPIDOGREL RESISTANCE**

Background: Clopidogrel, an antiplatelet drug, is a cornerstone treatment in coronary artery disease. However, the efficacy of inhibiting platelet aggregation of clopidogrel depends on many aspects, especially the patients' genetic factor. **Objectives:** To investigate the associations of single nucleotide polymorphisms on CYP2C19, PON1 gene including rs4244285, rs4986893, and rs662 with clopidogrel resistance. **Methods:** 198 patients diagnosed with coronary artery disease and indicated clopidogrel were recruited in this study. Genomic DNA was extracted from patients' peripheral blood samples and the genotypes of rs4244285, rs4986893, and rs662 were identified by PCR method. Platelet aggregation was measured by optical aggregometry with ADP. **Results:** There were 121 patients with clopidogrel resistance. The 3 polymorphisms rs4244285, rs4986893, rs662 showed no statistical association with clopidogrel resistance. However, patients with G/A/T haplotype had 4 times higher risk of clopidogrel resistance compared with patients not carrying this haplotype. **Conclusions:** The study has primarily described the association of rs4244285, rs4986893, and rs662 with clopidogrel resistance in Vietnamese patients. **Keywords:** clopidogrel, resistance, single nucleotide polymorphism.

¹Bệnh viện Quân Y 175

²Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Đỗ Đức Minh

Email: ducminh@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 22.01.2024

Ngày phản biện khoa học: 12.3.2024

Ngày duyệt bài: 27.3.2024