

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ ẢNH HƯỞNG CỦA BÀI THUỐC “NINH TÂM THỐNG” TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

BS. LÊ ĐÌNH HỌC - Bệnh viện Y dược cổ truyền Vĩnh Phúc

BS. TRẦN QUỐC BẢO, BS. TỐNG ĐỨC MINH

PGS.TS. NGUYỄN HOÀNG NGÂN - Học viện Quân y

Phản biện khoa học: PGS.TS. CẦN VĂN MÃO

Chủ nhiệm Bộ môn Sinh lý bệnh, Học viện Quân y

TÓM TẮT: Nghiên cứu độc tính cấp, ảnh hưởng của bài thuốc “Ninh tâm thống” đối với thể trạng chung và các chỉ số huyết học trên động vật thực nghiệm. **Kết quả:** Chưa xác định được LD_{50} của dịch chiết bài thuốc “Ninh tâm thống” trên chuột nhắt trắng, dù chuột đã được uống thuốc với liều cao nhất có thể (300g dược liệu/kg thể trọng). Chuột cống trắng uống dịch chiết bài thuốc “Ninh tâm thống” liều 19,6 g/kg/ngày và 58,8 g/kg/ngày, sau 45 ngày và 90 ngày uống thuốc liên tục, không thấy ảnh hưởng tới tình trạng chung, thể trọng và các chỉ tiêu huyết học của chuột thực nghiệm ($p > 0,05$).

Từ khóa: Ninh tâm thống, độc tính cấp, các chỉ số huyết học.

ABSTRACT: Study the acute toxicity and the effect on the general condition and hematology of the extract of “Ninh tam thong” remedies. **Results:** The acute toxicity not identify the LD_{50} on mice although they were taken the highest dose (300g herbal medicines/kg body weight). Study the effect on the general condition and hematology, the extract of “Ninh tam thong” remedies with doses of 19.6 g/kg body weight/day and 58.8 g/kg body weight/day, daily during 90 days to rats. There was no statistically significant differences between treatment groups compared to control group in the body weight and hematology indexes.

Keywords: Ninh tam thong, acute toxicity, hematology indexes.

Chịu trách nhiệm nội dung: PGS.TS. Nguyễn Hoàng Ngân, Email: nguyenhoangnganth@yahoo.com.vn

Ngày nhận bài: 22/6/2018; mời phản biện khoa học: 02/7/2018; chấp nhận đăng: 20/7/2018.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ.

Bệnh tim thiếu máu cục bộ (TTMCB) là bệnh thường gặp các nước phát triển và có xu hướng gia tăng nhanh ở các nước đang phát triển, trong đó có Việt Nam. Những năm gần đây, ở nước ta, bệnh TTMCB trở thành nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trong các bệnh lý tim mạch.

Y học cổ truyền với biện chứng luận trị sâu sắc và phương dược phong phú đã và đang thể hiện những nét ưu việt trong điều trị chứng tâm thống, chân tâm thống - một chứng bệnh có nhiều điểm tương đồng với bệnh TTMCB. Đã có nhiều nghiên cứu về các bài thuốc, vị thuốc điều trị bệnh lý này. Bài thuốc “Ninh tâm thống” gồm các vị thuốc có tác dụng hành khí, hoạt huyết, an thần... là một trong những bài thuốc được sử dụng trên lâm sàng điều trị bệnh TTMCB.

Để có cơ sở khoa học khẳng định tính an toàn của bài thuốc, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm đánh giá độc tính cấp và ảnh hưởng của bài thuốc “Ninh tâm thống” tới thể trạng chung và một số chỉ số huyết học trên chuột thực nghiệm.

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

2.1. Đối tượng, chất liệu, phương tiện nghiên cứu:

- Đối tượng nghiên cứu: 50 con chuột nhắt trắng chủng Swiss, trọng lượng 18-22 g/con và 24 con chuột cống trắng chủng Wistar, trọng lượng 160-180 g/con. Chuột khỏe mạnh, do Ban Động vật thí nghiệm, Học viện Quân y cung cấp, nuôi dưỡng theo tiêu chuẩn động vật nghiên cứu.

- Chất liệu nghiên cứu: bài thuốc “Ninh tâm thống” gồm 11 vị: Đan sâm 20g, Diên hồ sách 10g, Hồng hoa 10g, Ngưu tất 15g, Trần bì 10g, Hoàng kỳ 15g, Đương quy 12g, Bạch thược 15g, Ngũ vị tử 10g, Trạch tả 15g, Viễn chí 8g. Các vị thuốc đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt nam IV [1], được cung cấp bởi Công ty Dược phẩm Trung ương Mediplantex. Thuốc được chiết xuất và đóng gói tại Khoa Y học cổ truyền, Bệnh viện Quân y 103, bằng hệ thống máy sắc thuốc và đóng gói tự động của Hàn Quốc.

- Liều dùng (tính theo g dược liệu khô): liều dự kiến trên người (thể trọng trung bình 50 kg) là 140 g/người/ngày, tương đương 2,8 g/kg/ngày. Liều quy đổi trên chuột cống trắng (hệ số 7) là 19,6 g/kg/ngày; quy đổi trên chuột nhắt trắng (hệ số 12) là 33,6 g/kg/ngày.

- Phương tiện, hóa chất: máy phân tích huyết học Humancout 30TS (Human, Đức), hóa chất của hãng. Sử dụng phần mềm phân tích huyết học dành cho chuột thí nghiệm; cân phân tích 10-4, model CP224S (Sartorius, Đức) và các dụng cụ thí nghiệm khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

- Đánh giá độc tính cấp đường uống:

+ Xác định LD₅₀ của bài thuốc “Ninh tâm thống” trên chuột nhắt trắng chủng Swiss bằng đường uống theo phương pháp của Litchfield - Wilcoxon và hướng dẫn của WHO [2], [3], [4].

+ Tiến hành thực nghiệm: chia ngẫu nhiên 50 con chuột nhắt trắng thành 5 lô (lô 1 đến lô 5, mỗi lô 10 con). Chuột uống nước bình thường, nhịn ăn 12 giờ trước khi thí nghiệm. Sau đó, cho chuột uống cưỡng bức dịch chiết “Ninh tâm thống” bằng kim cong đầu tù, thể tích 0,2 ml/10g thể trọng/lần. Tăng liều dần, tối đa 3 lần/24 giờ, mỗi lần uống cách nhau 3 giờ. Tìm liều cao nhất không gây chết chuột, liều thấp nhất gây chết 100% số chuột và các liều trung gian. Theo dõi tình trạng chung (vận động, bài tiết...) và số lượng chuột chết ở mỗi lô trong 72 giờ. Tiếp tục theo dõi tình trạng chung của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống thuốc lần đầu. Phẫu tích quan sát tình trạng các tạng chuột ngay sau khi có chuột chết để xác định nguyên nhân gây độc (nếu có).

- Đánh giá độc tính bán trường diễn của bài thuốc “Ninh tâm thống”:

+ Đánh giá tính an toàn và hiệu lực của thuốc y học cổ truyền theo quy định của Bộ Y tế Việt Nam [2], [3], hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới [4], [6] và tổ chức OECD [5].

+ Tiến hành thực nghiệm: chia ngẫu nhiên 24 con chuột cống trắng thành 3 lô (mỗi lô 8 con): lô chứng (uống nước cất); lô trị 1 (uống dịch chiết “Ninh tâm thống”, liều 19,6 g/kg); lô trị 2 (uống dịch chiết “Ninh tâm thống”, liều gấp 3 lần lô trị 1, là 58,8 g/kg). Chuột được uống nước hoặc thuốc trong 90 ngày liên tục, mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng, thể tích 2 ml/100g thể trọng. Các thông số theo dõi

được kiểm tra vào thời điểm trước lúc uống (D₀), ngày thứ 45 (D₄₅) và 90 (D₉₀).

+ Các chỉ tiêu theo dõi: tình trạng chung, thể trọng của chuột; đánh giá chức phận tạo máu thông qua số lượng hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, số lượng bạch cầu và tiểu cầu.

- Xử lý số liệu: theo phương pháp thống kê y sinh học bằng phần mềm SPSS 22.0, Anova-test; số liệu biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$; khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.

3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp:

Bảng 1. Độc tính cấp đường uống của “Ninh tâm thống” trên chuột nhắt trắng.

Lô	Liều sử dụng (g/kg)	Thể tích cho uống/tỉ lệ cao	Số chuột sống/ chết sau 72 giờ
Lô 1	60,0	1:1	10/0
Lô 2	120,0	2:1	10/0
Lô 3	180,0	3:1	10/0
Lô 4	240,0	4:1	10/0
Lô 5	300,0	5:1	10/0

Chuột nhắt trắng uống “Ninh tâm thống” với liều tăng dần từ 60 g/kg/ngày đến liều tối đa có thể dùng được bằng đường uống là 300 g/kg/ngày (gấp 8,93 lần liều tương đương liều điều trị trên người). Trong 72 giờ đầu, chuột vẫn ăn uống, hoạt động và bài tiết bình thường, không quan sát thấy biểu hiện ngộ độc ở chuột và không có chuột nào chết. Theo dõi tiếp trong 7 ngày sau uống thuốc, thấy chuột vẫn hoàn toàn bình thường. Do không có chuột nào chết, nên không xác định được LD₅₀ của thuốc.

3.2. Ảnh hưởng của “Ninh tâm thống” tới chuột cống trắng:

- Tình trạng chung: chuột cống trắng ở cả 3 lô (lô chứng, lô trị 1, lô trị 2) ăn uống, hoạt động bình thường, lông mượt, phân khô. Không quan sát thấy biểu hiện bất thường nào trên cả 3 lô chuột trong suốt thời gian theo dõi.

- Sự thay đổi thể trọng chuột:

Bảng 2. Ảnh hưởng của “Ninh tâm thống” đến thể trọng chuột (g).

Thời điểm nghiên cứu	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	p
D ₀ (a)	169,00 ± 4,63	168,88 ± 3,48	169,25 ± 5,06	p ₁₋₂ > 0,05
D ₄₅ (b)	200,25 ± 6,86	198,87 ± 4,70	201,50 ± 7,17	p ₁₋₃ > 0,05
D ₉₀ (c)	217,75 ± 4,50	218,25 ± 5,87	219,13 ± 7,26	p ₂₋₃ > 0,05
p	p _{c-a} < 0,01; p _{b-a} < 0,01; p _{c-b} < 0,01			

Thể trọng chuột ở 3 lô nghiên cứu đều tăng theo thời gian dùng thuốc, thay đổi có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Thể trọng chuột ở lô trị 1 và lô trị 2 so với lô chứng tại tất cả các thời điểm khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy, thuốc không ảnh hưởng đến sự phát triển thể trọng của chuột.

- Ảnh hưởng của “Ninh tâm thống” tới một số chỉ số huyết học chuột:

Bảng 3. Ảnh hưởng của “Ninh tâm thống” một số chỉ số huyết học.

Chỉ số huyết học	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	p
Số lượng hồng cầu (T/l)	D ₀ (a)	8,33 ± 1,03	7,79 ± 0,45	7,87 ± 0,54
	D ₄₅ (b)	7,73 ± 1,35	7,93 ± 1,26	7,62 ± 1,27
	D ₉₀ (c)	7,95 ± 0,93	7,81 ± 0,40	8,14 ± 0,56
	p	p _{a-b} > 0,05; p _{a-c} > 0,05; p _{b-c} > 0,05		
Hàm lượng huyết sắc tố (g/l)	D ₀ (a)	134,13 ± 16,42	134,00 ± 8,88	132,38 ± 7,31
	D ₄₅ (b)	115,00 ± 35,27	125,13 ± 24,51	127,50 ± 17,08
	D ₉₀ (c)	135,38 ± 14,29	133,88 ± 8,22	134,63 ± 8,50
	p	p _{a-b} > 0,05; p _{a-c} > 0,05; p _{b-c} > 0,05		
Nồng độ Hematocrit (%)	D ₀ (a)	41,96 ± 3,58	40,64 ± 3,18	41,30 ± 2,76
	D ₄₅ (b)	40,44 ± 5,17	41,57 ± 5,97	39,88 ± 6,43
	D ₉₀ (c)	40,50 ± 4,57	40,72 ± 2,73	41,32 ± 3,15
	p	p _{a-b} > 0,05; p _{a-c} > 0,05; p _{b-c} > 0,05		
Số lượng bạch cầu (G/L)	D ₀ (a)	9,29 ± 3,79	9,85 ± 3,43	9,21 ± 3,75
	D ₄₅ (b)	9,60 ± 3,00	9,58 ± 5,87	9,68 ± 4,46
	D ₉₀ (c)	10,24 ± 3,53	9,71 ± 4,66	10,16 ± 1,67
	p	p _{a-b} > 0,05; p _{a-c} > 0,05; p _{b-c} > 0,05		
Số lượng tiểu cầu (G/L)	D ₀ (a)	657,50 ± 149,24	756,25 ± 148,74	643,50 ± 114,17
	D ₄₅ (b)	516,63 ± 209,14	664,88 ± 166,74	571,38 ± 140,47
	D ₉₀ (c)	719,25 ± 172,13	720,50 ± 55,75	535,38 ± 153,92
	p	p _{a-b} > 0,05; p _{a-c} > 0,05; p _{b-c} > 0,05		

So sánh giữa các lô trong cùng 1 thời điểm và so sánh trong từng lô giữa các thời điểm, số lượng hồng cầu; hàm lượng huyết sắc tố; nồng độ hematocrit, số lượng bạch cầu và số lượng tiểu cầu trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

4. BÀN LUẬN.

4.1. Về độc tính cấp của bài thuốc “Ninh tâm thống”:

Với liều 300 g/kg thể trọng (gấp 8,93 lần liều tương đương liều điều trị trên người - là liều lớn nhất có thể cho chuột nhắt trắng uống trong 24 giờ), không quan sát thấy con chuột nào có biểu hiện bất thường và không con chuột nào bị chết. Như vậy, chưa tìm được LD₅₀ của bài thuốc “Ninh tâm thống” trên chuột nhắt trắng theo đường uống. Dịch chiết bài thuốc “Ninh tâm thống” trên thực nghiệm có tính an toàn khá cao. Từ đó, cho phép phỏng đoán về khoảng an toàn điều trị của bài thuốc là khá rộng.

4.2. Về ảnh hưởng của bài thuốc “Ninh tâm thống” tới tình trạng chung, thể trọng và một số chỉ số huyết học của chuột thực nghiệm:

Theo dõi trong 90 ngày thực nghiệm, chuột ăn uống và vận động bình thường. Trọng lượng chuột ở 3 lô đều tăng theo thời gian nghiên cứu, khác biệt

giữa các lô không có ý nghĩa thống kê. Như vậy, với các mức liều và thời gian sử dụng, dịch chiết “Ninh tâm thống” trong nghiên cứu không gây ảnh hưởng đến tình trạng chung và trọng lượng chuột.

Tình trạng chung, trọng lượng cơ thể và các chỉ số huyết học là những xét nghiệm rất quan trọng trong đánh giá độc tính của thuốc thử. Nếu một thuốc nào đó có ảnh hưởng đến cơ quan tạo máu thì trước hết, các thành phần của máu sẽ bị thay đổi. Vì vậy, các xét nghiệm về số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu của chuột cống trắng được thực hiện nhằm mục đích xác định các ảnh hưởng của thuốc đối với cơ quan tạo máu. Kết quả cho thấy, các chỉ số trên của chuột thực nghiệm ở cả lô chứng và lô trị uống “Ninh tâm thống” trong cùng 1 thời điểm và trong từng lô giữa các thời điểm khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

5. KẾT LUẬN.

Nghiên cứu độc tính cấp; ảnh hưởng của bài thuốc “Ninh tâm thống” tới thể trạng chung và một số chỉ số huyết học trên 50 con chuột nhắt trắng chủng Swiss và 24 con chuột cống trắng chủng Wistar, trong 90 ngày, chúng tôi rút ra kết luận:

- Chưa tìm thấy LD₅₀ của bài thuốc “Ninh tâm thống” theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Với

mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24 giờ là 300g được liệu/kg thể trọng, không xuất hiện độc tính cấp.

- Chuột nhất trắng sau 45 ngày và 90 ngày uống thuốc “Ninh tâm thống” liên tục với liều 19,6 g/kg/ngày và liều 58,8 g/kg/ngày, không thấy ảnh hưởng tới tình trạng chung, thể trọng và các chỉ tiêu huyết học của chuột thực nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Bộ Y tế (2009), *Dược điển Việt Nam*, tập IV, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.

2. Bộ Y tế (2007), *Quy định thử thuốc trên lâm sàng*, Quyết định số 01/2007/QĐ-BYT.

3. Đỗ Trung Đàm (2014), *Phương pháp Litchfield Wilcoxon, phương pháp xác định độc tính của thuốc*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 101-112.

4. Organization of Economic Co-operation and Development - OECD (1998), “The OECD Guideline for Testing of Chemicals: 408 Subchronic Oral Toxicity - Rodent: 90 Day Study”, OECD, Paris, France.

5. WHO (1993), “Research Guidelines For Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicines”, ROWP, Manila, Philippines.

6. WHO (2000), “General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine”, EDM/TRM, Geneva, Switzerland. □

NHẬN XÉT KẾT QUẢ CHĂM SÓC ĐIỀU DƯỠNG 58 NGƯỜI BỆNH...

(Tiếp theo trang 40)

4.3.3. *Tai biến, biến chứng khi đặt dẫn lưu màng phổi:*

Có 1 ca (1,7%) tuột dẫn lưu màng phổi sau đặt 2 ngày, do cố định chân dẫn lưu không tốt, BN thay đổi tư thế bị tuột, không gây tràn khí màng phổi, không phải đặt lại dẫn lưu. 1 ca (1,7%) nhiễm trùng chân dẫn lưu do có chấn thương bụng kín kết hợp (bảng 13).

4.3.4. *Kết quả chăm sóc điều trị:*

Kết quả tốt 48 ca (82,7%), trong đó 33 ca (56,9%) ổn định ra viện 15 ca (25,9%), ổn định hô hấp tuần hoàn chuyển chuyên khoa khác điều trị chấn thương kết hợp; trung bình 7 ca (12,1%) nhiễm khuẩn chân dẫn lưu, còn tức ngực, khó thở nhẹ, siêu âm màng phổi còn hình ảnh máu đông phải xoay chỉnh, đặt lại dẫn lưu; kém là 3 ca (5,2%), các BN này được chuyển bệnh viện tuyến trên điều trị. Không có trường hợp nào tử vong.

5. KẾT LUẬN.

Nghiên cứu 58 BN CTNK điều trị tại Khoa Phẫu thuật - Gây mê hồi sức, Bệnh viện Quân y 5, từ tháng 3/2016 đến tháng 3/2017, thấy:

- Tỷ lệ BN nam/nữ là 49/9; tuổi trung bình 47,8 ± 15,6, nhiều nhất là lứa tuổi 40-60 tuổi (56,9%). Nguyên nhân chủ yếu do tai nạn giao thông (62,1%).

- Dấu hiệu nổi bật lúc vào là đau ngực (100%), khó thở (82,8%), có sốc (22,4%). CTNK đơn thuần 37,9%, kết hợp với chấn thương khác 42,1%, tràn dịch, tràn khí màng phổi 75,9%.

- Theo dõi chăm sóc: bắt động, truyền dịch 100%, tiêm thuốc giảm đau 79,3%, thở oxy 75,8%, cố định xương gãy 60,3%, băng bó vết thương 32,8%, đặt dẫn lưu màng phổi 34,5%, thời gian điều trị trung bình 9 ngày. Kết quả tốt 82,7%, trung bình 12,1%, kém 5,2%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Đoàn Duy Hùng (2015), *Đánh giá kết quả điều trị phẫu thuật CTNK tại Bệnh viện đa khoa Xanh pôn Hà Nội giai đoạn 2012-2014*, Luận văn bác sĩ chuyên khoa cấp II, Đại học Y Hà nội

2. Đặng Ngọc Hùng và cộng sự (2006), “Một số nhận xét về đặc điểm, triệu chứng, sơ cứu, cấp cứu CTNK qua 139 trường hợp tại Bệnh viện 103”, *Tạp chí ngoại khoa*, 56 (6), trang 2-11.

3. Đoàn Anh Tuấn (2011), *Nhận xét về chấn đoán và xử trí tràn máu, tràn khí màng phổi trong chấn thương ngực tại Bệnh viện Xanh pôn trong 5 năm từ 1995-1999*, Luận văn tốt nghiệp bác sĩ y khoa, Đại học Y Hà nội.

4. Nguyễn Hữu Ước và cộng sự (2007), “Đánh giá tình hình cấp cứu chấn thương tại Bệnh viện Việt Đức từ 2004-2006”, *Tạp chí Y học Việt Nam*, 328, trang 402-413.

5. Trịnh Văn Minh, *Giải phẫu người*, tập 2, Nhà xuất bản Giáo dục, Hà Nội, trang 13-210.

6. Nguyễn Công Minh (2005), *Chấn thương ngực*, Nhà xuất bản Y học; (2007), *Sinh lý học*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.

7. Âu Văn Thảo, Lô Quang Nhật (2015), “Đánh giá kết quả dẫn lưu tràn máu, tràn khí khoang màng phổi trong bệnh cảnh đa chấn thương tại Bệnh viện đa khoa trung ương Thái Nguyên giai đoạn 2010-2014”, *Tạp chí Nghiên cứu y học*, 93 (1), trang 87-92.

8. Bộ Y tế, *Quy trình điều dưỡng, nhu cầu cơ bản của con người*.

9. Nguyễn Trọng Nghĩa (2004), *Đánh giá hiệu quả lâm sàng của lý liệu pháp hô hấp trong săn sóc bệnh nhân sau mổ chấn thương lồng ngực*, Khóa luận tốt nghiệp cử nhân điều dưỡng, Đại học Y Hà Nội. □