

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA VIÊN NANG MỀM TECAN LÊN CHỨC NĂNG GAN, THẬN CHUỘT CÔNG THỰC NGHIỆM

Vũ Việt Hằng[✉], Phạm Thị Vân Anh

Trường Đại học Y Hà Nội

Đánh giá ảnh hưởng của viên nang mềm Tecan theo đường uống lên chức năng gan, thận chuột cống chủng Wistar thực nghiệm. Chuột cống trắng được uống liên tục viên nang mềm Tecan với mức liều 93,6 mg/kg/ngày và 280,8 mg/kg/ngày trong vòng 4 tuần. Trước lúc uống thuốc, sau 2 tuần và 4 tuần uống thuốc, chuột được đánh giá chức năng gan và chức năng thận. Giải phẫu bệnh gan, thận được đánh giá khi kết thúc nghiên cứu ở tuần thứ 4. Kết quả nghiên cứu cho thấy viên nang Tecan liều 93,6 mg/kg/ngày và 280,8 mg/kg/ngày dùng đường uống liên tục trong 4 tuần không ảnh hưởng đến hoạt độ AST, hoạt độ ALT, nồng độ bilirubin toàn phần, cholesterol toàn phần, albumin, creatinin trong máu và hình ảnh mô bệnh học thận trên chuột cống trắng ở cả 2 mức liều. Hình ảnh mô bệnh học gan ở các lô uống Tecan có sự tăng thoái hóa so với lô chứng sinh học. Tuy nhiên, các chỉ số sinh hóa đánh giá chức năng gan của các lô đều trong giới hạn bình thường. Viên nang mềm Tecan liều 93,6 mg/kg/ngày và 280,8 mg/kg/ngày uống liên tục trong 4 tuần không làm ảnh hưởng đến chức năng gan, thận của chuột cống trắng.

Từ khóa: Viên nang mềm Tecan, chức năng gan, chức năng thận, chuột cống chủng Wistar.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay, việc nghiên cứu các thuốc có nguồn gốc tự nhiên đã và đang ngày càng phát triển mạnh mẽ.¹ Xạ can là một vị dược liệu đã được sử dụng từ lâu đời cho thấy hiệu quả chống viêm, giảm đau, giảm ho, long đờm... trên lâm sàng cũng như trong các nghiên cứu *in vivo* và *in vitro*.² Tuy nhiên, trên thế giới cũng như ở Việt Nam cho đến nay chưa có công trình nghiên cứu về tính an toàn của Xạ can trên thực nghiệm. Vì vậy, để đánh giá tính an toàn của viên nang mềm Tecan với thành phần chính là Xạ can, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài với hai mục tiêu:

(1) Đánh giá ảnh hưởng của viên nang mềm Tecan lên chức năng gan chuột cống thực nghiệm.

(2) Đánh giá ảnh hưởng của viên nang mềm Tecan lên chức năng thận chuột cống thực nghiệm.

Tác giả liên hệ: Vũ Việt Hằng

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: vhangyhct@gmail.com

Ngày nhận: 25/07/2022

Ngày được chấp nhận: 25/08/2022

II. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Chất liệu nghiên cứu

- Viên nang mềm Tecan, đạt tiêu chuẩn cơ sở.
- Thành phần: Cao khô xạ can 130 mg chứa 60 mg Tectoridin và 5mg Tectorigenin được chiết xuất từ thân rễ sấy khô của cây xạ can (*Rhizoma Belamcandae*) có tên khoa học: *Belamcanda chinensis* (L.) DC. Iridaceae.

- Nơi sản xuất: Công ty cổ phần thương mại Dược Vật tư y tế Khải Hà.

- Dạng bào chế: Viên nang mềm.

- Liều dùng trên người: uống 6 viên/ngày chia 3 lần.

Đối tượng nghiên cứu

Chuột cống trắng chủng *Wistar*, cân nặng 180 ± 20 g do Trung tâm cung cấp động vật thí nghiệm Đan Phượng - Hà Nội cung cấp. Động vật thí nghiệm được nuôi trong điều kiện đầy đủ thức ăn và nước uống tại phòng thí nghiệm Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội từ

7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu.

Máy móc, hóa chất phục vụ nghiên cứu

Kit định lượng các enzym và chất chuyển hoá trong máu: ALT (alanin aminotransferase), AST (aspartat aminotransferase), bilirubin toàn phần, albumin, cholesterol toàn phần, creatinin của hãng Hospitex Diagnostics (Italy) và hãng DIALAB GmbH (Áo), định lượng trên máy Screen master của hãng Hospitex Diagnostics (Italy). Các hoá chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học.

2. Phương pháp

Theo hướng dẫn của WHO.³

Chuột cống trắng, cả 2 giống, được chia làm 3 lô, mỗi lô 10 con.

+ Lô chứng: uống nước cất 1 mL/100 g/ngày.

+ Lô trị 1: Uống viên nang mềm Tecan liều 93,6 mg/kg/ngày (liều tương đương liều điều trị dự kiến trên lâm sàng), uống 1 mL/100 g/ngày.

+ Lô trị 2: Uống viên nang mềm Tecan liều 280,8 mg/kg/ngày (gấp 3 lần liều tương đương liều điều trị dự kiến trên lâm sàng), uống 1 mL/100 g/ngày.

III. KẾT QUẢ

1. Đánh giá chức năng gan

Bảng 1. Ảnh hưởng của viên nang mềm Tecan đến nồng độ bilirubin toàn phần

Thời gian	Bilirubin toàn phần (mmol/L)			p (so với chứng)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	13,41 ± 0,45	13,48 ± 0,45	13,45 ± 0,51	> 0,05
Sau uống thuốc 2 tuần	13,38 ± 0,59	13,48 ± 0,39	13,40 ± 0,48	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống thuốc 4 tuần	13,53 ± 0,42	13,72 ± 0,43	13,25 ± 0,73	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Chuột được uống nước và thuốc thử liên tục trong 4 tuần, mỗi ngày một lần vào buổi sáng.

Các chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình nghiên cứu

- Đánh giá chức năng gan thông qua định lượng một số chất chuyển hoá trong máu: bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol toàn phần.

- Đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan thông qua định lượng hoạt độ enzym trong máu: AST, ALT.

- Đánh giá chức năng thận thông qua định lượng nồng độ creatinin huyết thanh: Các thông số theo dõi được kiểm tra vào trước lúc uống thuốc, sau 2 tuần và 4 tuần uống thuốc.

Mô bệnh học: Sau 4 tuần uống thuốc, chuột được mổ để quan sát đại thể toàn bộ các cơ quan. Kiểm tra ngẫu nhiên cấu trúc vi thể gan, thận của 30% số chuột ở mỗi lô.

3. Xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được xử lý bằng phương pháp thống kê y sinh học theo T test-Student và test trước-sau (Avant-après).

Kết quả được trình bày dưới dạng $X \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

Kết quả ở bảng 1 cho thấy: sau 2 tuần và 4 tuần uống Tecan, nồng độ bilirubin toàn phần trong máu chuột ở cả lô trị 1 (uống Tecan liều 93,6 mg/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Tecan liều

280,8 mg/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Bảng 2. Ảnh hưởng của viên nang mềm Tecan đến nồng độ albumin

Thời gian	Nồng độ albumin (g/dL)			p (so với chứng)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	3,20 ± 0,22	3,32 ± 0,37	3,14 ± 0,37	> 0,05
Sau uống thuốc 2 tuần	3,29 ± 0,22	3,09 ± 0,53	3,18 ± 0,24	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống thuốc 4 tuần	3,32 ± 0,27	3,11 ± 0,28	3,08 ± 0,39	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở bảng 2 cho thấy: sau 2 tuần và 4 tuần uống viên nang mềm Tecan, nồng độ albumin trong máu chuột ở cả lô trị 1 (uống Tecan liều 93,6 mg/kg/ngày) và lô trị 2 (uống

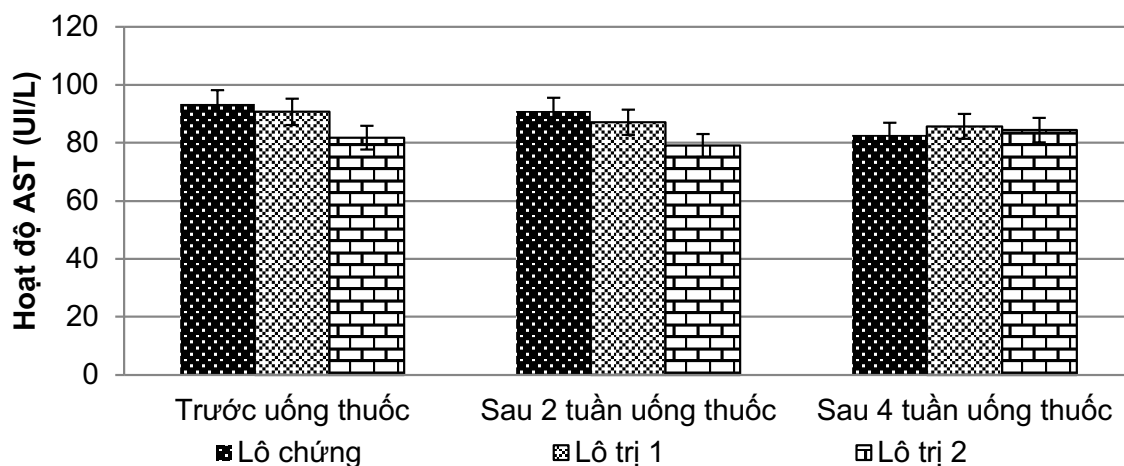
Tecan liều 280,8 mg/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Bảng 3. Ảnh hưởng của viên nang mềm Tecan đến nồng độ cholesterol toàn phần

Thời gian	Cholesterol (mmol/L)			p (so với chứng)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	1,50 ± 0,33	1,65 ± 0,30	1,54 ± 0,35	> 0,05
Sau uống thuốc 2 tuần	1,52 ± 0,21	1,43 ± 0,30	1,45 ± 0,27	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống thuốc 4 tuần	1,58 ± 0,27	1,51 ± 0,32	1,44 ± 0,23	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở bảng 3 cho thấy: sau 2 tuần và 4 tuần uống viên nang mềm Tecan, nồng độ cholesterol toàn phần trong máu chuột ở cả lô trị 1 (uống Tecan liều 93,6 mg/kg/ngày) và

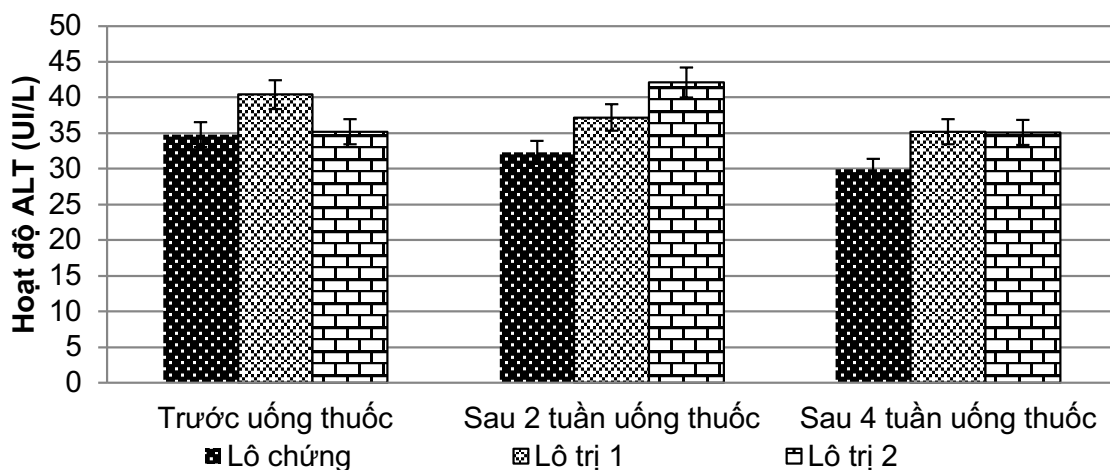
lô trị 2 (uống viên nang mềm Tecan liều 280,8 mg/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).



Biểu đồ 1. Ảnh hưởng của viên nang mềm Tecan đến hoạt độ AST

Kết quả ở biểu đồ 1 cho thấy: sau 2 tuần và 4 tuần uống Tecan, hoạt độ AST trong máu chuột ở cả lô trị 1 (uống viên nang mềm Tecan liều 93,6 mg/kg/ngày) và lô trị 2 (uống viên nang

mềm Tecan liều 280,8 mg/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).



Biểu đồ 2. Ảnh hưởng của viên nang mềm Tecan đến hoạt độ ALT

Kết quả ở biểu đồ 2 cho thấy: sau 2 tuần và 4 tuần uống Tecan, hoạt độ ALT trong máu chuột ở cả lô trị 1 (uống Tecan liều 93,6 mg/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Tecan liều 280,8 mg/kg/

ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

2. Đánh giá chức năng thận

Bảng 4. Ảnh hưởng của viên nang mềm Tecan đến nồng độ creatinin

Thời gian	Creatinin (mg/dL)			p (so với chứng)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	0,81 ± 0,17	0,79 ± 0,17	0,78 ± 0,17	> 0,05
Sau uống thuốc 2 tuần	0,85 ± 0,16	0,80 ± 0,17	0,83 ± 0,15	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống thuốc 4 tuần	0,83 ± 0,19	0,82 ± 0,10	0,75 ± 0,16	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

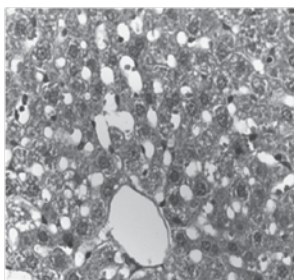
Kết quả ở bảng 4 cho thấy: sau 2 tuần và 4 tuần uống Tecan, ở cả lô trị 1 (uống Tecan liều 93,6 mg/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Tecan liều 280,8 mg/kg/ngày), nồng độ creatinin trong máu chuột không có sự thay đổi khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

3. Ảnh hưởng của viên nang mềm Tecan đến hình thái và cấu trúc vi thể gan, thận của chuột

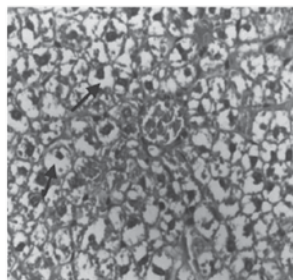
Sau 4 tuần uống thuốc:

Hình thái đại thể của gan và thận: Trên tất cả các chuột thực nghiệm (cả lô chứng và 2 lô trị), không quan sát thấy có thay đổi bệnh lý nào về mặt đại thể của gan và thận.

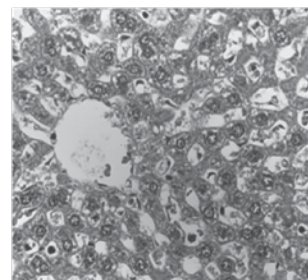
Hình thái vi thể của gan và thận: Sau 4 tuần uống thuốc thử, viên nang Tecan ở cả 2 mức liều làm tăng mức độ thoái hóa trên cấu trúc vi thể gan so với lô chứng sinh học (Hình 1). Trên hình thái vi thể thận, không có sự khác biệt khi so sánh giữa các lô dùng viên nang Tecan và lô chứng sinh học (Hình 2).



Lô chứng

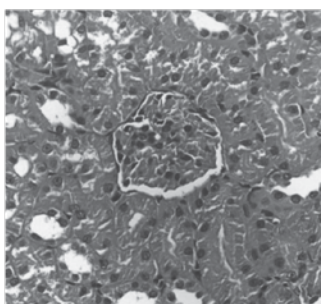


Lô trị 1

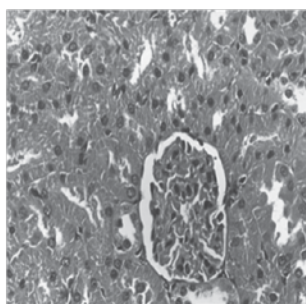


Lô trị 2

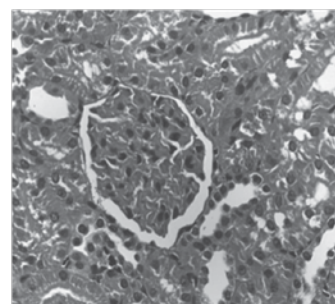
Hình 1. Hình ảnh vi thể gan (HE × 400)



Lô chứng



Lô trị 1



Lô trị 2

Hình 2. Hình ảnh vi thể thận (HE × 400)

IV. BÀN LUẬN

Ảnh hưởng của viên nang mềm Tecan lên chức năng gan chuột cống thực nghiệm

Trong cơ thể, gan có nhiều chức năng quan trọng. Việc đưa thuốc vào cơ thể có thể gây độc với gan, làm ảnh hưởng đến chức năng của cơ quan này. Vì vậy, khi đánh giá độc tính của thuốc thì nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc đối với chức năng gan là rất cần thiết. Để đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan, nồng độ các enzym có nguồn gốc tại gan (AST, ALT) trong huyết thanh thường được định lượng. Ngoài ra, người ta còn đánh giá chức năng gan qua các chỉ số nồng độ bilirubin toàn phần, cholesterol toàn phần và albumin trong máu.⁴ Kết quả cho thấy sau 2 tuần và 4 tuần uống viên nang Tecan, các chỉ số hoạt độ AST, ALT, nồng độ bilirubin toàn phần, cholesterol toàn phần và albumin trong máu không thay đổi có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử.

Ảnh hưởng của viên nang mềm Tecan lên chức năng thận chuột cống thực nghiệm

Thận là cơ quan bài tiết của cơ thể, nhu mô thận rất dễ tổn thương bởi các chất nội sinh và ngoại sinh.⁵ Vì vậy, khi đưa thuốc vào cơ thể thuốc có thể gây tổn thương thận, từ đó ảnh hưởng đến chức năng thận. 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 ure. Do vậy, creatinin máu là chỉ tiêu tin cậy và quan trọng hơn ure máu, nên hiện nay dùng để đánh giá và theo dõi chức năng thận.⁶ Kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ creatinin trong máu chuột sau dùng viên nang Tecan không có sự thay đổi khác biệt với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử.

Ảnh hưởng của viên nang mềm Tecan lên hình thái và cấu trúc vi thể gan, thận của chuột cống thực nghiệm

Theo hướng dẫn của WHO, giải phẫu đại thể và vi thể gan thận là chỉ số bắt buộc khi đánh giá độc tính bán trường diễn.³ Ngoài ra, xét nghiệm vi thể còn là tiêu chuẩn vàng để đánh giá tổn thương 2 cơ quan chính chịu trách nhiệm chuyển hóa và thải trừ thuốc là gan và thận.⁷ Trên tất cả chuột nghiên cứu, không quan sát thấy có thay đổi bệnh lý nào về mặt đại thể của các cơ quan. Như vậy, viên nang Tecan không ảnh hưởng đến cấu trúc đại thể gan và thận sau 4 tuần dùng thuốc.

Kết quả giải phẫu bệnh cho thấy, viên nang mềm Tecan cả 2 liều khi dùng đường uống trên chuột cống liên tục trong 4 tuần không làm ảnh hưởng đến cấu trúc vi thể thận; tuy nhiên, hình ảnh mô bệnh học gan có sự thay đổi so với lô chứng sinh học. Mặc dù có tổn thương trên xét nghiệm vi thể gan ở lô trị 1 và lô trị 2 nhưng chức năng gan thông qua các chỉ số sinh hóa máu đều trong giới hạn bình thường. Điều này cho thấy tổn thương tế bào gan ở mức độ nhẹ và ở một số ít tế bào, chỉ có thể phát hiện ở mức độ vi thể, còn lại đa số các tế bào đều bình thường nên đã có hiện tượng hoạt động bù trừ. Do đó, các chỉ số sinh hóa ở chuột hoàn toàn bình thường sau khi dùng thuốc thử.

Kết quả nghiên cứu này phù hợp với các nghiên cứu độc tính của cây Xạ can được công bố trên thế giới. Tectorienin là một hoạt chất chính trong cây Xạ can. Tectorienin khi dùng liều lên đến 300 mg/kg cho chuột cống uống liên tục trong 28 ngày không thể hiện độc tính trên chức năng gan và chức năng thận của chuột.⁸

V. KẾT LUẬN

Viên nang mềm Tecan liều 93,6 mg/kg/ngày (tương đương với liều điều trị dự kiến trên lâm sàng) và 280,8 mg/kg/ngày (gấp 3 lần liều tương đương với liều điều trị dự kiến trên lâm sàng) dùng đường uống liên tục trong 4 tuần không làm ảnh hưởng đến chức năng gan, thận chuột cống thông qua không làm thay đổi hoạt độ AST, ALT, nồng độ bilirubin toàn phần, cholesterol toàn phần, albumin, creatinin trong máu và hình ảnh mô bệnh học thận trên chuột cống trắng ở cả 2 mức liều. Hình ảnh mô bệnh học gan có sự thay đổi so với lô chứng sinh học tuy nhiên các xét nghiệm sinh hóa đánh giá chức năng gan đều trong giới hạn bình thường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Trung Đàm. *Phương pháp xác định độc tính của thuốc*. Nhà xuất bản Y học. 2014.
2. Viện dược liệu. *Cây thuốc và động vật làm thuốc*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật. 2007.
3. 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.

4. World Health Organization. *Global report on traditional and complementary medicine*. 2019.

5. OECD. *Guidelines for the testing of chemicals repeated dose oral toxicity study in rodents*. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment. 2008; No 407.

6. National Research Council. *Toxicity testing for assessing environmental agents*. Interim Report. Washington, DC, USA: National Academies Press. 2006.

7. Olson H, Betton G, Robinson D, et al. Concordance of the toxicity of pharmaceuticals in humans and in animals. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2000; 32(1): 56–67.

8. Ha LM, Que DTN, Huyen DTT, et al. Toxicity, analgesic and anti-inflammatory activities of tectorigenin. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 2013; 35(3).

Summary

EVALUATION OF THE INFLUENCE OF TECAN CAPSULES ON LIVER AND KIDNEY FUNCTION IN EXPERIMENTAL RATS

The research was conducted to evaluate the influence of Tecan capsules on liver and kidney function of experimental Wistar rats. Rats were given continuous oral administration of Tecan capsules at 93.6 mg/kg and 280.8 mg/kg during 4 weeks. Hepato-renal toxicity was assessed before, at 2 weeks and 4 weeks of taking capsules. Micro-histological images of liver and kidney were obtained at the end of the experiment. The research showed that Tecan capsules at 93.6 mg/kg and 280.8 mg/kg taken continuously during 4 weeks had no effect on AST, ALT, total bilirubin, total cholesterol, albumin, creatinine in serum and micro-histological images of the kidney. However, there was a slight change in micro-histological images of the liver in rats treated with Tecan capsules but the liver function parameters remained in the safe range. Conclusion: Tecan capsules at 93.6 mg/kg and 280.8 mg/kg taken continuously during 4 weeks had no effect on liver function and kidney function of experimental rats.

Keywords: Tecan capsules, liver function, kidney function, Wistar rats.