

ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH CẤP VÀ ẢNH HƯỞNG CỦA CHẾ PHẨM BB₁ LÊN CHỨC NĂNG TẠO MÁU CỦA ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Acute toxicity and effects to hematopoietic function of BB₁ on experimental animals

* Dương Thị Ly Hương¹, ** Nguyễn Trần Giáng Hương²

¹ Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, ² Trường Đại học Y Hà Nội

Tóm tắt:

Mục tiêu nghiên cứu: 1) đánh giá độc tính cấp và xác định LD₅₀ của chế phẩm BB₁ trên động vật thực nghiệm. 2) Đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm BB₁ đến tình trạng chung và chức năng tạo máu của động vật thí nghiệm. **Phương pháp:** Xác định độc tính cấp và tính LD₅₀ của chế phẩm BB₁ bằng đường uống trên chuột nhắt thực nghiệm theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon, nghiên cứu ảnh hưởng của chế phẩm BB₁ trên tình trạng chung và chức năng tạo máu dựa theo hướng dẫn của OECD 407. **Kết quả:** Chưa xác định được liều LD₅₀ của chế phẩm BB₁ khi cho chuột nhắt uống tới liều tối đa là 20g/kg (gấp 25 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng); không thấy có sự thay đổi về số lượng hồng cầu, hemoglobin, hematocrit, số lượng bạch cầu, tiểu cầu khi cho thỏ dùng chế phẩm BB₁ với liều 0,25g/kg và 0,75g/kg lặp lại hàng ngày trong 28 ngày. **Kết luận:** chế phẩm BB₁ không thể hiện độc tính cấp, cũng không ảnh hưởng đến chức năng tạo máu ở thỏ khi dùng liều kéo dài và lặp lại trong 28 ngày.

Từ khóa: BB₁, độc tính cấp, chức năng tạo máu

Summary

ACUTE TOXICITY AND EFFECTS TO HEMATOPOIETIC FUNCTION OF BB₁ ON EXPERIMENTAL ANIMALS

Objective: 1) Evaluate acute toxicity and identify LD₅₀ of BB₁ on experimental animal. 2) Evaluate effects to general state and hematopoietic function of BB₁ on experimental animals. **Method:** Identify acute toxicity and calculate LD₅₀ of BB₁ regimen on mice via oral administration by Litchfield-Wilcoxon; evaluate effects to general state and hematopoietic function of BB₁ regimen on rabbit according to OECD 407. **Results:** with the maximum dosage of 20g/kg (25 times higher than clinical dose) that can be given by gavage to mice body, acute toxicity of BB₁ regimen was not exhibited and LD₅₀ was unable to calculate; there were not significantly changes in the number of red blood cells, white blood cells, hemoglobin, hematocrit when BB₁ regimen was given with the repeat dose of 0,25g/kg and 75g/kg for 28 consecutive days. **Conclusion:** BB₁ regimen does not show acute toxicity and negative effects on general state and hematopoietic function on experimental animals.

Keywords: BB₁, acute toxicity, hematopoietic function

Địa chỉ liên hệ: Dương T Ly Hương - Khoa Y Dược - Trường ĐHQG HN

Địa chỉ email: lyhuongsmp@gmail.com

Phản biện khoa học: PGS.TS. Nguyễn Nhược Kim

* TS.BS; ** PGS.TS

Ngày nhận bài: 15/10/2013

Ngày phản biện: 12/11/2013

Ngày chấp nhận: 25/11/2013

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chế phẩm BB₁ (với 2 thành phần chính là bách bệnh và dinh lãng) đã được chứng minh có tác dụng kiểu androgen trên chuột nhắt và chuột cống thực nghiệm. Với liều 0,47g/kg, chế phẩm BB₁ cũng làm tăng hành vi tình dục ở chuột cống trưởng thành sau 10 ngày dùng thuốc, đồng thời cũng làm tăng rõ nồng độ testosterone máu trên những chuột có hoạt động tình dục kém. Bách bệnh có độc tính cấp LD₅₀ trên đường uống ở chuột nhắt thực nghiệm là 135g rễ/kg [3]. Dinh lãng có độc tính rất thấp, hầu như chưa xác định được liều LD₅₀ [5]. Việc phối hợp giữa bách bệnh và dinh lãng đã làm giảm liều bách bệnh mà vẫn giữ được tác dụng dược lý. Liệu chế phẩm BB₁ có làm giảm độc tính so với khi dùng bách bệnh đơn thuần không? Chúng tôi thực hiện đề tài này với 2 mục tiêu: 1) *đánh giá độc tính cấp và xác định LD₅₀ của chế phẩm BB₁ trên động vật thực nghiệm.* 2) *Đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm BB₁ đến tình trạng chung và chức năng tạo máu của động vật thí nghiệm.*

II. CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu nghiên cứu:

Viên nang chế phẩm BB₁ (gồm 2 thành phần chính là bách bệnh 320mg;

dinh lãng 100mg; tá dược vừa đủ 500mg) được bào chế thử nghiệm tại công ty Dược Khoa, đạt tiêu chuẩn cơ sở.

2.2. Đối tượng nghiên cứu:

Chuột nhắt đực và cái trưởng thành, cân nặng 18-20 gam, do viện vệ sinh dịch tễ trung ương cung cấp; thỏ trưởng thành khỏe mạnh, cân nặng 1,8-2,2kg do viện kiểm nghiệm thuốc trung ương cung cấp. Toàn bộ số động vật trên được nuôi trong điều kiện đầy đủ thức ăn và nước uống.

2.3. Phương pháp nghiên cứu:

2.3.1. Nghiên cứu độc tính cấp

Chuột nhắt trắng khỏe mạnh, cân nặng 18- 22gam, được chia thành các lô, mỗi lô 10 con. Trước khi làm thí nghiệm 14- 16 giờ, cho chuột nhịn ăn nhưng vẫn cho uống nước đầy đủ. Sau đó cho từng lô uống chế phẩm BB₁ với liều tăng dần từ liều cao nhất không gây chết chuột nào đến liều thấp nhất gây chết 100% chuột. Theo dõi số chuột chết trong vòng 72 giờ và tình trạng chung của chuột (như hoạt động tự nhiên, tình trạng ăn uống, màu sắc niêm mạc mắt, mũi, tai, đuôi, lông, khả năng đáp ứng khi có kích thích...) trong 7 ngày. Khi có chuột chết, mổ để quan sát đại thể các cơ quan phủ tạng. Xác định LD₅₀ theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon [2].

*** Nghiên cứu ảnh hưởng của chế phẩm BB₁ trên chức năng tạo máu**

Áp dụng theo hướng dẫn của OECD 407 [4] và quyết định 371/BYT-QĐ của Bộ Y tế về việc đánh giá tính an toàn và hiệu lực của thuốc cổ truyền [1], cụ thể như sau: thỏ khỏe mạnh cả 2 giống, cân nặng 1,8- 2,2kg, được chia ngẫu nhiên thành các lô. Cho thỏ uống thuốc liên tục trong 28 ngày. Theo dõi tình trạng chung của thỏ (như hoạt động tự nhiên, tình trạng ăn uống, màu sắc lông, phân, nước tiểu, trọng lượng

cơ thể). Tiến hành lấy máu thỏ tại 3 thời điểm (N₀: trước khi uống thuốc, N₁₄: sau khi uống thuốc 14 ngày, N₂₈: sau khi uống thuốc 28 ngày) để đánh giá chức năng tạo máu thông qua các chỉ số: số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, công thức bạch cầu, hàm lượng hemoglobin, tỷ lệ hematocrit.

2.4. Các số liệu được thu thập và xử lý thống kê: sử dụng t- test student để so sánh sự khác biệt giữa các lô.

III. KẾT QUẢ

3.1. Độc tính cấp

Bảng 3.1. Số chuột chết trong vòng 72 giờ đầu sau khi uống chế phẩm BB₁

Lô	Liều chế phẩm BB ₁ (g/kg)	Số chuột thử	Số chuột chết sau 72 giờ	Tỷ lệ % chuột chết
1	5	10	0	0
2	10	10	0	0
3	15	10	0	0
4	20	10	0	0

Nhận xét: Với liều 20g/kg, là liều tối đa có thể cho chuột uống được (gấp 27 lần liều có tác dụng), chế phẩm BB₁ chưa làm chết chuột thực nghiệm.

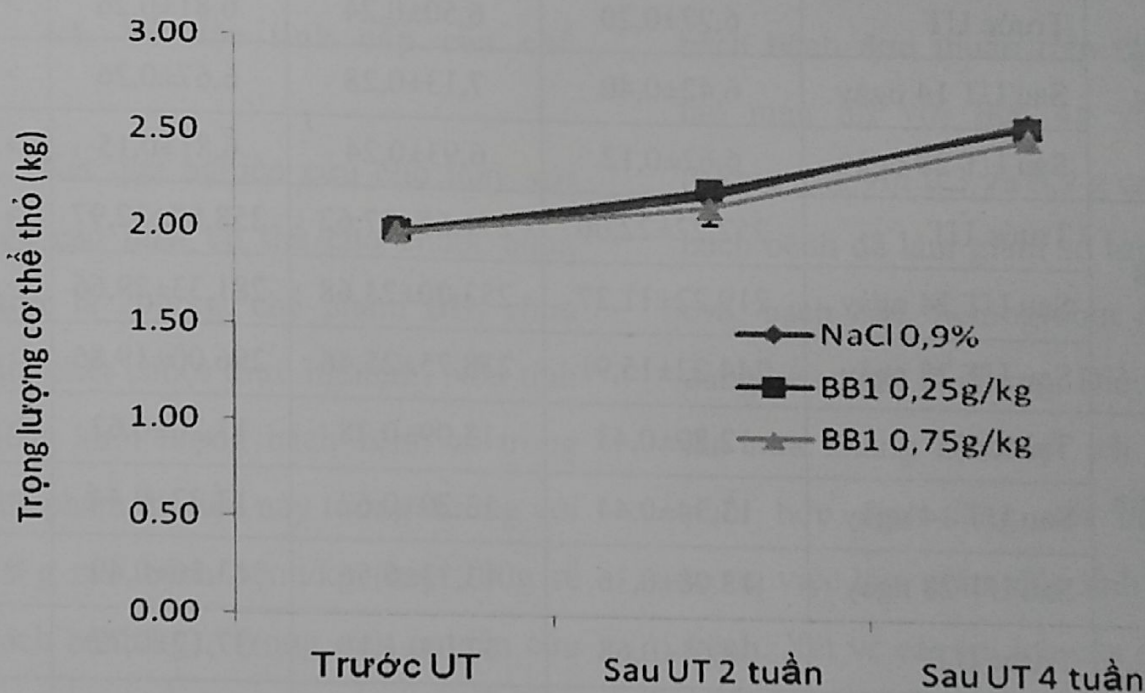
Bảng 3.2. Tình trạng chung của chuột trong vòng 7 ngày sau khi dùng chế phẩm BB₁

Lô	Trong 24 giờ đầu	Trong 72 giờ	Trong 7 ngày
1,2	Chuột hoạt động bình thường, phản xạ tốt với các kích thích.	Các chuột đều hoạt động, ăn uống bình thường; phân, nước tiểu bình thường; niêm mạc hồng; lông mượt; phản xạ tốt với các kích thích.	Chuột hoạt động, ăn uống bình thường; phân, nước tiểu bình thường; niêm mạc hồng; lông mượt; phản xạ tốt với các kích thích.
3,4	2 giờ đầu: chuột tụ thành đám, ít hoạt động. Sau đó, chuột hoạt động bình thường trở lại, ăn uống bình thường, phản xạ tốt với các kích thích.	Chuột hoạt động, ăn uống bình thường; phân, nước tiểu bình thường; phản xạ tốt với các kích thích.	Các chuột đều hoạt động, ăn uống bình thường; phân, nước tiểu bình thường; niêm mạc hồng; lông mượt; phản xạ tốt với các kích thích.

Nhận xét: biểu hiện chung của chuột sau 7 ngày dùng chế phẩm cho thấy chế phẩm BB₁ không có những ảnh hưởng đáng kể đến hoạt động bình thường của chuột.

3.2. Ảnh hưởng của chế phẩm BB₁ đến tình trạng chung và chức năng tạo máu ở động vật thí nghiệm

* Ảnh hưởng của chế phẩm BB₁ đến thể trạng chung của thỏ thí nghiệm



Hình 3.1. Thay đổi trọng lượng cơ thể thỏ qua các thời điểm nghiên cứu

Nhận xét: Trọng lượng cơ thể thỏ ở các lô uống nước muối sinh lý, uống chế phẩm BB₁ liều 0,25g/kg và 0,75g/kg đều có sự tăng rõ rệt qua các thời điểm nghiên cứu. Không có khác biệt về sự tăng trọng lượng cơ thể thỏ giữa các lô ở các thời điểm nghiên cứu.

* Ảnh hưởng của chế phẩm BB₁ đến chức năng tạo máu ở thỏ thực nghiệm

Bảng 3.3. Sự thay đổi các chỉ số huyết học ở thỏ khi dùng chế phẩm BB₁ liều lặp lại

Chỉ số nghiên cứu	Thời điểm nghiên cứu	Lô chứng	Lô uống BB ₁ 0,25 g/kg	Lô uống BB ₁ 0,75g/kg	P ANOVA
Số lượng hồng cầu (G/L)	Trước UT	5,34±0,22	5,44±0,23	5,42±0,11	> 0,05
	Sau UT 14 ngày	5,49±0,18	5,62±0,13	5,53±0,13	> 0,05
	Sau UT 28 ngày	5,64±0,14	5,67±0,21	5,65±0,10	> 0,05
Số lượng bạch cầu (T/L)	Trước UT	6,27±0,20	6,50±0,24	6,81±0,26	> 0,05
	Sau UT 14 ngày	6,42±0,40	7,13±0,28	6,67±0,26	> 0,05
	Sau UT 28 ngày	6,62±0,12	6,93±0,24	6,81±0,15	> 0,05
Số lượng tiểu cầu (T/L)	Trước UT	252,22±22,00	271,67±27,62	258,89±32,97	> 0,05
	Sau UT 14 ngày	219,22±11,37	253,00±25,68	281,33±29,66	> 0,05
	Sau UT 28 ngày	244,22±15,91	238,75±25,46	296,00±19,86	> 0,05
Hemoglobin (g/dL)	Trước UT	12,89±0,43	13,09±0,78	13,20±0,62	> 0,05
	Sau UT 14 ngày	13,34±0,44	13,20±0,62	13,22±0,44	> 0,05
	Sau UT 28 ngày	13,08±0,36	13,33±0,56	13,36±0,49	> 0,05
Hematocrit (%)	Trước UT	38,01±0,68	37,04±1,15	37,17±0,72	> 0,05
	Sau UT 14 ngày	38,27±0,81	37,45±0,35	37,36±0,35	> 0,05
	Sau UT 28 ngày	36,89±1,06	36,14±1,04	36,19±0,56	> 0,05
Bạch cầu trung tính (%)	Trước UT	89,67±1,76	86,13±2,82	87,89±1,22	> 0,05
	Sau UT 14 ngày	90,22±0,85	88,71±1,22	90,67±1,29	> 0,05
	Sau UT 28 ngày	91,22±0,98	91,43±1,48	88,75±1,22	> 0,05
Bạch cầu lympho (%)	Trước UT	10,33±1,76	13,88±2,82	87,89±1,22	> 0,05
	Sau UT 14 ngày	9,78±0,85	11,29±1,22	9,33±1,29	> 0,05
	Sau UT 28 ngày	8,78±0,98	8,57±1,48	11,25±1,22	> 0,05

Nhận xét: Không có sự thay đổi rõ rệt về các chỉ số huyết học giữa lô uống chế phẩm BB₁ liều tương đương và liều gấp 3 lần liều lâm sàng so với lô chứng uống nước muối sinh lý sau cả 14 và 28 ngày dùng thuốc.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Về độc tính cấp của chế

Kết quả nghiên cứu cho thấy với liều cao nhất có thể cho chuột uống được là 20g/kg, chế phẩm BB₁ chưa làm chết chuột thực nghiệm. Nếu tính riêng khối lượng bách bệnh có trong chế phẩm thì liều này tương đương với 15 g cao bách bệnh/kg (hay 200g rễ bách bệnh/kg). Trong một nghiên cứu trước đây về độc tính cấp của rễ bách bệnh, chúng tôi đã tìm ra liều LD₅₀ của rễ bách bệnh là 135g/kg thể trọng chuột nhất trắng [3]. Đối chiếu với liều 200g/kg trong thí nghiệm đó thì rễ bách bệnh đã làm chết tới 9/10 chuột. Như vậy, rõ ràng việc phối hợp rễ đinh lăng vào trong chế phẩm đã làm giảm độc tính đi rất nhiều

4.2. Về ảnh hưởng của chế phẩm BB₁ đến chức phận tạo máu:

Kết quả ở bảng 3.3 cho thấy với liều 0,25g/kg và 0,75g/kg, chế phẩm BB₁ đã không ảnh hưởng đến chức phận tạo máu của thỏ. Đối chiếu với kết quả nghiên cứu độc tính của rễ bách bệnh đơn thuần trên chức phận tạo máu thì với liều 4g và 12g/kg (tương ứng với 0,3 và 0,9 g cao/kg), rễ bách bệnh đã làm giảm số lượng hồng cầu, bạch cầu, hemoglobin một cách đáng kể so với lô chứng. Điều này một lần nữa khẳng định lợi ích của việc phối hợp đinh lăng với bách bệnh trong việc làm giảm độc tính của bách bệnh. Xét về các lợi ích của đinh lăng, có thể thấy đinh lăng có tác dụng như một thuốc bổ chung, và được coi như là “nhân sâm” của Việt Nam. Rất nhiều công dụng của đinh lăng đã được chứng minh như: tác dụng chống oxy hóa, dọn sạch gốc tự do; chống phóng xạ, tăng cường thể lực, tăng sự dẻo dai trong các điều kiện khắc nghiệt như: bơi, sốc nhiệt, sốc điện...[5]. Có

thể chính những tác dụng này đã phần nào giảm bớt được độc tính do bách bệnh gây ra?

V. KẾT LUẬN

5.1. Kết quả độc tính cấp của BB₁

Chưa xác định được liều LD₅₀ của chế phẩm BB₁ khi cho chuột nhắt uống

tới liều tối đa là 20g/kg (gấp 25 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng).

5.2. Kết quả trên chức năng tạo máu của BB₁

- Chế phẩm BB₁ với liều 0,25g/kg và 0,75g/kg cho thỏ dùng hàng ngày trong 28 ngày, không ảnh hưởng đến số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, nồng độ hemoglobin, tỷ lệ hematocrit

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ trưởng Bộ Y tế (1996), "Quyết định về việc ban hành quy chế đánh giá tính an toàn và hiệu lực thuốc cổ truyền". Quyết định số 371/BYT-QĐ ngày 12/03/1996.

2. Đỗ Trung Đàm (1996), "Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc". Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.

3. Dương Thị Ly Hương, Nguyễn Trần Giáng Hương, Trần Đức Phấn (2011), "Nghiên cứu độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của rễ bá bệnh (*Eurycoma longifolia* J.) trên

động vật thực nghiệm". Tạp chí dược học số 422 (51), tr 30-35.

4. OECD 407 (1995), "Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents". OECD Guideline for the Testing of Chemical.

5. Yen Tran Ty (1961) "Studies into the effects of the root extract of *Dinhlang* (*Policiasfruticosum* L.), a Vietnamese plant on the age-related changes and congevity of rodents. A comparative study with (-) deprenyl". These for D.Sc Degree, Budapest, Hungari.