

# NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA DUNG DỊCH UỐNG EATWELLB TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Trần Thanh Tùng<sup>✉</sup>, Nguyễn Thị Thanh Loan

Trường Đại học Y Hà Nội

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn theo đường uống của dung dịch EATWELLB trên động vật thực nghiệm. Nghiên cứu độc tính cấp được tiến hành trên chuột nhắt trắng chủng Swiss theo đường uống và xác định liều gây chết 50% chuột (lethal dose,  $LD_{50}$ ) theo phương pháp Litchfield-Wilcoxon. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn tiến hành theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới. Chuột cống trắng chủng Wistar được uống EATWELLB liều 1,8 mL/kg và 5,4 mL/kg trong 4 tuần liên tục. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp cho thấy EATWELLB liều 75mL dung dịch gốc/kg không gây biểu hiện độc tính cấp. Như vậy, liều dung nạp tối đa của EATWELLB cao gấp 20,8 lần liều dùng dự kiến trên người không gây độc tính cấp. Chưa xác định được  $LD_{50}$  trên chuột nhắt trắng của dung dịch EATWELLB theo đường uống. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn cho thấy tình trạng chung, các chỉ số huyết học, chức năng gan, thận và hình thái vi thể gan, thận không có sự khác biệt so với lô chứng sinh học và so sánh với thời điểm trước khi dùng thuốc thử. Như vậy, dung dịch EATWELLB liều 1,8 mL/kg và 5,4 mL/kg uống trong 4 tuần liên tục không gây độc tính bán trường diễn trên động vật thực nghiệm.

**Từ khóa:** EATWELLB, độc tính cấp, độc tính bán trường diễn, động vật thực nghiệm.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chán ăn được định nghĩa là một trạng thái không có cảm giác thèm ăn, một rối loạn ăn uống mà lượng thức ăn đưa vào ít hơn đáng kể so với nhu cầu cơ thể. Vì vậy, chán ăn có thể dẫn đến tình trạng suy kiệt khiến bệnh nhân dễ gặp những vấn đề về sức khỏe.<sup>1</sup> L-lysine, fibregum B, beta glucan đều đã được chứng minh có tác dụng kích thích ăn ngon theo các cơ chế khác nhau gồm ảnh hưởng đến quá trình chuyển hoá, tác động đến hệ vi khuẩn đường ruột.<sup>2,3</sup> Sản phẩm nghiên cứu EATWELLB có chứa thành phần L-Lysine, fibregum B, beta glucan, một số enzym và vitamin được bào chế dưới dạng dung dịch uống nhằm mục đích hỗ

trợ điều trị chán ăn ở người lớn và trẻ em. Hiện nay, trước khi tiến hành thử nghiệm sản phẩm mới trên người nhất thiết phải có các nghiên cứu khẳng định được tính an toàn và hiệu quả trên động vật thực nghiệm. Các nghiên cứu độc tính bao gồm độc tính cấp, độc tính trường diễn, độc tính bán trường diễn, độc tính tại chỗ, độc tính trên sinh sản và phát triển, độc tính sinh ung thư...

Trong đó, nghiên cứu độc tính cấp và độc tính bán trường diễn đóng vai trò quan trọng.<sup>4</sup> Các thành phần có trong chế phẩm EATWELLB đã được chứng minh tính an toàn và hiệu quả giúp ăn ngon khi sử dụng, tuy nhiên đến nay chưa có nghiên cứu nào đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn khi phối hợp các thành phần trên trong chế phẩm EATWELLB trên động vật thực nghiệm. Nhằm xác định tính an toàn của EATWELLB, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu: Đánh giá độc tính cấp và bán

Tác giả liên hệ: Trần Thanh Tùng

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: tranthanhtung@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 25/03/2024

Ngày được chấp nhận: 09/04/2024

trường diễn theo đường uống của dung dịch EATWELLB trên động vật thực nghiệm.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 1. Đối tượng

#### *Sản phẩm nghiên cứu*

Sản phẩm nghiên cứu dung dịch EATWELLB có thành phần gồm L-Lysin hydroclorid (tương đương 200mg Lysin) 250mg; Fibregum B (chất xơ hoà tan) 100mg; Immunhightech (chứa Beta glucan  $\geq 5\%$ ) 50mg; Digezym (tương đương amylase (24.000 DU/g) 960DU, protease (6000 PC/g) 240PC, lactase (4000 ALU/g) 160ALU, lipase (200 FIP/g) 8FIP, cellulase (1100 CU/g) 44CU) 40mg; Magnesi lactat (tương đương với 3,56mg Magnesi) 30mg; Papain 50000 U/g (tương đương với 1000U) 20mg; Kẽm gluconat (tương đương 1,42mg kẽm) 10mg; Vitamin B1 (thiamin mononitrat) 1mg; Vitamin B6 (pyridoxin hydroclorid) 1mg và tá dược vừa đủ 5ml. Sản phẩm nghiên cứu đạt tiêu chuẩn cơ sở với số lô sản xuất 930923 và hạn dùng 10/09/2026. Liều dùng dự kiến trên người là 15 mL/ngày.

#### *Hoá chất và máy móc phục vụ nghiên cứu*

Kit định lượng các enzym và chất chuyển hoá trong máu gồm ALT (alanin aminotransferase), AST (aspartat aminotransferase), bilirubin toàn phần, albumin, cholesterol, creatinin và glucose của hãng Hospitex Diagnostics (Italy) và hãng DIALAB GmbH (Áo), định lượng trên máy Screen master của hãng Hospitex Diagnostics (Italy). Dung dịch xét nghiệm máu dùng định lượng trên máy phân tích huyết học tự động Horiba ABX Micros ES 60 (Horiba Medical, Pháp). Các hoá chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học.

#### *Động vật thực nghiệm*

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss*, cả hai giống khoẻ mạnh, trọng lượng  $20 \pm 2g$ . Chuột cống trắng chủng *Wistar*, cả hai giống, khoẻ mạnh,

trọng lượng  $180 \pm 20g$ . Chuột được nuôi 7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu với điều kiện nhiệt độ duy trì  $25 \pm 1^\circ C$ , độ ẩm không khí và ánh sáng thích hợp tại phòng thí nghiệm của Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội. Chuột được nuôi bằng thức ăn tiêu chuẩn và uống nước tự do theo nhu cầu.

### 2. Phương pháp

#### *Đánh giá độc tính cấp của dung dịch EATWELLB*

Nghiên cứu độc tính cấp của EATWELLB được tiến hành trên chuột nhắt trắng theo đường uống và xác định liều gây chết 50% chuột (lethal dose,  $LD_{50}$ ) theo phương pháp Litchfield-Wilcoxon.<sup>5</sup>

Chuột nhắt trắng nhin đỏi qua đêm, được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống thuốc thử với liều tăng dần để xác định liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột (gây chết 0% 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 vòng 72 giờ sau khi uống thuốc thử. Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó, xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định  $LD_{50}$  của thuốc thử. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 14 sau khi uống sản phẩm thử.

#### *Đánh giá độc tính bán trường diễn của dung dịch EATWELLB*

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của EATWELLB được tiến hành theo Hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới.<sup>7</sup>

Chuột cống trắng, cả hai giống, được chia làm 3 lô, mỗi lô 10 con gồm:

- Lô 1 (chứng sinh học): uống dung môi pha thuốc 10 mL/kg/ngày.
- Lô trị 1: uống dung dịch EATWELLB liều

1,8 mL/kg (liều tương đương liều dự kiến dùng trên người, tính theo hệ số 6).

- Lô trị 2: uống dung dịch EATWELLB liều 5,4 mL/kg (liều gấp 3 lần liều tương đương liều dự kiến dùng trên người, tính theo hệ số 6).

Chuột cống trắng được uống nước cất hoặc sản phẩm thử trong 4 tuần liên tục, mỗi ngày một lần vào buổi sáng.

Các chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình nghiên cứu bao gồm: Tình trạng chung, cân nặng 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 enzym và chất chuyển hoá trong máu gồm ALT, AST, bilirubin toàn phần, protein và cholesterol; đánh giá chức năng lọc của thận thông qua định lượng nồng độ creatinin huyết thanh. Các thông số theo dõi được kiểm tra vào trước lúc uống thuốc thử, sau 2 tuần uống thuốc thử, và sau 4 tuần uống thuốc thử. Mô bệnh học được đánh

giá sau 4 tuần. 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. Các xét nghiệm vi thể được thực hiện tại Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện đa khoa Đức Giang (do TS. Dương Hồng Quân đọc kết quả vi thể).

#### Xử lý số liệu

Các số liệu nghiên cứu được xử lý thống kê theo phương pháp t-test Student và test trước-sau. Số liệu được biểu diễn dưới dạng  $\bar{x} \pm SD$ . Sự khác biệt có ý nghĩa khi  $p < 0,05$ .

### III. KẾT QUẢ

#### 1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp

Chuột nhất trắng được uống dung dịch EATWELLB từ liều thấp nhất đến liều cao nhất. Lô chuột đã uống đến liều 0,25 mL/10 g, 3 lần trong 24 giờ dung dịch gốc. Theo dõi thấy EATWELLB ở các mức liều không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống thuốc thử.

**Bảng 1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp theo liều của dung dịch uống EATWELLB**

Lô chuột	n	Chế độ liều (mL dung dịch EATWELLB/kg)	Số lượng chuột chết	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	30 mL/kg	0	Không
Lô 2	10	45 mL/kg	0	Không
Lô 3	10	60 mL/kg	0	Không
Lô 4	10	75 mL/kg	0	Không

Kết quả Bảng 1 cho thấy: các lô chuột uống liều từ 30 mL dung dịch gốc/kg đến liều tối đa 75 mL dung dịch đậm đặc/kg không có biểu hiện độc tính cấp. Liều dung nạp tối đa của EATWELLB đến liều 75mL dung dịch gốc/kg trên chuột nhất (cao gấp 20,8 lần liều dùng dự kiến trên người) không gây biểu hiện độc tính cấp. Kết quả này cho thấy EATWELLB có độ an toàn cao.

#### 2. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn

##### Tình trạng chung của chuột

Trong thời gian thí nghiệm, chuột ở lô chứng sinh học và 2 lô uống thuốc thử hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, mắt sáng, phân khô. Không thấy biểu hiện gì đặc biệt ở cả 3 lô chuột trong suốt thời gian nghiên cứu.

**Bảng 2. Ảnh hưởng của EATWELLB đến thể cân nặng chuột**

Thời gian	Cân nặng (gam)		
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2
Trước uống thuốc thử	174,00 ± 18,38	185,00 ± 18,41	187,00 ± 20,03
Sau 2 tuần uống thuốc thử	197,00 ± 28,69	202,00 ± 18,14	201,00 ± 26,01
p trước - sau	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Sau 4 tuần uống thuốc thử	208,00 ± 25,30	228,00 ± 38,53	209,00 ± 33,15
p trước - sau	< 0,05	< 0,05	< 0,05

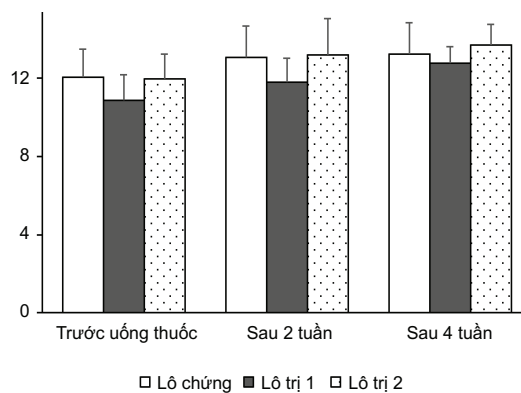
Kết quả ở Bảng 2 cho thấy: sau 2 tuần và 4 tuần uống sản phẩm thử, cân nặng chuột ở cả 3 lô (lô chứng và 2 lô trị) đều tăng so với trước khi nghiên cứu. Không có sự khác biệt về mức độ gia tăng cân nặng giữa lô chứng sinh học và các lô trị ( $p > 0,05$ ).

**Đánh giá chức năng tạo máu****Bảng 3. Ảnh hưởng của EATWELLB đến số lượng hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu**

	Thời gian	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)
Số lượng hồng cầu (T/l)	Trước uống (a)	9,27 ± 1,17	8,44 ± 1,76	8,64 ± 1,40
	Sau 2 tuần (b)	9,27 ± 0,99	8,29 ± 1,69	8,50 ± 1,01
	Sau 4 tuần (c)	9,31 ± 1,22	9,18 ± 1,32	9,02 ± 1,80
	$p_{2-1} > 0,05, p_{3-1} > 0,05, p_{b-a} > 0,05, p_{c-a} > 0,05$			
Hàm lượng huyết sắc tố (g/dl)	Trước uống (a)	13,31 ± 1,61	12,49 ± 2,73	12,85 ± 2,11
	Sau 2 tuần (b)	13,76 ± 1,42	12,32 ± 2,38	12,38 ± 1,66
	Sau 4 tuần (c)	13,25 ± 1,37	12,58 ± 2,42	12,08 ± 2,54
	$p_{2-1} > 0,05, p_{3-1} > 0,05, p_{b-a} > 0,05, p_{c-a} > 0,05$			
Hematocrit (%)	Trước uống (a)	47,31 ± 5,24	40,71 ± 9,73	43,43 ± 7,60
	Sau 2 tuần (b)	47,06 ± 5,13	43,88 ± 2,53	43,48 ± 3,51
	Sau 4 tuần (c)	46,38 ± 5,32	45,06 ± 6,79	41,86 ± 9,55
	$p_{2-1} > 0,05, p_{3-1} > 0,05, p_{b-a} > 0,05, p_{c-a} > 0,05$			
Thể tích trung bình hồng cầu (fl)	Trước uống (a)	51,10 ± 3,63	47,70 ± 4,95	50,40 ± 4,25
	Sau 2 tuần (b)	50,90 ± 2,42	49,10 ± 5,30	48,60 ± 4,45
	Sau 4 tuần (c)	49,90 ± 1,66	47,60 ± 5,06	48,30 ± 4,52
	$p_{2-1} > 0,05, p_{3-1} > 0,05, p_{b-a} > 0,05, p_{c-a} > 0,05$			

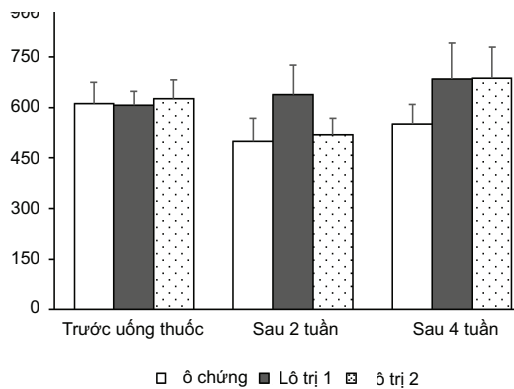
Kết quả ở Bảng 3 cho thấy: Sau 2 tuần và 4 tuần uống thuốc thử, số lượng hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu ở 2 lô trị đều không có sự khác

biệt so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống sản phẩm thử ( $p > 0,05$ ).



**Biểu đồ 1. Ảnh hưởng của EATWELLB đến số lượng bạch cầu**

Kết quả ở Biểu đồ 1 và 2 cho thấy: Sau 2 tuần và 4 tuần uống thuốc thử, số lượng bạch cầu và số lượng tiểu cầu ở cả 2 lô trị đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và



**Biểu đồ 2. Ảnh hưởng của EATWELLB đến số lượng tiểu cầu**

so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống sản phẩm thử ( $p > 0,05$ ).

**Đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan và chức năng gan**

**Bảng 4. Ảnh hưởng của EATWELLB đến hoạt độ AST (GOT) và ALT (GPT) trong máu chuột**

	Thời gian	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)
Hoạt độ AST (U/l)	Trước uống (a)	125,80 ± 23,91	124,00 ± 17,93	129,90 ± 14,67
	Sau 2 tuần (b)	105,40 ± 16,95	109,30 ± 23,35	116,20 ± 16,69
	Sau 4 tuần (c)	113,10 ± 25,89	115,90 ± 11,62	125,00 ± 10,07
$p_{2-1} > 0,05, p_{3-1} > 0,05, p_{b-a} > 0,05, p_{c-a} > 0,05$				
Hoạt độ ALT (U/l)	Trước uống (a)	47,60 ± 6,10	49,60 ± 7,90	50,30 ± 10,72
	Sau 2 tuần (b)	42,30 ± 7,86	44,20 ± 7,18	48,40 ± 11,47
	Sau 4 tuần (c)	53,40 ± 11,42	58,50 ± 11,37	59,30 ± 6,75
$p_{2-1} > 0,05, p_{3-1} > 0,05, p_{b-a} > 0,05, p_{c-a} > 0,05$				

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy: Sau 2 tuần và 4 tuần uống thuốc thử, hoạt độ AST và ALT trong máu chuột ở cả 2 lô trị đều không có sự khác

biệt so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống sản phẩm thử ( $p > 0,05$ ).

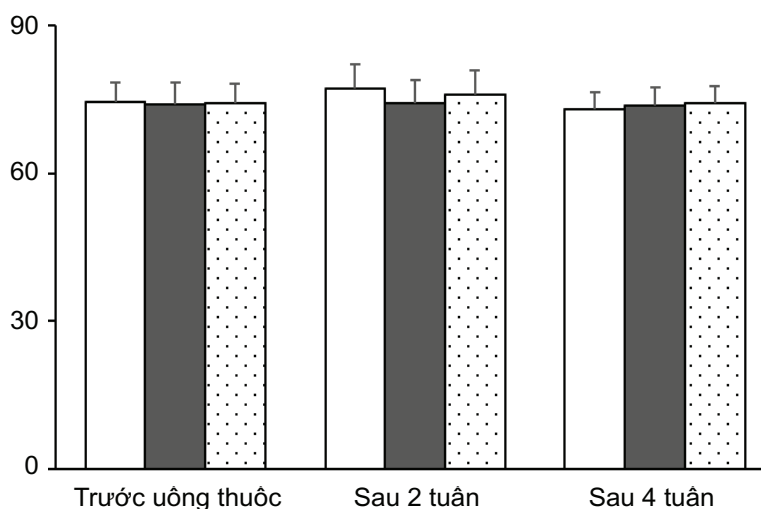
**Bảng 5. Ảnh hưởng của EATWELLB đến nồng độ bilirubin toàn phần, nồng độ albumin, nồng độ cholesterol toàn phần trong máu chuột**

	Thời gian	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)
<i>Bilirubin toàn phần (mmol/l)</i>	Trước uống (a)	9,26 ± 0,67	9,25 ± 0,64	9,05 ± 0,57
	Sau 2 tuần (b)	9,24 ± 0,70	9,75 ± 0,72	9,59 ± 0,66
	Sau 4 tuần (c)	8,90 ± 0,60	9,05 ± 0,43	9,16 ± 0,69
$p_{2-1} > 0,05, p_{3-1} > 0,05, p_{b-a} > 0,05, p_{c-a} > 0,05$				
<i>Albumin (g/dL)</i>	Trước uống (a)	3,54 ± 0,23	3,50 ± 0,19	3,38 ± 0,32
	Sau 2 tuần (b)	3,72 ± 0,41	3,48 ± 0,30	3,36 ± 0,46
	Sau 4 tuần (c)	3,40 ± 0,23	3,33 ± 0,28	3,26 ± 0,22
$p_{2-1} > 0,05, p_{3-1} > 0,05, p_{b-a} > 0,05, p_{c-a} > 0,05$				
<i>Cholesterol toàn phần (mg/dL)</i>	Trước uống (a)	54,83 ± 10,81	51,41 ± 9,41	51,09 ± 8,69
	Sau 2 tuần (b)	49,60 ± 7,23	52,63 ± 11,05	44,04 ± 8,43
	Sau 4 tuần (c)	46,32 ± 8,14	45,40 ± 10,59	43,65 ± 7,17
$p_{2-1} > 0,05, p_{3-1} > 0,05, p_{b-a} > 0,05, p_{c-a} > 0,05$				

Kết quả ở Bảng 5 cho thấy: Tại tất cả các thời điểm nghiên cứu, nồng độ bilirubin toàn phần, albumin, cholesterol toàn phần ở cả 2 lô

trị đều không có sự khác biệt so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống sản phẩm thử ( $p > 0,05$ ).

#### **Đánh giá chức năng thận**

**Biểu đồ 3. Ảnh hưởng của EATWELLB đến nồng độ creatinin**

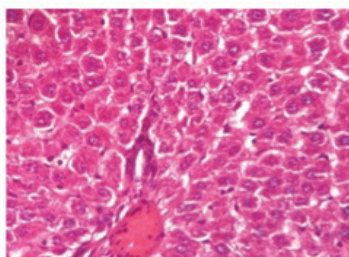
Kết quả ở Biểu đồ 3 cho thấy: Tại tất cả các thời điểm nghiên cứu, ở cả 2 lô trị, nồng độ creatinin trong máu chuột không có sự thay đổi khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống sản phẩm thử ( $p > 0,05$ ).

#### Hình ảnh giải phẫu vi thể

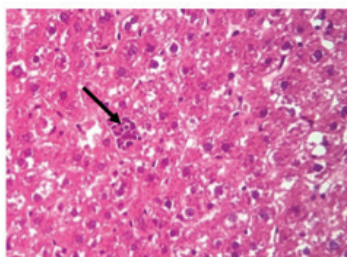
Mức độ tổn thương gan là tương tự nhau

giữa các lô nghiên cứu với hình ảnh tổn thương chủ yếu là thoái hoá nước mức độ rất nhẹ đến nhẹ. Cấu trúc nhu mô thận bình thường, hình ảnh tổn thương chủ yếu là thoái hoá nước tế bào ống thận mức độ nhẹ.

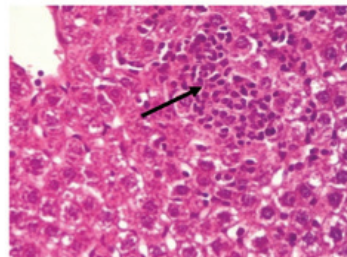
Hình ảnh vi thể gan và thận sau 4 tuần uống dung dịch EATWELLB (nhuộm HE, x400)



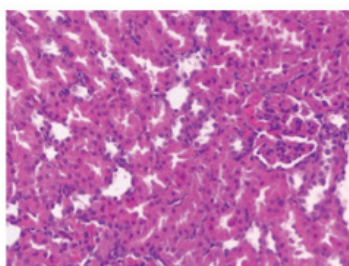
Lô chứng (chuột 09)  
Nhu mô gan bình thường



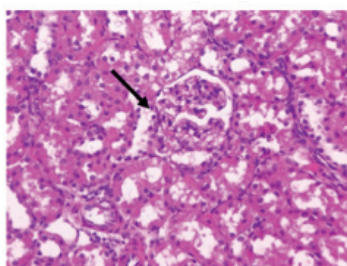
Lô trị 1 (chuột 30)  
Nhu mô gan thoái hóa  
mức độ nhẹ



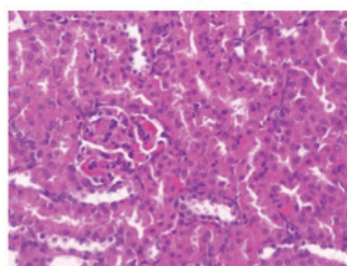
Lô trị 2 (chuột 19)  
Nhu mô gan thoái hóa  
mức độ nhẹ



Lô chứng (chuột 09)  
Nhu mô thận bình thường



Lô trị 1 (chuột 30)  
Nhu mô thận thoái hóa  
mức độ nhẹ



Lô trị 2 (chuột 19)  
Nhu mô thận bình thường

**Hình 1. Hình ảnh vi thể gan và thận sau 4 tuần uống dung dịch EATWELLB**

## IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu tiến hành đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn theo đường uống của dung dịch EATWELLB trên chuột cống trắng sau 4 tuần liên tục uống thuốc thử. Kết quả nghiên cứu cho thấy liều dung nạp tối đa của EATWELLB là 75 mL dung dịch gốc/kg không gây biểu hiện độc tính cấp. Chưa xác định được  $LD_{50}$  trên chuột nhắt trắng của dung dịch EATWELLB theo đường uống. Ngoài ra, dung dịch EATWELLB liều 1,8 mL/kg và 5,4

mL/kg trong 4 tuần liên tục không gây độc tính bán trường diễn trên động vật thực nghiệm.

### 1. Nghiên cứu độc tính cấp

Nghiên cứu độc tính cấp của sản phẩm thử nhằm theo dõi và đánh giá tất cả những dấu hiệu bất thường ở động vật thí nghiệm sau khi dùng thuốc thử và tiến hành xác định  $LD_{50}$  tức liều gây chết 50% số chuột theo phương pháp Litchfield-Wilcoxon.<sup>6</sup> Như vậy, nghiên cứu độc tính cấp cung cấp thông tin cho việc xếp loại

mức độ độc của thuốc thử, dự đoán triệu chứng và dự kiến biện pháp điều trị ngộ độc cấp, đồng thời thiết lập mức liều cho thử nghiệm độc tính khác, nghiên cứu tác dụng cũng như phạm vi an toàn của sản phẩm nghiên cứu trong các thử nghiệm tiếp theo. Kết quả của nghiên cứu chỉ ra rằng liều dung nạp tối đa của EATWELLB cao gấp 20,8 lần liều dùng dự kiến trên lâm sàng mà không gây biểu hiện độc tính cấp trên chuột, không gây chết trên chuột do vậy chưa thể xác định LD<sub>50</sub> của chế phẩm theo đường uống trên chuột nhắt trắng.

## 2. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn

Trong nghiên cứu độc tính bán trường diễn, tình trạng chung của chuột là chỉ số bắt buộc phải được đánh giá.<sup>7</sup> Trong thời gian thí nghiệm, chuột cống ở lô uống EATWELLB hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, mắt sáng, lông mượt, ăn uống tốt, phân khô. Cân nặng chuột của chuột ở hai lô trị đều tăng so với trước khi nghiên cứu. Sau 4 tuần uống thuốc thử, các cơ quan như tim, phổi, gan, lách, tụy, thận và hệ tiêu hóa của chuột đều không phát hiện tổn thương. Như vậy, EATWELLB không ảnh hưởng tới thể trạng chung và mức độ tăng trưởng của chuột khi uống thuốc liên tục trong 4 tuần, kể cả lô chuột uống EATWELLB cao gấp 3 lần liều điều trị. Ngoài ra, máu là một tổ chức quan trọng, liên quan mật thiết với mọi cơ quan trong cơ thể. Nếu thuốc thử có ảnh hưởng đến cơ quan tạo máu thì trước hết các thành phần của máu sẽ bị thay đổi. Theo Tổ chức Y tế Thế giới, đánh giá được càng nhiều thông số của máu càng có khả năng đánh giá chính xác độc tính của thuốc.<sup>7,8</sup> Kết quả nghiên cứu này cho thấy số lượng hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố, thể tích trung bình hồng cầu, hematocrit, số lượng bạch cầu, số lượng tiểu cầu của chuột cống ở cả hai lô trị đều trong giới hạn bình thường, thay đổi không có ý nghĩa so với trước khi dùng thuốc thử và so với lô chứng ở thời

điểm sau 4 tuần uống liên tục. Như vậy, có thể kết luận rằng EATWELLB không ảnh hưởng đến hệ thống tạo máu.

Ngoài ra, gan là cơ quan có vai trò rất quan trọng trong cơ thể, đảm nhận nhiều chức năng phức tạp, đặc biệt là các quá trình chuyển hóa. 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 thì nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc thử đối với chức năng gan là cần thiết. Để đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan, nồng độ các enzym có nguồn gốc tại gan trong huyết thanh được định lượng. Sự tăng nồng độ các enzym ALT và AST thường gắn liền với độc tính của thuốc do sự hủy hoại tế bào gan.<sup>7</sup> Kết quả nghiên cứu cho thấy, hoạt độ hai enzym này ở cả 2 lô trị đều nằm trong giới hạn bình thường và không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng. Như vậy, EATWELLB không gây hủy hoại tế bào gan. Kết quả này phù hợp với đánh giá vi thể gan chuột cống sau 4 tuần uống thuốc thử. Hình ảnh vi thể gan của lô trị không có sự khác biệt rõ rệt so với lô chứng sinh học thông qua việc quan sát các tổn thương mô bệnh học về hoạt hoá tế bào kupffer, giãn xoang gan, không bào trong bào tương, thoái hoá nước, nhân tan, nhân vỡ. Mặt khác, gan có một hệ thống các enzym chuyển hoá rất phong phú cho quá trình tổng hợp và thoái hoá protein, lipid... Gan là cơ quan chính tạo ra albumin, một số globulin và các yếu tố đông máu. Định lượng albumin trong máu có vai trò chẩn đoán và tiên lượng bệnh gan.<sup>9</sup> Trong nghiên cứu này, hàm lượng albumin trong máu của chuột cống ở hai lô trị sau 4 tuần dùng thuốc thử không thay đổi so với trước dùng thuốc và không khác biệt so với lô chứng, chứng tỏ EATWELLB ở cả hai liều không làm ảnh hưởng tới khả năng tổng hợp protein của gan. Hơn nữa, gan tạo ra mật, bài tiết mật vào tá tràng, tham gia vào quá trình tiêu



hoá. Xét nghiệm bilirubin trong máu để thăm dò chức năng bài tiết và chuyển hoá mật của gan thường chính xác và dễ thực hiện.<sup>7</sup> Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng nồng độ bilirubin toàn phần ở lô chuột uống EATWELLB không có sự khác biệt so với trước khi dùng thuốc thử và so với lô chứng sau 4 tuần uống thuốc thử liên tục. Điều này cho thấy dung dịch EATWELLB không ảnh hưởng đến chức năng bài tiết và chuyển hoá mật của gan. Mặt khác, gan còn tham gia vào quá trình tổng hợp và chuyển hoá lipid. Cholesterol là một thành phần của mật, được gan tổng hợp, ester hoá và thải ra ngoài.<sup>9</sup> Vì vậy, có thể dùng xét nghiệm định lượng cholesterol để đánh giá chức năng chuyển hoá lipid của gan. Kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ cholesterol toàn phần trong máu chuột ở lô uống dung dịch EATWELLB không có sự khác biệt so với trước khi dùng thuốc và so với lô chứng sau 4 tuần uống thuốc thử liên tục.

Thận là cơ quan bài tiết của cơ thể. Nhu mô thận rất dễ bị tổn thương bởi các chất nội sinh và ngoại sinh.<sup>7</sup> Khi đưa thuốc vào cơ thể, phần lớn thuốc được đào thải qua thận và có thể làm tổn thương thận, từ đó ảnh hưởng đến chức năng thận. Đánh giá chức năng thận sau khi dùng thuốc, thường dùng xét nghiệm định lượng creatinin máu. Creatinin là thành phần đậm 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.<sup>9</sup> Vì vậy, creatinin máu là chỉ tiêu tin cậy và quan trọng hơn ure máu, được dùng để đánh giá và theo dõi chức năng thận.<sup>7</sup> Kết quả của nghiên cứu cho thấy creatinin trong máu chuột cống sau 4 tuần uống EATWELLB ở cả hai liều đều không có sự thay đổi so với trước khi dùng thuốc và so với lô chứng. Ngoài ra, kết quả vi thể của chuột ở lô trị cho thấy không có sự khác biệt về hình

ảnh vi thể thận của chuột giữa các lô nghiên cứu về trụ hạt, trụ tế bào, trụ protein, tế bào nhân đông. Như vậy, EATWELLB dùng đường uống liên tục trong vòng 4 tuần trên chuột cống trắng không ảnh hưởng đến chức năng thận.

Kết quả của nghiên cứu này tương tự như kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn đường uống đã được công bố của một số thành phần trong sản phẩm nghiên cứu. L-Lysin là một amino acid cần thiết cho người và động vật. Theo Shoji Tsubuku và cộng sự, L-Lysin với mức liều đường uống 1,25; 2,5; 5% không gây độc tính trên chuột cống chủng *Sprague-Dawley* sau 13 tuần.<sup>10</sup> Ngoài ra, beta-glucan cũng đã được chứng minh an toàn khi sử dụng trên chuột cống chủng *Sprague-Dawley* sau khi dùng đường uống với liều 500, 1000 và 2000 mg/kg trong 90 ngày.<sup>11</sup> Hơn nữa, digestin, một phối hợp gồm năm enzym tiêu hoá amylase, protease, lactase, lipase, cellulase, không làm thay đổi các thông số huyết học, sinh hoá và không ảnh hưởng đến dấu hiệu sinh tồn cũng như trọng lượng và chỉ số BMI của người tình nguyện trong một nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng.<sup>12</sup> Như vậy, dung dịch EATWELLB liều 1,8 mL/kg/ngày và 5,4 mL/kg/ngày không gây độc tính bán trường diễn trên động vật thực nghiệm sau 4 tuần uống thuốc thử liên tục.

## V. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của EATWELLB cho thấy liều tối đa có thể cho chuột uống của EATWELLB là 75mL dung dịch gốc/kg (cao gấp 20,8 lần liều dùng dự kiến trên người) không gây biểu hiện độc tính cấp. Chưa xác định được LD<sub>50</sub> trên chuột nhắt trắng của dung dịch EATWELLB theo đường uống. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn theo đường uống của EATWELLB liều 1,8 mL/kg/ngày và 5,4 mL/kg/ngày trong thời gian 4 tuần không gây độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Hoeken vD, Hans HW. Review of the burden of eating disorders: mortality, disability, costs, quality of life, and family burden. *Curent Opinion in Psychiatry*. 2020;33(6):521-527.
2. Cloetens L, Ulmius M, Johansson-Persson A, et al. Role of dietary beta-glucans in the prevention of the metabolic syndrome. *Nutrition Reviews*. 2012;70(8):444-458.
3. Nagaraj S. Loss of Appetite in Adult Patients: Effectiveness and Safety of an Appetite Stimulating Medication in an Open-Label, Investigator-Initiated Study in India. *Journal of Nutrition and Metabolism*. 2022;2022:2661912.
4. Dorato MA, Buckley LA. Toxicology testing in drug discovery and development. *Current Protocols in Toxicology* 2007; Chapter 19:Unit19.1.
5. OECD. Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation, acute oral toxicity. *Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assesment*. 2001;19.
6. Litchfield JT, Wilcoxon F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1949;96(2):99-113.
7. World Health Organization. *General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation*. WHO; Geneva, Switzerland 2000;35.
8. Nseabasi Etim. Haematological Parameters and Factors Affecting Their Values. *Agricultural Science*. 2014;2(1):37-47.
9. Kohn DF, Clifford CB. Biology and Diseases of Rats. *Laboratory Animal Medicine*. 2012;121-165.
10. Tsubuku S, Mochizuki M, Mawatari K, et al. Thirteen-week oral toxicity study of L-lysine hydrochloride in rats. *International journal of toxicology*. 2004;23(2):113-118.
11. Chen SN, Nan FH, Chen S, et al. Safety assessment of mushroom  $\beta$ -glucan: subchronic toxicity in rodents and mutagenicity studies. *Food and Chemical Toxicology*. 2011;49(11):2890-2898.
12. Majeed M, Majeed S, Nagabhushanam K, et al. Evaluation of the Safety and Efficacy of a Multienzyme Complex in Patients with Functional Dyspepsia: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Journal of Medicinal Food*. 2018;21(11): 1120-1128.

**Summary****EVALUATION OF ACUTE AND SUBCHRONIC TOXICITY OF EATWELLB IN EXPERIMENTAL ANIMALS**

The present study investigated the oral acute and subchronic toxicities of the EATWELLB solution in experimental animals. The acute toxicity was conducted using Swiss mice through oral administration, and LD<sub>50</sub> was determined by the Litchfield-Wilcoxon method. The subchronic toxicity was studied based on the guidance of the World Health Organization using Wistar rats. EATWELLB was administered orally at 1.8 mL/kg per day and 5.4 mL/kg per day over four weeks. Regarding acute toxicity, EATWELLB did not express acute toxicity in mice at the

highest dose used (75 ml/kg). Our findings showed that the maximum tolerated dose was 20.8 times higher than the expected human dose without symptoms of acute toxicity. LD<sub>50</sub> of EATWELLB could not be determined in mice. In terms of the subchronic toxicity, EATWELLB caused no significant change in general status, haematological examination, renal and hepatic function tests; in addition, it did not cause any change in the histology of the liver and kidney of experimental rats. Based on aforementioned results, we suggest that EATWELLB at 1.8 mL/kg per day and 5.4 mL/kg per day did not cause subchronic toxicity in experimental animals.

**Keywords:** EATWELLB, acute toxicity, subchronic toxicity, experimental animals.