

ĐỘC TÍNH CẤP VÀ BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA VIÊN NÉN ÍCH NIỆU KHANG TRÊN THỰC NGHIỆM

Vũ Minh Hoàn¹ và Nguyễn Thị Thanh Tú^{2,✉}

¹Bệnh viện Y học cổ truyền Hà Nội

²Trường Đại học Y Hà Nội

Nghiên cứu nhằm xác định độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của viên nén Ích Niệu Khang trên thực nghiệm. Nghiên cứu độc tính cấp trên chuột nhắt chủng Swiss bằng phương pháp Litchfield - Wilcoxon. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng chủng Wistar theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới. Kết quả nghiên cứu cho thấy với liều cao nhất chuột có thể dung nạp được (liều 31,5 g/kg thể trọng chuột - gấp 41,66 lần liều dùng dự kiến trên người) chưa xác định được LD50 trên chuột nhắt trắng bằng đường uống. Viên nén Ích Niệu Khang không gây độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng với liều 0,378 g/kg/ngày thể trọng chuột/ngày (liều tương đương liều lâm sàng) và liều 1,134 g/kg/ngày (liều gấp 3 lần liều lâm sàng) trong 4 tuần liên tục uống thuốc. Tất cả các chỉ số theo dõi về tình trạng chung, cân nặng, chức năng tạo máu, chức năng gan, chức năng thận đều nằm trong giới hạn bình thường, mô bệnh học gan, thận không có sự khác biệt so với lô chứng.

Từ khóa: Độc tính cấp, độc tính bán trường diễn, động vật thực nghiệm, viên nén Ích Niệu Khang..

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo Hiệp hội Tiết niệu Quốc tế, bàng quang tăng hoạt (Overactive bladder - OAB) là một hội chứng các triệu chứng rối loạn chức năng đường tiết niệu dưới thể hiện tình trạng tiểu không tự chủ, tiểu nhiều lần và tiểu đêm mà không có bất kỳ bệnh lý nào khác.¹ OAB là tình trạng phổ biến ở cả nam và nữ.² Khảo sát 19.165 người trên 18 tuổi tại 5 quốc gia Canada, Đức, Ý, Thụy Điển và Vương quốc Anh về tình trạng OBA năm 2005 cho thấy tỷ lệ mắc bệnh là 11,8%, tỷ lệ mắc bệnh ở nam và nữ tương đương nhau và tăng theo độ tuổi.³ Tại Việt Nam, nghiên cứu mô tả cắt ngang 769 người trên 40 tuổi tại huyện Duy Tiên, tỉnh Hà Nam năm 2016 cho thấy tỷ lệ mắc OAB ở nam giới là 10,08% và nữ giới là 19,2%.⁴

OAB có thể có tác động đáng kể đến chất

lượng cuộc sống, năng suất làm việc, chức năng tinh dục, giấc ngủ và sức khỏe tâm thần.^{2,4} Hiện nay, các phương pháp để quản lý OAB bao gồm trị liệu hành vi, điều trị nội khoa bằng các nhóm thuốc kháng thụ thể Muscarinics, độc tố Botulinum A, điều hòa thần kinh xương cùng, kích thích dây thần kinh chày qua da và phẫu thuật tạo hình bàng quang.⁴ Các phương pháp điều trị này cũng đã mang lại hiệu quả đáng kể. Tuy nhiên, vẫn còn tỷ lệ cao bệnh nhân không hài lòng và ngừng tất cả các phương pháp điều trị.⁵ Vì vậy, phương pháp điều trị bằng thảo dược là một phương pháp thay thế ngày càng phổ biến để điều trị OAB.⁶ Một cuộc khảo sát năm 2002 đối với người trưởng thành ở Hoa Kỳ trên 18 tuổi do Trung tâm Kiểm soát và phòng ngừa dịch bệnh thực hiện chỉ ra rằng 74,6% những người mắc OAB đã sử dụng các phương pháp điều trị bổ sung và thay thế.⁷

Viên nén Ích Niệu Khang bao gồm các thành phần như cao Đỗ trọng, L-Carnitine fumarate, hỗn hợp chiết xuất hạt bí ngô và mầm đậu nành. Đây là các loại thảo dược đã được

Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Thanh Tú

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: thanhtu@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 04/01/2024

Ngày được chấp nhận: 18/01/2024

chứng minh có tác dụng tốt trong điều trị bàng quang tăng hoạt.^{8,9} Viên nén Ích Niệu Khang được sản xuất tại công ty TNHH Medistar Việt Nam và được Cục An toàn thực phẩm cấp xác nhận công bố phù hợp quy định an toàn thực phẩm số 5768/2018/ĐKSP. Chế phẩm đã được sử dụng trên thị trường dưới dạng thực phẩm chức năng trong hỗ trợ điều trị rối loạn tiểu tiện. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu để đánh giá một cách khách quan hiệu quả của chế phẩm trong hỗ trợ điều trị hội chứng OBA. Để có căn cứ tiến hành các nghiên cứu về tác dụng cải thiện các triệu chứng của hội chứng OBA của viên nén Ích Niệu Khang trên người, chúng tôi tiến hành nghiên cứu độc tính của chế phẩm với mục tiêu: *Đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn của viên nén Ích Niệu Khang trên thực nghiệm.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Chất liệu nghiên cứu

Viên nén Ích Niệu Khang được sản xuất tại Nhà máy công ty TNHH Medistar Việt Nam và được phân phối bởi Công ty TNHH Dược phẩm FOBIC. Viên nén Ích Niệu Khang được Cục An toàn thực phẩm cấp xác nhận công bố phù hợp qui định an toàn thực phẩm số 5768/2018/ĐKSP. Thành phần trong 1 viên nén Ích Niệu Khang gồm: Cao Đỗ trọng (*Cortex eucommiae*) (tỷ lệ Dược liệu/Cao: 16/1) 350mg; L-Carnitine fumarate 150mg; GO-LESS (Hỗn hợp chứa 87,5% chiết xuất hạt bí ngô (*Cucurbita moschata*) (EFLA®940) và 12,5% chiết xuất mầm đậu tương (*Glycine soja*) (Soylife®40)) 25mg.

Liều dùng trên người: 6 viên/ngày, tương đương 3.150 mg/ngày.

2. Đối tượng

Nghiên cứu độc tính cấp

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss*, cả 2 giống, khỏe mạnh, trọng lượng 20 ± 2 g do Viện Vệ

sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Chuột được nuôi trong phòng thí nghiệm của Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội từ 5 - 10 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn dành riêng cho chuột, uống nước tự do.

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn

Chuột cống trắng chủng *Wistar*, cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 160 ± 20 g do Viện vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Động vật thí nghiệm được nuôi 7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu trong điều kiện phòng thí nghiệm với đầy đủ thức ăn và nước uống tại Bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội.

3. Phương pháp

Nghiên cứu độc tính cấp của viên nén Ích Niệu Khang theo đường uống trên chuột nhắt trắng theo hướng dẫn của WHO và xác định LD₅₀ theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon.^{10,11} Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhịn ăn qua đêm. Chuột được chia thành 10 lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống viên nén Ích Niệu Khang với liều tăng dần trong cùng một thể tích để xác định liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột. Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết...) và số lượng chuột chết trong 72 giờ sau khi uống thuốc. Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó xây dựng đồ thị để xác định LD₅₀ của thuốc thử. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống viên nén Ích Niệu Khang.

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của viên nén Ích Niệu Khang trên chuột cống trắng theo đường uống theo hướng dẫn của WHO về thuốc có nguồn gốc dược liệu.¹⁰ Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên làm 3 lô: Lô chứng (n = 10): Uống nước cất 10 ml/kg/ngày. Lô trị

1 (n = 10): Uống viên nén Ích Niệu Khang liều 0,378 g/kg/ngày (liều có tác dụng tương đương liều dự kiến trên người, tính theo hệ số 6). Lô trị 2 (n = 10): Uống viên nén Ích Niệu Khang liều 1,134 g/kg/ngày (gấp 3 lần lô trị 1). Chuột được uống nước cất hoặc thuốc thử trong 4 tuần liên tục, mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng. Các chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình nghiên cứu: Tình trạng chung, thể trọng của chuột; Đánh giá chức phận tạo máu thông qua số lượng hồng cầu, thể tích trung bình hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu; Đánh giá chức năng gan thông qua định lượng một số chất chuyển hóa trong máu: bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol toàn phần; Đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan thông qua định lượng hoạt độ enzym Alanine Aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) trong máu; Đánh giá

chức năng thận thông qua định lượng nồng độ creatinin huyết thanh. Các thông số được kiểm tra vào thời điểm trước lúc uống mẫu thử hoặc chế phẩm (T0), sau 2 tuần (T2) và sau 4 tuần (T4). 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 cống trắng ở mỗi lô. Các xét nghiệm vi thể được thực hiện tại Trung tâm nghiên cứu và Phát hiện sớm ung thư.

Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được thu thập và xử lý bằng phương pháp thống kê y sinh học theo thuật toán thống kê t-test Student và test trước - sau. Số liệu được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

III. KẾT QUẢ

1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của viên nén Ích Niệu Khang

Bảng 1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của viên nén Ích Niệu Khang

Lô chuột	n	Liều (g/kg)	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	12,6	0	Không
Lô 2	10	18,9	0	Không
Lô 3	10	25,2	0	Không
Lô 4	10	31,5	0	Không

Các lô chuột uống viên nén Ích Niệu Khang ở liều từ 12,6 g/kg đến liều tối đa 31,5 g/kg không có biểu hiện độc tính cấp.

2. Kết quả độc tính bán trường diễn của viên nén Ích Niệu Khang

Tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng

của chuột:

- *Tình trạng chung của chuột:* Trong thời gian thí nghiệm, chuột ở cả 3 lô hoạt động bình thường, ăn uống tốt, nhanh nhẹn, lông mượt, mắt sáng, phân khô.

- *Sự thay đổi thể trọng chuột:*

Bảng 2. Ảnh hưởng của viên nén Ích Niệu Khang đến thể trọng chuột

Thời gian	Lô chứng (n = 10) ($\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 1 (n = 10) ($\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 2 (n = 10) ($\bar{X} \pm SD$)	p
T0	137,50 ± 16,54	141,00 ± 14,49	143,00 ± 18,89	> 0,05
T2	166,00 ± 29,89	159,00 ± 23,78	169,00 ± 33,15	> 0,05
p (T0- T2)	< 0,01	< 0,01	< 0,05	
T4	160,50 ± 32,01	162,00 ± 28,60	158,00 ± 30,84	> 0,05
p (T0- T4)	< 0,05	< 0,01	> 0,05	

Sau 2 tuần uống thuốc thử, trọng lượng chuột ở cả 3 lô đều tăng so với trước khi nghiên cứu, có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$, $p < 0,05$). Sau 4 tuần, chuột ở lô chứng và lô trị 1 tăng có ý nghĩa thống kê so với trước nghiên cứu với $p < 0,05$, lô trị 2 trọng lượng chuột tăng so với

trước khi nghiên cứu nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Không có sự khác biệt về mức độ gia tăng trọng lượng chuột cống trắng giữa lô chứng và 2 lô dùng thuốc thử ($p > 0,05$).

Đánh giá chức năng tạo máu

Bảng 3. Ảnh hưởng của viên nén Ích Niệu Khang đến chức năng tạo máu

Chỉ số	Thời gian	Lô chứng (n = 10) ($\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 1 (n = 10) ($\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 2 (n = 10) ($\bar{X} \pm SD$)	p
Số lượng hồng cầu (T/l)	T0	8,15 ± 1,22	7,53 ± 1,03	8,04 ± 0,49	> 0,05
	T2	8,16 ± 1,04	7,56 ± 1,22	8,01 ± 0,88	> 0,05
	T4	7,55 ± 1,05	7,77 ± 1,34	7,82 ± 1,17	> 0,05
	p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Số lượng bạch cầu (G/l)	T0	7,66 ± 1,15	7,43 ± 2,20	9,03 ± 2,05	> 0,05
	T2	8,45 ± 2,59	7,92 ± 1,33	9,56 ± 1,80	> 0,05
	T4	9,27 ± 2,44	7,88 ± 1,59	8,93 ± 2,24	> 0,05
	p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Số lượng tiểu cầu (G/l)	T0	529,50 ± 105,94	573,60 ± 88,83	534,00 ± 93,93	> 0,05
	T2	593,80 ± 92,37	600,90 ± 92,91	555,20 ± 122,76	> 0,05
	T4	613,70 ± 134,01	593,50 ± 72,41	621,60 ± 113,79	> 0,05
	p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Sau 2 tuần và 4 tuần uống Ích Niệu Khang, số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu ở cả 2 lô nghiên cứu khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so với trước khi uống thuốc thử ($p > 0,05$). Đồng thời, hàm lượng huyết sắc

tố, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu và công thức bạch cầu ở cả 2 lô dùng thuốc khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so với trước khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan

Bảng 4. Ảnh hưởng của viên nén Ích Niệu Khang đến hoạt độ AST, ALT trong máu chuột

Chỉ số	Thời gian	Lô chứng (n = 10) ($\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 1 (n = 10) ($\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 2 (n = 10) ($\bar{X} \pm SD$)	p
Hoạt độ AST(U/I)	T0	95,64 ± 23,28	82,70 ± 12,32	97,30 ± 26,80	> 0,05
	T2	94,30 ± 17,91	95,0 ± 20,99	101,30 ± 17,31	> 0,05
	T4	89,10 ± 25,22	86,50 ± 20,63	83,10 ± 17,11	> 0,05
	p (trước- sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Hoạt độ ALT(U/I)	T0	39,60 ± 8,03	37,30 ± 4,81	37,80 ± 6,36	> 0,05
	T2	34,20 ± 4,34	36,10 ± 9,84	37,20 ± 6,00	> 0,05
	T4	41,30 ± 8,59	37,60 ± 10,70	39,50 ± 8,67	> 0,05
	p (trước- sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Sau 2 tuần và 4 tuần uống Ích Niệu Khang, hoạt độ AST và ALT ở cả 2 lô nghiên cứu đều khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô

chứng và so với thời điểm trước khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Đánh giá chức năng gan, chức năng thận

Bảng 5. Ảnh hưởng của viên nén Ích Niệu Khang đến nồng độ bilirubin toàn phần, albumin, creatinin trong máu chuột

Chỉ số	Thời gian	Lô chứng (n = 10) ($\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 1 (n = 10) ($\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 2 (n = 10) ($\bar{X} \pm SD$)	p
Bilirubin toàn phần (mmol/l)	T0	13,49 ± 0,37	13,35 ± 0,33	13,55 ± 0,38	> 0,05
	T2	13,40 ± 0,37	13,38 ± 0,28	13,32 ± 0,41	> 0,05
	T4	13,55 ± 0,66	13,48 ± 0,66	13,22 ± 0,81	> 0,05
	p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Albumin (g/dl)	T0	3,59 ± 0,25	3,70 ± 0,22	3,53 ± 0,19	> 0,05
	T2	3,43 ± 0,36	3,66 ± 0,21	3,49 ± 0,43	> 0,05
	T4	3,41 ± 0,40	3,58 ± 0,19	3,14 ± 0,37	> 0,05
	p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	< 0,01	

Chỉ số	Thời gian	Lô chứng (n = 10) ($\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 1 (n = 10) ($\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 2 (n = 10) ($\bar{X} \pm SD$)	p
Cholesterol toàn phần (mmol/l)	T0	1,82 ± 0,27	2,09 ± 0,45	2,02 ± 0,36	> 0,05
	T2	1,60 ± 0,23	1,80 ± 0,39	1,70 ± 0,32	> 0,05
	T4	1,68 ± 0,30	1,87 ± 0,23	1,92 ± 0,22	> 0,05
	p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Creatinin (mg/dl)	T0	0,86 ± 0,16	0,94 ± 0,15	0,86 ± 0,16	> 0,05
	T2	0,78 ± 0,16	0,83 ± 0,16	0,91 ± 0,12	> 0,05
	T4	0,75 ± 0,13	0,81 ± 0,17	0,87 ± 0,17	> 0,05

Sau 2 tuần và 4 tuần uống Ích niệu Khang, nồng độ bilirubin toàn phần, nồng độ cholesterol toàn phần và nồng độ creatinin trong máu chuột khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so với thời điểm trước khi uống thuốc thử ($p > 0,05$). Sau 2 tuần và 4 tuần dùng thuốc thử, nồng độ albumin trong máu chuột ở lô trị 1 không có sự khác biệt so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi dùng thuốc thử ($p > 0,05$). Sau 2 tuần dùng thuốc, nồng độ albumin trong máu chuột ở lô trị 2 khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so với trước khi dùng thuốc thử. Sau 4 tuần uống thuốc, nồng độ albumin giảm có ý nghĩa thống kê so với trước khi dùng thuốc thử ($p < 0,01$), nhưng vẫn trong giới hạn bình thường và khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($p > 0,05$).

Hình ảnh đại thể và vi thể sau 4 tuần nghiên cứu

Hình ảnh đại thể:

Trên tất cả các chuột nghiên cứu (cả lô chứng và 2 lô trị), không quan sát thấy có thay đổi bệnh lý nào về đại thể của các cơ quan tim, phổi, gan, lách, tụy, thận và hệ thống tiêu hoá của chuột.

Hình ảnh vi thể:

Dưới kính hiển vi độ phóng đại 400 lần nhận thấy không có tổn thương rõ rệt về cấu trúc vi thể gan, thận chuột so với lô chứng sau 4 tuần uống thuốc thử.

IV. BÀN LUẬN

Để nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD₅₀ của viên nén Ích Niệu Khang, chuột nhất được uống liều tăng dần đến liều tối đa có thể dung nạp được. Kết quả nghiên cứu từ bảng 1 cho thấy, với liều dung nạp tối đa của viên nén Ích Niệu Khang là 31,5 g/kg, không có chuột nào có biểu hiện bất thường. Như vậy, tính trên người trưởng thành 50kg, hệ số ngoại suy trên chuột nhất trắng là 12, liều tối đa 3,15 g/ngày/người, cho chuột uống Viên nén Ích Niệu Khang ở liều gấp 41,66 lần liều trên người nhưng không có độc tính cấp và không xác định được LD₅₀.

Khi đánh giá tính an toàn của thuốc cổ truyền trên thực nghiệm thì tình trạng chung, trọng lượng cơ thể và các chỉ số huyết học là những xét nghiệm bắt buộc khi đánh giá độc tính của thuốc thử.^{10,12} Kết quả nghiên cứu cho thấy, viên nén Ích Niệu Khang không làm ảnh hưởng đến tình trạng chung và sự thay đổi trọng lượng của chuột.

Máu là một tổ chức rất quan trọng vì máu liên quan mật thiết với mọi bộ phận, cơ quan trong cơ thể. Về mặt bệnh lý, máu chịu ảnh hưởng của tất cả các tổ chức đó nhưng đồng thời cũng bị ảnh hưởng và phản ánh tình trạng riêng của cơ quan tạo máu.¹³ Nếu thuốc 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, số lượng bạch cầu, số lượng tiểu cầu, hàm lượng huyết sắc tố, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu, công thức bạch cầu chuột cống trắng thí nghiệm được xác định. Sau 2 tuần và 4 tuần uống viên nén Ích Niệu Khang, các chỉ số trên của chuột cống ở cả hai lô trị đều thay đổi không có ý nghĩa so với trước khi dùng thuốc ($p > 0,05$) và so với lô chứng ở cùng thời điểm. Như vậy, viên nén Ích Niệu Khang không thể hiện độc tính trên cơ quan tạo máu.

Trong cơ thể, gan là cơ quan lớn nhất đảm nhận nhiều chức năng quan trọng như chuyển hóa, hóa sinh, tiêu hóa, khử độc và loại bỏ các sản phẩm chuyển hóa ra khỏi cơ thể. Do đảm nhận nhiều chức năng chuyển hóa, là cửa ngõ của các chất vào cơ thể qua bộ máy tiêu hóa nên gan là một cơ quan dễ bị nhiễm bệnh. 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 thì nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc đối với chức năng gan là rất cần thiết.¹³ Để đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan, nồng độ các enzym có nguồn gốc tại gan có trong huyết thanh được định lượng và đánh giá. Sự tăng nồng độ các enzym này thường gắn liền với độc tính của thuốc do sự hủy hoại tế bào gan. Trong nghiên cứu của chúng tôi, sau 2 tuần và sau 4 tuần chuột được cho uống thuốc, hoạt độ ALT, AST và các chỉ số đánh giá chức năng gan (bilirubin toàn phần và cholesterol trong máu) ở cả 2 lô nghiên cứu đều nằm trong giới hạn bình thường. Tại

lô chuột được uống Ích Niệu Khang với liều gấp 3 lần liều dùng trên lâm sàng, nồng độ albumin huyết thanh giảm nhưng vẫn trong giới hạn bình thường. Hơn nữa, không thấy sự thay đổi chỉ số sinh hóa ALT, AST nên nghĩ đến sự giảm albumin huyết thanh không liên quan đến độc tính của viên nén Ích Niệu Khang trên gan và không ảnh hưởng đến chức năng gan. Tuy nhiên, nếu cần tăng liều của viên nén Ích Niệu Khang cần cân nhắc và theo dõi chặt chẽ.

Thận là cơ quan tiết niệu, có vai trò quan trọng bậc nhất để đảm bảo sự hằng tính nội môi. Nhu mô thận rất dễ bị tổn thương bởi các chất nội sinh và ngoại sinh.¹³ Vì vậy, khi đưa thuốc vào cơ thể thuốc có thể gây độc, làm tổn thương thận, từ đó ảnh hưởng đến chức năng thận. Nồng độ creatinin trong máu chuột cống trắng sau uống viên nén Ích Niệu Khang không có sự thay đổi khác biệt với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Viên nén Ích Niệu Khang được bào chế từ cao Đỗ trọng 350mg, L-Carnitine fumarate 150mg và GO-LESS 25mg (hỗn hợp chứa 87,5% chiết xuất hạt bí ngô và 12,5% chiết xuất mầm đậu tương). Đỗ trọng là vị thuốc cổ truyền đã được sử dụng lâu đời với tác dụng bổ can thận, mạnh gân cốt, an thai, hạ áp.¹⁴ Nghiên cứu hiện đại trên *in vitro* và *in vivo* về Đỗ trọng cho thấy dược liệu có tác dụng điều hòa hệ thống tim mạch, chống loãng xương, chống viêm, chống oxy hóa, hạ đường huyết, bảo vệ thần kinh, bảo vệ gan và thận, chống ung thư, điều hòa miễn dịch, cải thiện khả năng cương dương, chống nấm và chống vi khuẩn.¹⁵ Luo X và cộng sự (2020), nghiên cứu tính an toàn của Đỗ trọng cho thấy, liều dung nạp tối đa của Đỗ trọng không dưới 168 g/kg, gấp 1260 lần liều lâm sàng ở người trưởng thành. Sử dụng lâu dài (13 tuần) dẫn đến sự gia tăng các chỉ số liên quan đến độc tính trên thận và các thay đổi

bệnh lý ở mô thận phụ thuộc vào liều lượng. Những thay đổi này giảm bớt sau 5 tuần sau khi dùng liều thấp 11,2 g/kg nhưng vẫn tồn tại ở liều cao 56 g/kg. Có thể kết luận rằng Đỗ trọng không gây độc cho gen và không gây ra độc tính cấp. Tuy nhiên, sử dụng liều cao và lâu dài có thể dẫn đến độc tính trên thận có thể hồi phục được một phần.¹⁶ L-Carnitine fumarate là một dẫn xuất axit amin tự nhiên đóng vai trò quan trọng trong quá trình sản xuất và chuyển hóa năng lượng trong cơ thể.¹⁷ Carnitine đã được nghiên cứu về tác động đối với tình trạng kháng insulin và bệnh tiểu đường, ảnh hưởng đến sức khỏe tim mạch, vai trò chống viêm trong các bệnh lý xương khớp hay việc mang lại lợi ích cho những người mắc bệnh Alzheimer hoặc các dạng sa sút trí tuệ.¹⁷ Carnitine giúp vận chuyển một số hợp chất độc hại ra khỏi ty thể.¹⁸ Tuy nhiên, việc sử dụng Carnitine như một chất bổ sung trong chế độ ăn uống nên được quy định để tránh quá liều. Một số nghiên cứu cho thấy có thể xảy ra các tác dụng không mong muốn liên quan đến việc bổ sung Carnitine. Những tác dụng không mong muốn này bao gồm thỉnh thoảng nôn mửa và tiêu chảy khi dùng Carnitine liều cao (400 mg/kg/ngày) trên trẻ em mắc chứng rối loạn tự kỷ.¹⁹ Theo nghiên cứu của Malaguarnera và cộng sự (2019) trên bệnh nhân rối loạn tự kỷ, khi dùng Carnitine liều khoảng 50 - 100 mg/kg/ngày thường được dung nạp tốt, với liều 200 mg/kg/ngày sẽ gây ra các triệu chứng về đường tiêu hóa và mùi da nồng nặc, khó chịu.²⁰ Viên nén Ích Niệu Khang với thành phần GO-LESS được chiết xuất từ hạt bí ngô và mầm đậu nành. Hiện nay, chiết xuất từ hạt bí ngô được sử dụng nhiều trong ngành dược phẩm và mỹ phẩm. Các chất phytochemical chính trong dầu hạt bí ngô có đặc tính liên quan đến sức khỏe là polyphenol, phytoestrogen và axit béo. Hầu hết các nghiên cứu đã được tiến hành trong ống nghiệm tuyên bố rằng dầu hạt bí ngô có hoạt động chống

oxy hóa và kháng khuẩn. Các nghiên cứu lâm sàng đã chỉ ra rằng dầu hạt bí ngô có thể có lợi trong việc điều trị các vấn đề về tim mạch ở phụ nữ mãn kinh và các bệnh liên quan đến mất cân bằng hormone giới tính.²¹ Theo Y học cổ truyền, mầm đậu nành có tác dụng thanh nhiệt, giải độc. Nghiên cứu cho thấy chiết xuất từ mầm đậu nành có tác dụng bảo vệ đối với tổn thương gan do cacbon tetrachlorua gây ra thông qua nhiều cơ chế được lý bao gồm chống oxy hóa và chống viêm.²²

V. KẾT LUẬN

Không xác định được LD₅₀ của viên nén Ích Niệu Khang trên chuột nhắt trắng với liều dung nạp tối đa là 31,5 g/kg thể trọng chuột (gấp 41,66 lần so với liều dùng trên người).

Viên nén Ích Niệu Khang với liều 0,378 g/kg/ngày (liều tương đương liều dùng trên lâm sàng) và liều 1,134 g/kg/ngày (liều gấp 3 lần liều dùng trên lâm sàng), cho chuột uống trong 4 tuần liên tục không gây độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng. Tất cả các chỉ số theo dõi về tình trạng chung, cân nặng, chức năng tạo máu, chức năng gan, chức năng thận đều nằm trong giới hạn bình thường, mô bệnh học gan, thận không có sự khác biệt rõ rệt so với lô chứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Wein AJ, Rovner ES. Definition and epidemiology of overactive bladder. *Urology*. 2002;60(5 Suppl 1): 7-12; discussion 12. doi:10.1016/s0090-4295(02)01784-3.
- Eapen RS, Radomski SB. Review of the epidemiology of overactive bladder. *Res Rep Urol*. 2016; 8: 71-76. doi:10.2147/RRU.S102441.
- Irwin DE, Milsom I, Hunskaar S, et al. Population-based survey of urinary incontinence, overactive bladder, and other

- lower urinary tract symptoms in five countries: results of the EPIC study. *Eur Urol.* 2006; 50(6): 1306-1314; discussion 1314-1315. doi:10.1016/j.eururo.2006.09.019.
4. Coyne KS, Sexton CC, Kopp ZS, Ebel- Bitoun C, Milsom I, Chapple C. The impact of overactive bladder on mental health, work productivity and health-related quality of life in the UK and Sweden: results from EpiLUTS. *BJU Int.* 2011; 108(9): 1459-1471. doi:10.1111/j.1464-410X.2010.10013.x.
5. Fontaine C, Papworth E, Pascoe J, Hashim H. Update on the management of overactive bladder. *Ther Adv Urol.* 2021; 13:17562872211039034. doi:10.1177/17562872211039034.
6. Zhou J, Jiang C, Wang P, et al. Effects and safety of herbal medicines on patients with overactive bladder: A protocol for a systematic view and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2019; 98(37): e17005. doi:10.1097/MD.00000000000017005.
7. Chughtai B, Kavalier E, Lee R, Te A, Kaplan SA, Lowe F. Use of Herbal Supplements for Overactive Bladder. *Rev Urol.* 2013; 15(3): 93-96.
8. Cheng M, Qiang Y, Wu Y, et al. Multi-omic approaches provide insights into the molecular mechanisms of Sojae semen germinatum water extract against overactive bladder. *Food Res Int Ott Ont.* 2024;175:113746. doi:10.1016/j.foodres.2023.113746
9. Nishimura M, Ohkawara T, Sato H, Takeda H, Nishihira J. Pumpkin Seed Oil Extracted From Cucurbita maxima Improves Urinary Disorder in Human Overactive Bladder. *J Tradit Complement Med.* 2014; 4(1): 72-74. doi:10.4103/2225-4110.124355
10. Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines. Accessed December 4, 2023. <https://www.who.int/publications/i/item/9290611103>.
11. Litchfield J T & Wilcoxon F A. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 96: 99-113, 1949.
12. Oecd407-2008.pdf. Accessed January 4, 2024. <https://ntp.niehs.nih.gov/sites/default/files/iccvam/suppdocs/feddocs/oecd/oecd407-2008.pdf>
13. Organization WH. Working group on the safety and efficacy of herbal medicine. *Rep Reg Off West Pac World Health Organ.* Published online 2000.
14. Đỗ trọng (vỏ thân) - Dược Điển Việt Nam. Accessed January 4, 2024. <https://duocdienvietnam.com/do-trong-vo-than/>.
15. Huang L, Lyu Q, Zheng W, Yang Q, Cao G. Traditional application and modern pharmacological research of Eucommia ulmoides Oliv. *Chin Med.* 2021; 16(1): 73. doi:10.1186/s13020-021-00482-7.
16. Luo X, Wu J, Li Z, et al. Safety evaluation of Eucommia ulmoides extract. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2020; 118: 104811. doi:10.1016/j.yrtph.2020.104811.
17. Office of Dietary Supplements - Carnitine. Accessed January 4, 2024. <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Carnitine-HealthProfessional/>.
18. Belay B, Esteban-Cruciani N, Walsh CA, Kaskel FJ. The use of levo-carnitine in children with renal disease: a review and a call for future studies. *Pediatr Nephrol Berl Ger.* 2006; 21(3): 308-317. doi:10.1007/s00467-005-2085-4.
19. Goin-Kochel RP, Scaglia F, Schaaf CP, et al. Side Effects and Behavioral Outcomes Following High-Dose Carnitine Supplementation Among Young Males With Autism Spectrum Disorder: A Pilot Study. *Glob Pediatr Health.* 2019; 6: 2333794X19830696. doi:10.1177/2333794X19830696.
20. Malaguarnera M, Cauli O. Effects of

l-Carnitine in Patients with Autism Spectrum Disorders: Review of Clinical Studies. *Molecules*. 2019; 24(23): 4262. doi:10.3390/molecules24234262.

21. Šamec D, Loizzo MR, Gortzi O, et al. The potential of pumpkin seed oil as a functional food-A comprehensive review of chemical composition, health benefits, and safety. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2022; 21(5): 4422-

4446. doi:10.1111/1541-4337.13013.

22. SciELO - Brazil - Extracts from *sojae semen germinatum* ameliorated carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. Extracts from *sojae semen germinatum* ameliorated carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. Accessed January 4, 2024. <https://www.scielo.br/j/cta/a/S4ck8D5fwrDHP3yCmJj5tD/?lang=en>.

Summary

ACUTE AND SUB-CHRONIC TOXICITY OF ICH NIEU KHANG TABLET

This study aimed to evaluate the acute and sub-chronic toxicity of Ich Nieu Khang tablet in experimental animals. The acute toxicity was performed in Swiss mice based on the Litchfield - Wilcoxon method. The sub-chronic toxicity was evaluated in Wistar rats according to the World Health Organization's guidance. The results showed that the highest dose of Ich Nieu Khang tablet (31.5 g/kg b.w./day, equivalent to 41.66 times as high as the maximal recommended human dose) did not show acute oral toxicity in mice and the median lethal dose (LD50) was not determined. Administration of Ich Nieu Khang tablet at these doses: 0.378 g/kg b.w./day (equivalent to clinical dose) and 1.134 g/kg body weight (three times as high as the clinical dose) in 4 weeks did not produce any significant detrimental effect on the body weight, hematological and biochemical parameters, as well as the gross and microscopic images of the rats' liver and kidney, in comparison to the control group.

Keywords: Acute toxicity, Sub - chronic toxicity, Experimental animals, Ich Nieu Khang tablet.