

ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA BÀI THUỐC “AN THẦN ĐỊNH TRÍ QY” LÊN CÁC CHỈ SỐ SINH HÓA VÀ MÔ BỆNH HỌC ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Hoàng Thị Thủy¹, Trịnh Thị Hạnh²
Phạm Thị Thùy Minh², Nguyễn Thanh Hà Tuấn^{1*}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá ảnh hưởng của bài thuốc “An thần định trí QY” lên các chỉ số sinh hóa và mô bệnh học trên chuột cống trắng chủng Wistar.

Đối tượng và phương pháp: Nghiên cứu thực nghiệm mô tả ảnh hưởng của bài thuốc “An thần định trí QY” lên các chỉ số sinh hóa và mô bệnh học trên chuột cống trắng. Chuột được cho uống thuốc liên tục 28 ngày, với liều 21 g/kg/ngày và 63 g/kg/ngày (tính theo dược liệu khô).

Kết quả: Các chỉ số sinh hóa máu gồm AST, ALT, cholesterol, albumin, creatinin và mô bệnh học gan, lách, thận của chuột ở các lô chuột uống “An thần định trí QY” không có sự khác biệt so với lô chứng (uống nước cất) cũng như so với trước uống thuốc ($p > 0,05$).

Kết luận: Bài thuốc “An thần định trí QY” không ảnh hưởng đến các chỉ số sinh hóa và mô bệnh học trên chuột cống trắng khi cho uống liên tục trong 28 ngày ở các mức liều 21 g/kg/ngày và 63 g/kg/ngày.

Từ khóa: An thần định trí QY, sinh hoá máu, hình ảnh mô bệnh học.

ABSTRACT

Objectives: To evaluate the effects of the “An than dinh tri QY” remedy on the blood biochemistry, histopathological image on Wistar rats.

Subjects and methods: Experimental study describing the effects of the drug “An than dinh tri QY” on blood biochemistry, histopathological image in Wistar rats. Rats were given “An than dinh tri QY” continuously for 28 days, at a dose of 21 g/kg/day and 63 g/kg/day (dosage in grams of dry herbs).

Results: Blood biochemical indices including AST, ALT, cholesterol, albumin, creatinine and histopathology of liver, spleen, and kidney of rats in groups of which were given “An than dinh tri QY” did not have statistically significant changes compared to those of rats in the control group (given distilled water) as well as before remedy given ($p > 0.05$).

Conclusions: The “An than dinh tri QY” remedy did not affect the blood biochemistry and histopathological image when administered continuously for 28 days at doses of 21 g/kg/day and 63 g/kg/day.

Keywords: An than dinh tri QY, blood biochemistry, histopathological image.

Chịu trách nhiệm nội dung: Nguyễn Thanh Hà Tuấn, Email: nguyentuan000010@gmail.com

Ngày nhận bài: 24/7/2023; mời phản biên khoa học: 7/2023; chấp nhận đăng: 12/11/2023.

¹Học viện Quân y

²Viện Y học cổ truyền Quân đội

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Giấc ngủ là nhu cầu sinh lí bình thường của con người, tác động tới sự phục hồi các quá trình sinh lí và tâm thần. Tình trạng mất ngủ đang có xu hướng tăng lên do những căng thẳng trong cuộc sống sinh hoạt hoặc áp lực công việc. Tỷ lệ này tại các nước đang phát triển gia tăng nhanh chóng, gần đạt mức như ở các nước phát triển do sự gia tăng về tỉ lệ mắc các vấn đề trầm cảm và lo âu [5]. Mất ngủ kéo dài và không được điều trị là nhân tố làm khởi phát rối loạn lo âu, trầm cảm, bệnh tật khác, thậm chí

có nguy cơ dẫn tới tử vong do nhiều nguyên nhân khác nhau [5].

Y học cổ truyền có nhiều bài thuốc hiệu quả và an toàn trong điều trị mất ngủ, giúp người bệnh đi vào giấc ngủ tự nhiên, nhưng ít gây mệt mỏi và người bệnh ít bị phụ thuộc thuốc [2]. Bài thuốc “An thần định trí QY” (ATĐTQY) là bài thuốc kinh nghiệm, gồm các vị có tác dụng dưỡng tâm an thần, kết hợp với các vị thuốc dưỡng âm thanh nhiệt, sơ can giải uất để điều trị vào cơ chế bệnh sinh của mất ngủ [2].

Để kiểm chứng tính an toàn của bài thuốc, chúng tôi triển khai nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của bài thuốc ATĐTQY lên các chỉ số sinh hóa và mô bệnh học trên động vật thực nghiệm.

2. ĐỐI TƯỢNG, THIẾT BỊ VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu:

- Bài thuốc ATĐTQY được chiết xuất với dung môi là nước, thành cao lỏng ATĐTQY, đạt tiêu chuẩn cơ sở. Dược phẩm do Công ty cổ phần dược phẩm Phú Tín cung cấp, đạt yêu cầu theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V [3].

- Chuột cống trắng chủng Wistar trưởng thành, khỏe mạnh, cân nặng từ 180-200g/con. Động vật do Ban động vật, Học viện Quân y cấp, nuôi dưỡng theo tiêu chuẩn động vật nghiên cứu.

- Thiết bị nghiên cứu: máy xét nghiệm sinh hoá Biochemical Systems International Srl, Italia, model 3000 Evolution, hóa chất của hãng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thiết kế nghiên cứu: mô tả thực nghiệm.

- Bài thuốc ATĐTQY gồm các vị: Sinh địa 10g, Đảng sâm 15g, Đan sâm 10g, Mộc hương 8g, Viễn chí 10g, Bạch linh 12g, Cam thảo 05g, Sài hồ 08g, Bá tử nhân 10g, Lạc tiên 15g, Mạch môn 12g, Đương quy 10g, Táo nhân 10g, Mẫu lệ 15g. Tổng bài thuốc 150g dược liệu khô. Liều dùng/ngày của bài thuốc tính theo gram dược liệu khô (ở người là 3g dược liệu khô/kg thể trọng/ngày, tương đương 150g dược liệu/ngày với người có thể trọng 50 kg); quy đổi (theo hệ số 7) ra liều trên chuột cống trắng là 21g dược liệu/kg thể trọng/ngày.

- Phương pháp tiến hành nghiên cứu: chuột cống trắng được chia làm 3 lô, mỗi lô 10 con:

+ Lô chứng: uống nước cất.

+ Lô trị 1: uống ATĐTQY liều 21 g/kg/ngày.

+ Lô trị 2: uống ATĐTQY liều 63 g/kg/ngày (liều gấp 3 lần so với lô trị 1).

Chuột được cho uống cưỡng bức cao lỏng ATĐTQY hoặc nước cất (theo phân lô) bằng kim đầu tù chuyên dụng một lần vào 8 giờ sáng hằng ngày, liên tục trong 28 ngày. Đánh giá các chỉ số sinh hóa máu (cholesterol toàn phần, albumin huyết tương), chức năng gan (AST, ALT), chức năng thận (Creatinin) và ảnh hưởng tới chuyển hóa tại các thời điểm: N0 (trước khi bắt đầu cho chuột uống thuốc), N14 (ngày 14 của quá trình uống thuốc) và N28 (sau 28 ngày uống thuốc) [4].

- Đánh giá kết quả mô bệnh học chuột sau uống thuốc 28 ngày: chọn ngẫu nhiên ở mỗi lô 30% số chuột, tiến hành mổ và quan sát đại thể gan, lách, thận; làm tiêu bản mô bệnh học (nhuộm HE) đánh giá cấu trúc vi thể gan, lách, thận. Xét nghiệm vi thể tiêu bản được thực hiện tại Bộ môn Khoa Giải phẫu bệnh - Pháp y, Bệnh viện Quân y 103.

- Xử lí số liệu: bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và SPSS 22.2. Sử dụng thuật toán t-test student và one - way anova để so sánh giá trị trung bình. Số liệu trình bày dưới dạng MEAN ± SD. Khác biệt có ý nghĩa thống kê khi p < 0,05.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đánh giá ảnh hưởng của bài thuốc ATĐTQY lên các chỉ số sinh hóa

Kết quả bảng 1 cho thấy sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi so sánh các chỉ số xét nghiệm (AST, ALT, creatinin, Albumin huyết tương, Cholesterol toàn phần) giữa các lô chuột trong cùng một thời điểm đánh giá, cũng như so sánh trong cùng một lô chuột giữa các thời điểm đánh giá (với p > 0,05).

Bảng 1. Ảnh hưởng của ATĐTQY đối với hoạt độ AST và ALT

Chỉ số xét nghiệm	Thời điểm	Lô chứng ⁽¹⁾	Lô trị 1 ⁽²⁾	Lô trị 2 ⁽³⁾	P _{giữa các lô}
Hoạt độ AST (UI/l)	N0 ^(a)	144,90 ± 13,32	159,40 ± 35,12	154,10 ± 26,88	p ₂₋₁ > 0,05; p ₃₋₁ > 0,05; p ₃₋₂ > 0,05;
	N14 ^(b)	144,30 ± 22,33	157,30 ± 25,39	152,40 ± 20,38	
	N28 ^(c)	140,50 ± 15,48	149,00 ± 25,27	146,20 ± 20,61	
	p _{trong cùng lô}	p _{b-a} > 0,05; p _{c-a} > 0,05; p _{c-b} > 0,05;			-
Hoạt độ ALT (UI/l)	N0 ^(a)	113,70 ± 13,32	116,80 ± 36,53	113,90 ± 45,05	p ₂₋₁ > 0,05; p ₃₋₁ > 0,05; p ₃₋₂ > 0,05;
	N14 ^(b)	115,00 ± 20,68	103,90 ± 23,56	106,20 ± 17,74	
	N28 ^(c)	119,80 ± 33,71	115,10 ± 23,56	111,40 ± 31,96	
	p _{trong cùng lô}	p _{b-a} > 0,05; p _{c-a} > 0,05; p _{c-b} > 0,05;			-

Chỉ số xét nghiệm	Thời điểm	Lô chứng ⁽¹⁾	Lô trị 1 ⁽²⁾	Lô trị 2 ⁽³⁾	P _{giữa các lô}
Creatinin (μmol/l)	NO ^(a)	87,40 ± 10,77	89,60 ± 17,49	88,10 ± 14,98	p ₂₋₁ > 0,05; p ₃₋₁ > 0,05; p ₃₋₂ > 0,05;
	N14 ^(b)	85,40 ± 11,70	80,50 ± 6,06	86,90 ± 10,81	
	N28 ^(c)	82,40 ± 8,07	78,40 ± 10,17	79,60 ± 10,07	
	P _{trong cùng lô}	p _{b-a} > 0,05; p _{c-a} > 0,05; p _{c-b} > 0,05;			-
Albumin huyết tương (g/l)	NO ^(a)	33,90 ± 2,56	35,50 ± 1,96	35,40 ± 1,78	p ₂₋₁ > 0,05; p ₃₋₁ > 0,05; p ₃₋₂ > 0,05;
	N14 ^(b)	33,40 ± 3,41	34,70 ± 2,16	34,60 ± 1,84	
	N28 ^(c)	35,10 ± 1,66	34,80 ± 1,81	34,90 ± 1,20	
	P _{trong cùng lô}	p _{b-a} > 0,05; p _{c-a} > 0,05; p _{c-b} > 0,05;			-
Cholesterol toàn phần (mmol/l)	NO ^(a)	1,64 ± 0,24	1,65 ± 0,24	1,63 ± 0,32	p ₂₋₁ > 0,05; p ₃₋₁ > 0,05; p ₃₋₂ > 0,05;
	N14 ^(b)	1,63 ± 0,21	1,56 ± 0,15	1,65 ± 0,30	
	N28 ^(c)	1,57 ± 0,23	1,66 ± 0,16	1,67 ± 0,42	
	P _{trong cùng lô}	p _{b-a} > 0,05; p _{c-a} > 0,05; p _{c-b} > 0,05;			-

3.2. Đánh giá kết quả đại thể, vi thể gan, lách, thận chuột thí nghiệm

- Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột:

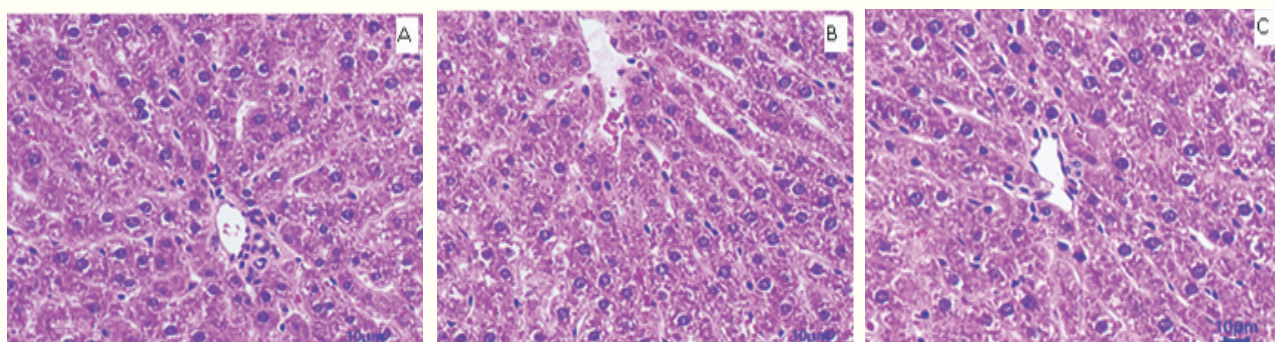


Hình 1. Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột đại diện ở các lô nghiên cứu.

A: Lô chứng (chuột 6); B: Lô trị 1 (chuột 15); C: Lô trị 2 (chuột 28).

Quan sát đại thể gan, lách, thận chuột bằng mắt thường và dưới kính lúp độ phóng đại 25 lần, chúng tôi thấy màu sắc, hình thái của gan, lách và thận chuột ở hai lô dùng ATĐTQY không có sự khác biệt so với lô chứng (hình 1). Cụ thể: hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột ở hai lô uống ATĐTQY (hình 1B, 1C), có màu nâu đỏ thẫm đồng đều, bề mặt nhẵn, không có u cục hoặc xuất huyết, có đàn hồi khi ấn xuống. Những biểu hiện này xuất hiện tương tự ở hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột lô chứng (hình 1A).

- Hình ảnh vi thể gan chuột:

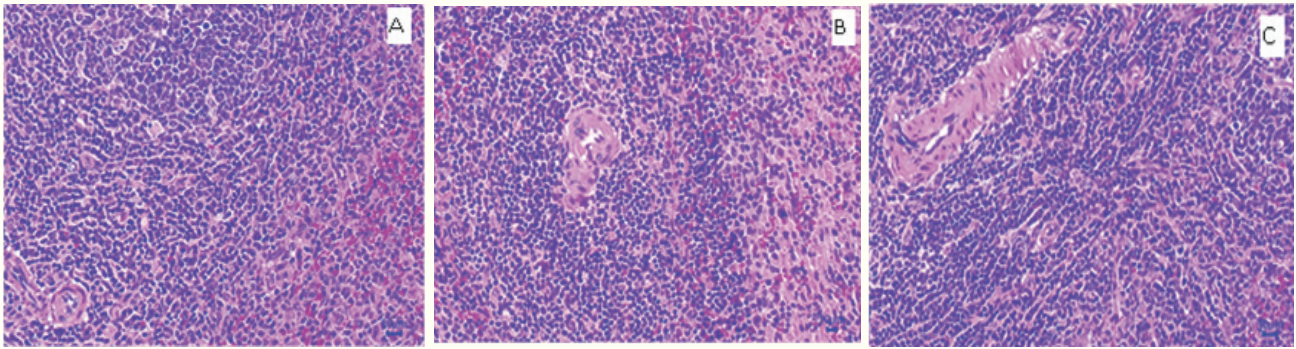


Hình 2. Hình ảnh vi thể gan chuột đại diện ở các lô nghiên cứu.

A: Lô chứng (chuột 6); B: Lô trị 1 (chuột 15); C: Lô trị 2 (chuột 24).

Dưới kính hiển vi độ phóng đại 400 lần, chúng tôi thấy hình ảnh vi thể gan chuột ở hai lô uống ATĐTQY (hình 2B, 2C) không khác biệt so với ở lô chứng (hình 2A). Trên các hình 2A, 2B và 2C, tế bào gan sắp xếp thành dải, thành bè, giữa chúng có xoang mạch; hình ảnh nhu mô gan bình thường, các tế bào gan không bị thoái hóa, không có xuất huyết, hoại tử.

- Hình ảnh vi thể lách chuột:

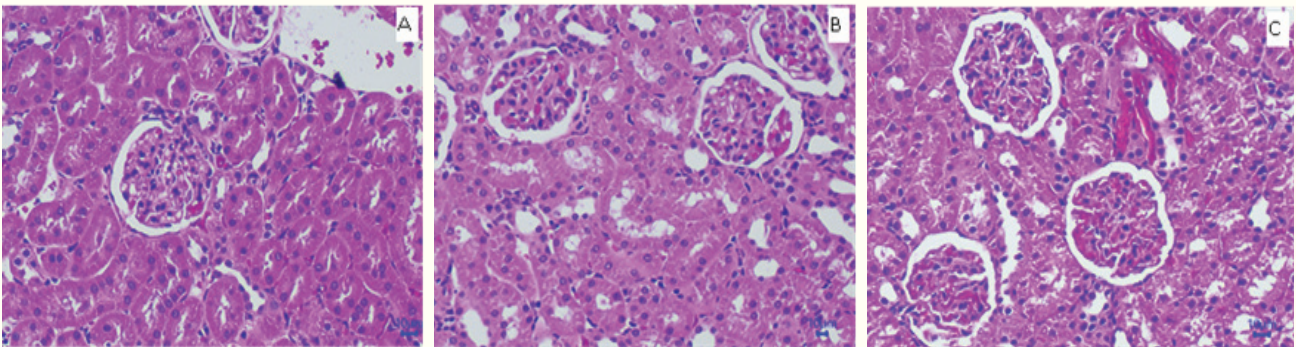


Hình 3. Ảnh vi thể lách chuột đại diện ở các lô nghiên cứu.

A: Lô chứng (chuột 2); B: Lô trị 1 (chuột 18); C: Lô trị 2 (chuột 27).

Dưới kính hiển vi độ khuếch đại 400 lần, hình ảnh vi thể lách chuột ở hai lô uống ATĐTQY (hình 3B, 3C), không khác biệt so với ở lô chứng (hình 3A). Trên các hình 3A, 3B và 3C thấy vùng tủy trắng bất màu xanh thẫm, có các nang lympho với động mạch bút lông ở trung tâm; vùng tủy đỏ có màu xanh đỏ, với các xoang nang chứa hồng cầu và một số đại thực bào; không thấy ổ xuất huyết hoặc hoại tử.

- Hình ảnh vi thể thận chuột:



Hình 4. Ảnh vi thể thận chuột đại diện ở các lô nghiên cứu.

A: Lô chứng (chuột 8); B: Lô trị 1 (chuột 16); C: Lô trị 2 (chuột 25).

Dưới kính hiển vi độ khuếch đại 400 lần, hình ảnh vi thể thận chuột ở hai lô uống ATĐTQY (hình 4B, 4C) không khác biệt so với ở lô chứng (hình 4A). Nhu mô thận bình thường, vỏ thận có các cầu thận, các ống thận và các mạch máu giữa các ống thận, các tế bào biểu mô ống thận không bị thoái hóa.

4. BÀN LUẬN

Gan và thận là hai cơ quan chính của cơ thể, thực hiện các chức năng chuyển hóa và thải trừ thuốc, do đó, hai cơ quan này dễ bị tổn thương nếu thuốc có độc tính. Đánh giá ảnh hưởng của thuốc nghiên cứu tới gan và thận được xác định là bắt buộc trong đánh giá độc tính của thuốc [4]. Các ảnh hưởng lên cấu trúc và chức năng gan, thận được đánh giá thông qua các chỉ số sinh hóa máu và mô bệnh học gan, thận. Bên cạnh đó, lách là một cơ quan quan trọng; những dấu hiệu nhiễm độc của cơ thể với các chất nghiên cứu (nếu có) cũng sẽ dễ được nhận biết khi đánh giá đại thể và vi thể lách [4].

ALT là enzym có nhiều nhất ở gan, khu trú trong bào tương của tế bào nhu mô gan. Khi tế bào gan bị tổn thương hủy hoại, thậm chí chỉ cần màng tế bào gan thay đổi tính thấm, hoạt độ ALT trong máu đã tăng cao. Khác với ALT, có 2/3 lượng AST khu trú trong ty thể (mitochondria) và chỉ ít hơn 1/3 lượng AST khu trú ở bào tương của tế bào. Khi tế bào gan tổn thương mức độ dưới tế bào, AST trong ty thể được giải phóng ra. Do đó, khi tổn thương gan, AST và ALT đều tăng rất cao so với bình thường, nhưng mức độ tăng của ALT cao hơn so với AST, tăng sớm trước khi có vàng da (ở tuần đầu vàng da) [1]. Trong nghiên cứu này, hoạt độ ALT và AST trong máu chuột ở 2 lô uống ATĐTQY khác biệt không có ý nghĩa so với lô chứng và khi so sánh giữa thời điểm trước - sau thời điểm uống thuốc 14 và 28 ngày. Điều này chứng tỏ, cả 2 liều ATĐTQY đã dùng đều không gây tổn thương hủy hoại tế bào gan.

Xét nghiệm cholesterol và albumin máu cho phép đánh giá thêm về chức năng gan. Kết quả

bình thường của các xét nghiệm này góp phần khẳng định thuốc nghiên cứu không gây ảnh hưởng lên chức năng gan. Kết quả mô bệnh học cũng phù hợp với kết quả xét nghiệm hóa sinh máu. Hình ảnh đại thể và vi thể gan chuột ở cả 2 lô uống ATĐTQY đều cho thấy cấu trúc tế bào gan bình thường, khoảng cửa và mạch máu bình thường giống như lô chứng, không thấy hình ảnh tổn thương.

Creatinin là chỉ số thường được dùng để đánh giá và theo dõi chức năng thận [1]. Do creatinin là thành phần đạm trong máu ổn định nhất, gần như không phụ thuộc vào chế độ ăn hoặc những thay đổi sinh lí mà chỉ phụ thuộc vào khả năng đào thải của thận. Khi cầu thận bị tổn thương, nồng độ creatinin máu tăng sớm và tin cậy. Trong nghiên cứu này, kết quả định lượng creatinin trong máu chuột ở cả 2 lô uống ATĐTQY đều không có sự khác biệt so với lô chứng, cũng như so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc nghiên cứu. Kết quả định lượng creatinin cũng hoàn toàn phù hợp với kết quả về mô bệnh học thận. Quan sát đại thể thận của tất cả các chuột nghiên cứu và cấu trúc vi thể thận của 30% số chuột thực nghiệm ở mỗi lô cho thấy: ở hai lô uống ATĐTQY, hình ảnh cấu trúc vi thể các vùng chức năng của thận bình thường như ở chuột lô chứng.

Các kết quả trên cho thấy, bài thuốc nghiên cứu không gây độc tính khi cho chuột thực nghiệm uống liều lặp lại liên tục trong 28 ngày. Các dược liệu thành phần của bài thuốc đều là những dược liệu đã được sử dụng từ lâu trong y học cổ truyền với rất ít độc tính. Dịch chiết Cam thảo cho chuột cống trắng uống liều 5.000 mg/kg/ngày lặp lại trong 4 tuần không thấy có độc tính trên gan và thận [6]. Sài hồ khi dùng liều cao trên người (18 g/ngày), dùng kéo dài làm tăng men gan khi cho chuột uống ở liều cao, tuy nhiên hồi phục lại hoàn toàn sau khi dừng thuốc [7]. Liều khuyến cáo của Sài hồ trong Dược điển Trung Quốc là 3-10 g/ngày không gây ra độc tính. Liều dùng của Sài hồ trong bài thuốc nghiên cứu của chúng tôi là 8g, nằm trong khoảng khuyến cáo theo Dược điển Trung Quốc. Đánh giá trên chuột cống khi cho chuột uống Đan sâm liều 2,5 g/kg liên tục trong 90 ngày không thấy có độc tính [8]. Các dược liệu khác như Sinh địa, Đẳng sâm, Viễn chí, Bạch linh, Bá tử nhân, Lạc tiên, Mạch môn, Đương quy, Táo nhân, Mẫu lệ hầu như không tìm thấy tài liệu công bố về độc tính của chúng. Các vị thuốc trong bài thuốc ATĐTQY rất ít độc tính và được phối kết hợp với nhau theo nguyên lí của y học cổ truyền

[3]. Vì vậy, kết quả nghiên cứu thực nghiệm về tính an toàn của bài thuốc là hoàn toàn phù hợp với thành phần và cấu tạo của bài thuốc.

5. KẾT LUẬN:

Bài thuốc “An thần định trí QY” ở các mức liều dùng 21 g/kg/ngày và 63 g/kg/ngày (tính theo gram dược liệu khô) cho chuột cống trắng uống liên tục trong 28 ngày không có độc tính.

Cụ thể, thuốc nghiên cứu không làm thay đổi các chỉ tiêu sinh hóa máu (men gan AST, ALT, Creatinin, cholesterol toàn phần, albumin huyết tương) và không gây tổn thương trên mô bệnh học gan, lách, thận chuột thực nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đại học Y Hà Nội (2013), *Hóa sinh lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
2. Trần Quốc Bảo, Trần Quốc Bình (2011), *Thuốc Y học cổ truyền và ứng dụng lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
3. Bộ Y tế (2018), *Dược điển Việt Nam V*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 223-789.
4. Bộ Y tế (2015), *Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu*, Ban hành kèm theo Thông tư số 141/QĐ-K2ĐT ngày 27/10/2015.
5. Stickley A, Leinsalu M, DeVlyder J.E, Inoue Y, Koyanagi A (2019), “Sleep problems and depression among 237 023 community-dwelling adults in 46 low - and middle-income countries”, *Scientific reports*, 9 (1), 1201.
6. Kim D.G, Lee J, Kim W, An H.J, Lee J.H, Chang J, Kang S.H, Song Y.J, Jeon Y.D, Jin J.S (2021), “Assessment of General Toxicity of the Glycyrrhiza New Variety Extract in Rats”, *Plants (Basel, Switzerland)*, 10 (6), 1126.
7. Yang F, Dong X, Yin X, Wang W, You L, Ni J (2017), “Radix Bupleuri: A Review of Traditional Uses, Botany, Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology”, *BioMed research international*, 2017, 7597596.
8. European Medicines Agency (2021), “Assessment report on *Salvia miltiorrhiza* Bunge”, *radix et rhizoma*, EMA/HMPC/509932/2019. □