DOI: https://doi.org/10.59294/HIUJS.32.2024.700

Đánh giá tính an toàn và tác dụng bảo vệ thận của viên nang bảo toàn thận được phối hợp từ dược liệu

Nguyễn Hoàng Minh[1,*], Trần Hoài Tâm[1], Lê Trần Nguyên Vũ[1] và Nguyễn Đình Phúc[2]

[1]Trung Tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh
[2]Công ty TNHH Y học cổ truyền Đại Hồng Phúc

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Tổn thương thận là biến chứng thường gặp ở bệnh nhân nội trú lâm sàng. Do đó, việc tìm ra các biện pháp can thiệp và điều trị mới, đặc biệt là có nguồn gốc tự nhiên, có ý nghĩa và ứng dụng lâm sàng cần được quan tâm. Mục tiêu: Nghiên cứu thử nghiệm độc tính cấp - độc tính bán trường diễn và tác dụng bảo vệ thận của viên bảo toàn thận (BTT) được phối từ các dược liệu ngưu tất, mạch môn, bạch hoa xà thiệt thảo, bán chi liên, thục địa, đỗ trọng. Phương pháp: Đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn được thực hiện theo Hướng dẫn của Quyết định số 141/QĐ-BYT ngày 27/10/2015 của Bộ Y tế. Nghiên cứu đánh giá tác dụng bảo vệ thận trên mô hình gây tổn thương thận của chuột nhắt bởi cisplatin. Kết quả: BTT không có độc tính ở liều D_{max}= 14.72 g/kg. BTT (1 viên/kg - 2 viên/kg) không gây ảnh hưởng đến AST-ALT, creatinine-ure, triglyceride-protein, công thức máu, mô học của gan- tim- thận. BTT (1 viên/kg - 2 viên/kg) không ảnh hưởng đến chức năng thận ở chuột bình thường; thể hiện tác dụng bảo vệ thận giúp tăng độ lọc cầu thận thông qua việc làm giảm creatinine-ure trong huyết tương; đồng thời giúp làm giảm quá trình peroxy hóa lipid tế bào thận thông qua việc làm giảm hàm lượng malondialdehyd trong thận và làm giảm tỷ lệ mô học thận bị viêm trên mô hình thực nghiệm gây suy thận ở chuột nhắt trắng bởi cisplatin. Kết luận: BTT không gây độc tính cấp và độc tính bán trường diễn trên động vật thử nghiệm. BTT có tác dụng bảo vệ thận trên mô hình thực nghiệm.

Từ khóa: *viên nang bảo toàn thận, cisplatin, bảo vệ thận, độc tính*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Năm 2024, WHO đã ước tính có khoảng 850 triệu người trên toàn thế giới mắc bệnh suy thận, hầu hết trong số họ sống ở các quốc gia có thu nhập thấp và trung bình thấp. Trái ngược với bệnh tim mạch, đột quỵ và bệnh hô hấp thì tỷ lệ tử vong do mắc bệnh suy thận đang gia tăng[1]. Suy thận biểu hiện sự suy giảm chức năng thận hoặc tốc độ lọc cầu thận dẫn đến tình trạng tăng nitơ máu hoặc sản xuất nước tiểu không đủ do lưu lượng máu đến thận giảm và tổn thương thận, viêm hoặc tắc nghẽn. Các nghiên cứu ở bệnh nhân mắc bệnh suy thận nặng hoặc nhiễm trùng huyết có tổn thương thận thì quá trình oxy hóa protein và màng tế bào thận tăng lên, tương quan với các dấu hiệu của chất trung gian gây viêm, chất trung gian gây oxy hóa và cytokine [2]. Xu hướng mới "phòng bệnh hơn tốt hơn chữa bệnh" và "chữa bệnh khi bệnh mới phát" bằng việc sử dụng các sản phẩm tự nhiên có nguồn gốc từ dược liệu ngày càng phổ biến hơn vì dược liệ có hiệu quả và tính an toàn, phù hợp với sinh lý của cơ thể người hơn so với thuốc hóa dược.

Ngưu tất (*Achyranthes bidentata*), mạch môn (*Ophiopogon japonicus*), bạch hoa xà thiệt thảo (*Hedyotis diffusa*), bán chi liên (*Scutellaria barbata*), thục địa (*Rehmannia glutinosa*), đỗ

Tác giả liên hệ: Nguyễn Hoàng Minh
Email: hoangminhtkd90@gmail.com

trọng (*Eucommia ulmoides*) là những dược liệu được sử dụng nhiều trong dân gian. ngưu tất bổ can thận, được sử dụng làm thuốc lợi tiểu chữa viêm cầu thận [3]. mạch môn có tác dụng nhuận phế, làm mát tim, thanh nhiệt, hoạt chất Ophiopogonin D của mạch môn có tác dụng cải thiện chức năng thận bằng cách ức chế stress oxy hóa và giảm viêm trên chuột bị gây tăng đường huyết bởi streptozotocin [4]. bạch hoa xà thiệt thảo có tác dụng chống viêm, được sử dụng trong nhiều bài thuốc chữa viêm thận cấp có phù, nước tiểu có albumin. bán chi liên có tác dụng lợi tiểu, tiêu sưng, chữa ung thư phổi, ung thư gan, ung thư trực tràng; có tác dụng cải thiện tình trạng rối loạn chức năng thận, giúp giảm đáng kể nồng độ cytokin gây viêm và giảm tổn thương ống thận trên mô hình gây tổn thương thận chuột bởi cisplatin [5]. thục địa được sử dụng rộng rãi ở các nước châu Á để điều trị các bệnh về thận, chứa các thành phần hóa học bao gồm sitosterol và mannitol; các thành phần khác bao gồm một lượng nhỏ strigmaterol, campesterol, catapol, rehmannin, 2-formyl-5-hydroxymethylfurane và rehmaglutin D; có tác dụng cải thiện tình trạng rối loạn chức năng thận ở chuột bị suy thận cấp do thiếu máu cục bộ; có tác dụng ức chế biểu hiện thụ thể angiotensin II và AT1 bằng cách điều chỉnh biểu hiện TGF-1 và collagen typ IV [6]. đỗ trọng có tác dụng bổ gan thận, dưỡng huyết; có tác dụng chống viêm, chống oxy hóa và bảo vệ gan và thận và được sử dụng làm thuốc để hạ huyết áp và lượng lipid và đường trong máu [7]. Nếu xét về tính thì bạch hoa xà thiệt thảo, bán chi liên có tính hàn, mạch môn tính vi hàn, thục địa tính vi ôn, đỗ trọng tính ôn, ngưu tất tính bình nên việc kết hợp tạo nên sự hài hòa trong công thức. thục địa quy kinh can, thận, tâm giúp tư âm, bổ huyết, ích tinh, tủy từ đó cải thiện chức năng thận và tăng cường sức khỏe, đây là vị thuốc được dùng phổ biến trong điều trị các chứng bệnh do thận hư theo y học cổ truyền. ngưu tất, đỗ trọng với tác dụng bổ can thận, mạnh gân cốt bổ trợ cho tác dụng chính của sản phẩm là bổ thận đồng thời hoạt huyết thông kinh, hạ áp giải quyết được nguyên nhân gây nên suy giảm chức năng thận như đàm thấp, tăng huyết áp. bạch hoa xà thiệt thảo, bán chi liên trong công thức không có tác dụng bổ thận mà tập trung vào giải quyết nguyên nhân gây nên suy giảm chức năng thận, tác dụng thanh nhiệt giải độc, lợi tiểu, tiêu ung tán kết, hóa ứ giúp giảm tình trạng ứ nước ở thận, viêm cầu thận (trong phạm vi chứng phù thũng theo y học cổ truyền). mạch môn dưỡng vị sinh tân, nhuận phế thanh tâm giúp bổ phế âm, thanh nhiệt ở tâm giữ vai trò như một vị thuốc bổ, tăng cường sức khỏe [3-7]. Do đó, nghiên cứu tiến hành đánh giá tính an toàn và tác dụng bảo vệ thận của viên nang bảo toàn thận được bào chế từ các hỗn hợp dược liệu ngưu tất, mạch môn, bạch hoa xà thiệt thảo, bán chi liên, thục địa, đỗ trọng với định hướng sản phẩm có tính an toàn khi sử dụng lâu dài và hiệu quả đối với bệnh lý suy thận trong tương lai.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Viên nang bảo toàn thận (BTT) được cung cấp bởi Cty TNHH Y học cổ truyền Đại Hồng Phúc (Lot#: 01N23, sản xuất ngày: 20/12/2023, thời gian hết hạn sử dụng: 20/12/2026, đạt tiêu chuẩn cơ sở, quy cách 1 lọ 60 viên); thành phần 1 viên nang cứng 750 mg chứa: bột ngưu tất 250 mg; bột mạch môn 250 mg; 200 mg cao hỗn hợp dược liệu (1:10) gồm: bạch hoa xà thiệt thảo 833 mg; bán chi liên 417 mg; thục địa 417 mg; đỗ trọng 333 mg và phụ liệu. Mẫu viên nang cứng bảo toàn thận được đóng gói trong lọ nhựa.

2.2. Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng đực (*Swiss albino*, 5-6 tuần tuổi) được cung cấp bởi Viện kiểm nghiệm thuốc TP.Hồ Chí Minh. Thể tích cho uống (p.o.), tiêm màng bụng (i.p.) là 10 mL/kg. Chuột được nuôi bằng thực phẩm viên được cung cấp bởi Cty Cổ phần Kinh doanh nông nghiệp quốc tế IBA, nước uống đầy đủ và được để ổn định (trong điều kiện nhiệt độ phòng 28 ± 2 $^{\circ}$C, độ ẩm tương đối 60 – 70%, ánh sáng đảm bảo 12 giờ tối/12 giờ sáng) ít nhất một tuần trước khi thử nghiệm. Thể tích cho uống (p.o.) là 10 ml/kg trọng lượng chuột.

2.3. Hóa chất, thuốc thử nghiệm- Thiết bị

Hóa chất- thuốc thử: Cisplatin, quercetin, acid thiobarbituric (Sigma, Mỹ); acid trichloroacetic (TCA-Merk, Đức). Các bộ kit định lượng creatinine-ure, AST-ALT , triglyceride, protein (Human Co. Ltd., Đức).

Thiết bị: Máy đo sinh hóa bán tự động Screen Master 3000 (Arezzo, Ý), cân phân tích Ohaus (Mỹ), máy ly tâm lạnh (Hermle- Đức), máy ly tâm Hettich (Đức), máy nghiền đồng thể T25 (Đức), máy đo pH (HI210- Hana), máy khuấy gia nhiệt (Arec-Velp), bể điều nhiệt (BH627-CE-Ovan), máy đo huyết học (SYSMEX-XN330, Nhật).

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Thử nghiệm độc tính cấp đường uống

Dựa theo tài liệu "Phương pháp xác định độc tính của thuốc" của tác giả Đỗ Trung Đàm và quy tắc 3R trong việc sử dụng động vật thí nghiệm, tiến hành cho chuột được nhịn đói qua đêm trước khi thử nghiệm. Thử nghiệm 10 chuột (gồm 5 con chuột đực+5 con chuột cái) được cho uống mẫu thử BTT với liều khởi đầu 14.72 g/kg với thể tích cho uống là 20 ml/kg thể trọng chuột. Theo dõi tỷ lệ chuột chết và hành vi của chuột trong 14 ngày sau khi uống mẫu thử. Nếu phân suất tử vong thấp là 0% thì xác định được liều D_{max}; nếu phân suất tử vong thấp là 100% thì tiếp tục rà tìm liều LD_{50}, nếu 0%<phân suất tử vong thấp<100% thì tiếp tục rà tìm liều LD_0 [8].

2.4.2. Thử nghiệm độc tính bán trường diễn

Thời gian khảo sát trên chuột nhắt trắng là hai tháng. Chuột được chia thành các lô: chứng (uống nước cất) và lô thử cho chuột uống BTT (1 viên/kg - 2 viên/kg), mỗi lô 10 con (5 đực+5 cái). Sau 1 tháng và 2 tháng cho uống mẫu, tiến hành lấy máu ở đuôi chuột để đánh giá các chỉ số sinh hóa như sau:

- Huyết học: số lượng hồng cầu, hemoglobin, số lượng bạch cầu, tiểu cầu.
- Thông số thuộc chức năng gan: men gan AST và ALT.
- Thông số thuộc chức năng thận: creatinine, urea.
- Thông số khác: triglycerid, protein.
- Giải phẫu đại thể các cơ quan: tim, gan, thận: tiến hành sau khi kết thúc thí nghiệm (30% tổng số chuột mỗi lô).

Các thông số huyết học được xác định bằng bằng máy SYSMEX-XN330 (Nhật.) Các thông số về sinh hóa gan-thận được xác định theo hướng dẫn của các bộ kit định lượng AST, ALT, creatinine, ure, triglyceride, protein (Human Co., Germany) và được đo bằng máy sinh hóa bán tự động Screen Master 3000 (Ý) [9].

2.4.3. Đánh giá tác dụng bảo vệ thận của BTT

Tiến hành phân các lô chuột thử nghiệm như bảng 1.

Các lô chuột cho uống các mẫu thử liên tục trong 8 ngày, tiêm màng bụng liều duy nhất cisplatin 15 mg/kg (i.p) ở ngày thứ 5. Vào ngày thứ 8, một giờ sau lần cho uống cuối cùng lấy máu đuôi chuột để định lượng creatinine- ure trong huyết tương dựa vào kit creatinine- ure (Human- Đức) bởi máy sinh hóa bán tự động screen master 3000. Sau đó chuột các lô được hy sinh, tách thận để định lượng hàm lượng malondialdehyd (MDA) trong thận chuột, giải phẫu mô học thận chuột. Hàm lượng MDA (nmol/g protein) được tính theo phương trình hồi quy chất chuẩn MDA (Sigma-Mỹ): $y = 0,0796x + 0,0035$ ($R^2 = 0,9992$) [10,11].

Bảng 1. Bố trí thử nghiệm tác dụng bảo vệ thận của mẫu thử

Nhóm	Lô (n = 8)
Cisplatin (-)	Chứng sinh lý
	BTT liều 2 viên/kg
Cisplatin (+)	Chứng bệnh lý
	BTT liều 1 viên/kg
	BTT liều 2 viên/kg
	Quercetin liều 30 mg/kg

(-): không tiêm màng bụng cisplatin liều 15 mg/kg
(+): tiêm màng bụng cisplatin liều 15 mg/kg

2.5. Đánh giá kết quả

Các số liệu được biểu hiện bằng giá trị trung bình: M ± SEM (Standard error of the mean – sai số chuẩn của giá trị trung bình) và được xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One – Way ANOVA và hậu kiểm bằng Student – Newman – Keuls test (phần mềm SigmaStat 3.5, USA). Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi $p < 0.05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả độc tính cấp đường uống

Sau khi cho chuột uống BTT liều 14.72 g/kg (liều đậm đặc có thể qua kim) thì chuột có biểu hiện đi làm chậm chạp. Gần 2 giờ sau khi uống BTT liều 14.72 g/kg, tất cả chuột thử nghiệm đều hoạt động bình thường; không phát hiện dấu hiệu bất thường nào (tiêu tiểu, ăn uống, hành vị,…). Theo dõi chuột trong 14 ngày ở điều kiện chăm sóc bình thường, kết quả cho thấy không có con chuột nào tử vong; chuột sống không có dấu hiệu bất thường nào. Như vậy, BTT không có độc tính cấp trên đường uống ở chuột với D_{max}= 14.72 g/kg/ngày (ở người trưởng thành 50 kg tương đương 83 viên/ngày, khối lượng bột trong viên 750 mg ± 7.5 %), từ đó suy ra liều an toàn cho chuột thử nghiệm dược lý D_s=1/5 D_{max}= 2.94 g/kg (tương đương 4 viên/kg). Nghiên cứu lựa chọn 2 liều thử nghiệm dược lý của BTT trên chuột nhắt trắng như sau: 1 viên/kg thể trọng chuột (~1/20 D_{max}) và 2 viên/kg (~1/10 D_{max}) (tương đương liều dự kiến dùng trên người: 4 viên/kg/ngày và 8 viên/kg/ngày).

3.2. Kết quả độc tính bán trường diễn

Sau 60 ngày uống mẫu thử, chuột ở các lô thử nghiệm đều hoạt động bình thường, ăn uống tốt, phân khô, lông mượt, không có chuột bị chết hoặc có dấu hiệu bất thường về hành vi.

Số lượng và chất lượng các tế bào máu phản ánh tình trạng của cơ quan tạo máu. Nếu mẫu thử tác động đến cơ quan tạo máu sẽ làm thay đổi số lượng và chất lượng các tế bào máu [12]. Kết quả bảng 2 cho thấy rằng, các lô thử uống BTT ở cả 2 liều thử nghiệm 1 viên/kg và 2 viên/kg đều có số lượng hồng cầu, hemoglobin, bạch cầu, tiểu cầu không khác biệt so với lô chứng cùng thời điểm khảo sát trong cùng 1 giới. Điều này cho thấy rằng, BTT (1 viên/kg-2 viên/kg) an toàn với chức năng tạo máu khi dùng kéo dài sau 60 ngày thử nghiệm.

Bảng 2. Chỉ số huyết học của các lô chuột thử nghiệm

Lô	Chứng sinh lý			BTT (1 viên/kg)			BTT (2 viên/kg)		
	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày
Giống đực (n=5)									
Số lượng Hồng cầu (triệu/µL)	9.29 ± 0.13	9.12 ± 0.28	9.43 ± 0.31	9.29 ± 0.17	9.69 ± 0.28	9.15 ± 0.17	9.13 ± 0.26	9.40 ± 0.30	9.12 ± 0.41
Hemoglobin (g/dL)	15.02 ± 0.27	14.72 ± 0.33	14.84 ± 0.20	14.98 ± 0.36	14.41 ± 0.24	14.32 ± 0.33	14.74 ± 0.34	14.84 ± 0.22	14.34 ± 0.39
Số lượng bạch cầu (nghìn/µL)	9.60 ± 0.28	9.77 ± 0.29	9.72 ± 0.28	9.99 ± 0.44	9.43 ± 0.37	9.65 ± 0.65	9.91 ± 0.48	9.99 ± 0.22	10.01 ± 0.48
Số lượng tiểu cầu (K/µL)	824.80 ± 19.36	821.00 ± 26.85	790.60 ± 36.94	811.60 ± 37.03	850.20 ± 33.58	821.80 ± 35.01	933.20 ± 29.19	816.80 ± 46.86	831.20 ± 35.58
Giống cái (n=5)									
Số lượng Hồng cầu (triệu/µL)	9.51 ± 0.22	9.64 ± 0.52	9.44 ± 0.28	9.35 ± 0.24	9.64 ± 0.18	9.54 ± 0.38	9.33 ± 0.39	9.58 ± 0.69	9.98 ± 0.36

Lô	Chứng sinh lý			BTT (1 viên/kg)			BTT (2 viên/kg)		
	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày
Giống cái (n=5)									
Hemoglobin (g/dL)	14.58 ± 0.30	14.54 ± 0.23	14.82 ± 0.38	14.90 ± 0.69	15.16 ± 0.62	14.18 ± 0.55	15.36 ± 0.50	14.88 ± 0.44	14.72 ± 0.55
Số lượng bạch cầu (nghìn/µL)	9.58 ± 0.60	9.28 ± 0.41	10.27 ± 0.32	9.95 ± 0.68	9.91 ± 0.45	10.30 ± 0.48	9.51 ± 0.16	9.34 ± 0.14	10.01 ± 0.47
Số lượng tiểu cầu (K/µL)	789.20 ± 8.78	773.20 ± 21.64	800.00 ± 8.22	809.80 ± 33.24	836.00 ± 29.39	834.20 ± 51.22	821.00 ± 17.10	839.20 ± 47.98	779.20 ± 18.10

Bảng 3. Các chỉ số sinh hóa và trọng lượng cơ thể của các lô chuột thử nghiệm

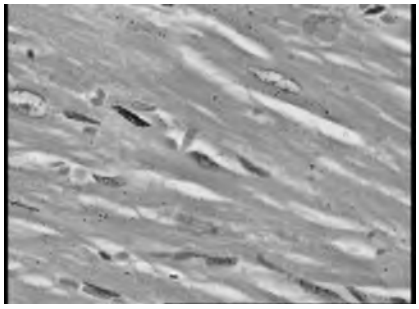
Lô	Chứng sinh lý			BTT (1 viên/kg)			BTT (2 viên/kg)		
	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày
Giống đực (n=5)									
AST (U/L)	44.40 ± 1.75	43.20 ± 1.62	46.00 ± 1.30	42.20 ± 1.02	45.60 ± 3.26	46.40 ± 1.91	44.20 ± 1.11	45.80 ± 2.71	47.80 ± 2.35
ALT (U/L)	44.20 ± 0.73	45.20 ± 2.62	44.80 ± 1.28	42.40 ± 1.29	45.00 ± 2.53	47.60 ± 3.33	46.20 ± 1.77	48.80 ± 3.07	48.00 ± 1.79
Creatinine (mg/dL)	0.72 ± 0.04	0.70 ± 0.03	0.72 ± 0.04	0.70 ± 0.03	0.70 ± 0.03	0.70 ± 0.04	0.70 ± 0.03	0.68 ± 0.04	0.72 ± 0.04
Ure (mg/dL)	7.72 ± 0.26	7.10 ± 0.21	7.02 ± 0.35	7.08 ± 0.12	7.20 ± 0.14	7.02 ± 0.27	7.14 ± 0.25	7.18 ± 0.32	7.00 ± 0.17
Triglyceride (mg/dL)	110.40 ± 2.16	125.40 ± 3.89*	129.20 ± 3.56*	105.60 ± 2.23	125.80 ± 2.62*	127.60 ± 2.20*	113.40 ± 3.01	127.20 ± 2.85*	130.40 ± 1.94*
Protein (mg/dL)	6.52 ± 0.10	6.54 ± 0.10	6.80 ± 0.10	6.98 ± 0.07	7.06 ± 0.11	6.98 ± 0.20	6.84 ± 0.11	6.96 ± 0.13	6.98 ± 0.06
Trọng lượng cơ thể chuột (g)	24.80 ± 0.49	34.20 ± 1.66*	36.60 ± 1.36*	26.40 ± 0.51	32.60 ± 0.24*	35.00 ± 0.32*	25.20 ± 0.37	32.20 ± 1.11*	37.20 ± 1.20*
Giống cái (n=5)									
AST (U/L)	44.60 ± 1.86	45.00 ± 1.92	48.00 ± 2.35	46.60 ± 1.89	47.80 ± 1.24	45.80 ± 1.83	47.00 ± 1.64	44.60 ± 1.81	44.40 ± 1.63
ALT (U/L)	42.60 ± 1.40	47.60 ± 3.87	46.40 ± 2.56	46.40 ± 0.81	47.40 ± 2.73	43.80 ± 1.80	45.00 ± 2.12	46.20 ± 1.16	48.20 ± 1.08
Creatinine (mg/dL)	0.64 ± 0.05	0.68 ± 0.02	0.70 ± 0.03	0.72 ± 0.06	0.68 ± 0.04	0.70 ± 0.03	0.66 ± 0.02	0.68 ± 0.06	0.70 ± 0.03
Ure (mg/dL)	6.44 ± 0.05	6.50 ± 0.15	6.70 ± 0.23	6.58 ± 0.16	6.66 ± 0.14	6.62 ± 0.10	6.54 ± 0.12	6.70 ± 0.13	6.60 ± 0.16
Triglyceride (mg/dL)	100.00 ± 4.30	121.40 ± 3.12*	130.00 ± 2.14*	100.20 ± 2.63	121.40 ± 3.12*	130.40 ± 2.48*	96.40 ± 3.49	123.0 ± 3.74*	128.00 ± 2.70*

Lô	Chứng sinh lý			BTT (1 viên/kg)			BTT (2 viên/kg)		
	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày
Giống cái (n=5)									
Protein (mg/dL)	6.54 ± 6.76	6.76 ± 0.13	6.88 ± 0.14	6.46 ± 0.14	6.80 ± 0.08	6.60 ± 0.15	6.62 ± 0.12	6.70 ± 0.14	6.84 ± 0.12
Trọng lượng cơ thể chuột (g)	24.20 ± 0.58	30.80 ± 1.28*	35.60 ± 0.68*	23.40 ± 0.60	28.00 ± 0.71*	34.40 ± 0.75*	23.40 ± 0.51	24.20 ± 0.49*	35.20 ± 0.49*

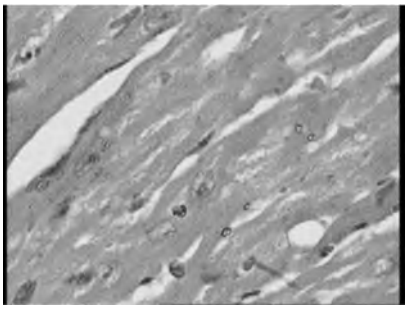
(*) p < 0.05 so với trước thử nghiệm, cùng lô thử nghiệm và cùng giới

Kết quả Bảng 3 cho thấy rằng, các lô thử uống BTT ở cả 2 liều thử nghiệm 1 viên/kg và 2 viên/kg đều có AST- ALT, nồng độ ure- creatinine, hàm lượng protein trong huyết tương không khác biệt so với lô chứng cùng thời điểm khảo sát trong cùng 1 giới. Trọng lượng cơ thể và hàm lượng triglyceride của lô chuột đực/cái uống BTT liều 1 viên/kg – 2 viên/kg sau 30 ngày-60 ngày khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với thời điểm trước thử nghiệm (*p<0.05*), nhưng không khác biệt so với lô chứng cùng thời điểm khảo sát tương ứng và vẫn ở trong giới hạn bình thường (71-164 mg/dL) [12]. Điều này cho thấy rằng BTT (1 viên/kg – 2 viên/kg) cũng không ảnh hưởng tới chức năng hoạt độ men gan AST-ALT, nồng độ creatinine-ure, hàm lượng triglyceride- protein trong huyết tương và không ảnh hưởng trên sự phát triển bình thường về thể trọng của chuột đực và chuột cái sau 60 ngày thử nghiệm.

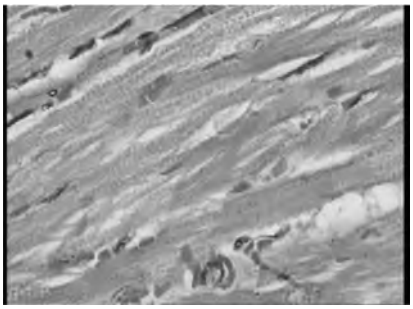
Kết quả giải phẫu mô học (Hình 1) cho thấy sau 60 ngày chuột uống BTT liều 1 viên/kg và 2 viên/kg có cấu trúc vi thể gan, tim, thận không có sự khác biệt so với lô chứng: mô tim trong giới hạn bình thường, không thấy có sự tổn thương tế bào nội mô mạch máu, không thấy xơ hóa mô kẽ cơ tim cũng như sung huyết; không có viêm mô kẽ thận, tế bào ống thận đều bình thường; mô gan ở không có hiện tượng thoái hóa mỡ, thoái hóa nước, hoại tử tế bào gan- vôi hóa ống mật; có viêm mức độ nhẹ ở tế bào viêm lympho bào, bạch cầu đa nhân nhưng chưa rõ nguyên nhân.



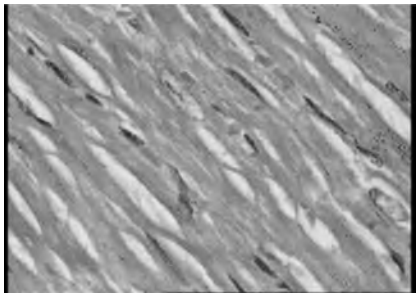
Mô tim chuột đực-
Lô sinh lý



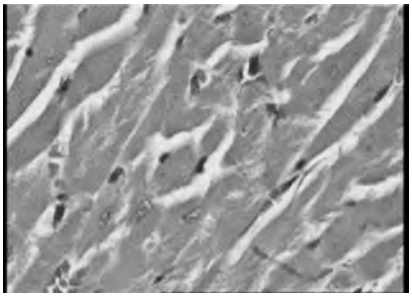
Mô tim chuột đực-
Lô BTT (1 viên/kg)



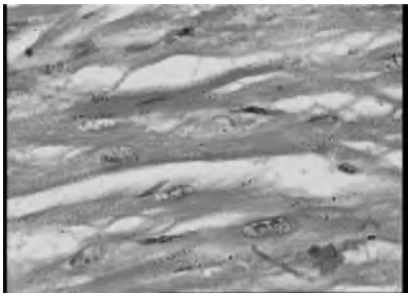
Mô tim chuột đực-
Lô BTT (2 viên/kg)



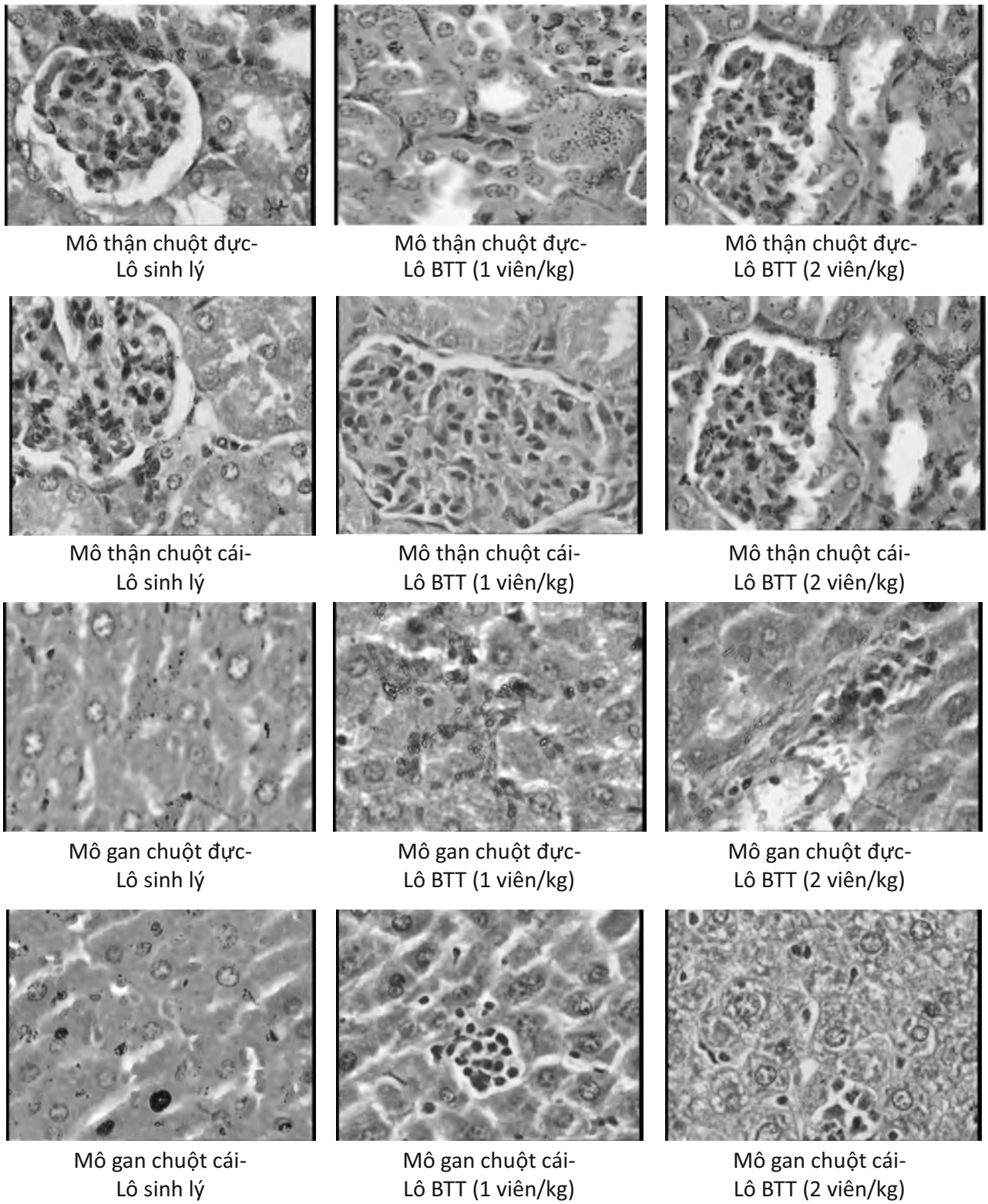
Mô tim chuột cái-
Lô sinh lý



Mô tim chuột cái -
Lô BTT (1 viên/kg)



Mô tim chuột cái-
Lô BTT (2 viên/kg)



Hình 1. Mô học tim- thận – gan của các lô thử nghiệm (X 40)

3.3. Kết quả tác dụng bảo vệ thận của BTT

Kết quả Bảng 4 cho thấy nồng độ creatinine-ure trong huyết tương, hàm lượng MDA trong dịch đồng thể thận và trọng lượng tương đối thận chuột của lô thử trên chuột bình thường (cisplatin (-)) uống BTT liều 2 viên/kg không có sự khác biệt so lô chứng sinh lý (*p=0.751; p=0.567; p=0.863; p=0.409; tương ứng)*, điều này cho thấy rằng BTT liều 2 viên/kg không ảnh hưởng đến nồng độ creatinine-ure trong huyết tương, hàm lượng MDA trong dịch đồng thể thận và trọng lượng tương đối thận chuột bình thường.

Bảng 4. Hàm lượng creatinine-ure trong huyết tương của các lô thử nghiệm

Nhóm	Lô (n=8)	Creatinine (mg/dL)	Ure (mg/dL)
Cisplatin (-)	Chứng sinh lý	0.70 ± 0.04	8.11 ± 0.37
	BTT liều 2 viên/kg	0.73 ± 0.04	8.49 ± 0.46
Cisplatin (+)	Chứng bệnh lý	1.38 ± 0.08***	13.14 ± 0.58***
	BTT liều 1 viên/kg	1.05 ± 0.05###	9.45 ± 0.42###
	BTT liều 2 viên/kg	0.95 ± 0.06###	9.08 ± 0.49###
	Quercetin liều 30 mg/kg	0.85 ± 0.06###	8.81 ± 0.42###

****p< 0.001: so với sinh lý cùng chỉ tiêu khảo sát; ###p< 0.001: so với bệnh lý cùng chỉ tiêu khảo sát.*

Nồng độ creatinine- ure trong huyết tương ở lô chứng bệnh lý tiêm cisplatin liều 15 mg/kg tăng 96.43%-61.93% tương ứng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý (*p<0.001)*, chứng tỏ có sự suy giảm chức năng thận chuột gây bởi cisplatin. Lô bệnh cho uống quercetin liều 30 mg/kg có nồng độ creatinine-ure trong huyết tương giảm 38.18%-32.92% tương ứng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý (*p< 0.001)*, quercetin có tác dụng đưa trị số nồng độ creatinine- ure trong huyết tương trở về mức bình thường khi so sánh với chứng sinh lý (*p=0.147; p=0.534;* tương ứng*)*.

Lô bệnh chuột cho uống BTT liều 1 viên/kg- 2 viên/kg đều có nồng độ creatinine và ure trong huyết tương giảm (23.64%-44.74% và 30.92%-39.02% tương ứng) đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý (*p< 0.001)*, điều này cho thấy BTT có độ lọc cầu thận tốt hơn so với lô chứng bệnh lý không điều trị thông qua khả năng bảo vệ thận giúp bài tiết creatinine- ure trong huyết tương ở chuột bị gây suy thận bởi cisplatin. Trong đó, BTT liều 2 viên/kg thể hiện tác dụng làm giảm cả nồng độ creatinine-ure trong huyết tương tương tự như quercetin liều 30 mg/kg (*p=0.209; p=0.689;* tương ứng*)*; BTT liều 1 viên/kg chỉ thể hiện tác dụng làm giảm nồng độ ure trong huyết tương tương tự như quercetin liều 30 mg/kg (*p=0.593;* tương ứng).

Bảng 5. Hàm lượng MDA trong của các lô thử nghiệm

Nhóm	Lô (n=8)	Hàm lượng MDA (nM/g protein)
Cisplatin (-)	Chứng sinh lý	107.08 ± 7.34
	BTT liều 2 viên/kg	109.39 ± 2.19
Cisplatin (+)	Chứng bệnh lý	204.83 ± 14.16***
	BTT liều 1 viên/kg	140.16 ± 12.21*,###
	BTT liều 2 viên/kg	103.49 ± 7.02###
	Quercetin liều 30 mg/kg	145.86 ± 8.47*,###

**p< 0.05: so với sinh lý cùng chỉ tiêu khảo sát; ***p< 0.001: so với sinh lý cùng chỉ tiêu khảo sát;###p< 0.001: so với bệnh lý cùng chỉ tiêu khảo sát.*

Kết quả Bảng 5 cho thấy lô chứng bệnh lý có hàm lượng MDA trong thận tăng 91.29% đạt ý nghĩa thống kê so với chứng sinh lý (*p<0.001),* chứng tỏ có sự tổn thương peroxy hóa lipid trong tế bào thận chuột bị gây ra bởi cisplatin. Lô bệnh cho uống quercetin liều 30 mg/kg có hàm lượng MDA tác dụng làm giảm 28.79% đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý (*p<0.001)*. Kết quả thử nghiệm cũng cho thấy lô chứng bệnh lý không điều trị có nồng độ creatinine-ure và hàm lượng MDA trong thận tăng khác biệt so với lô chứng sinh lý.

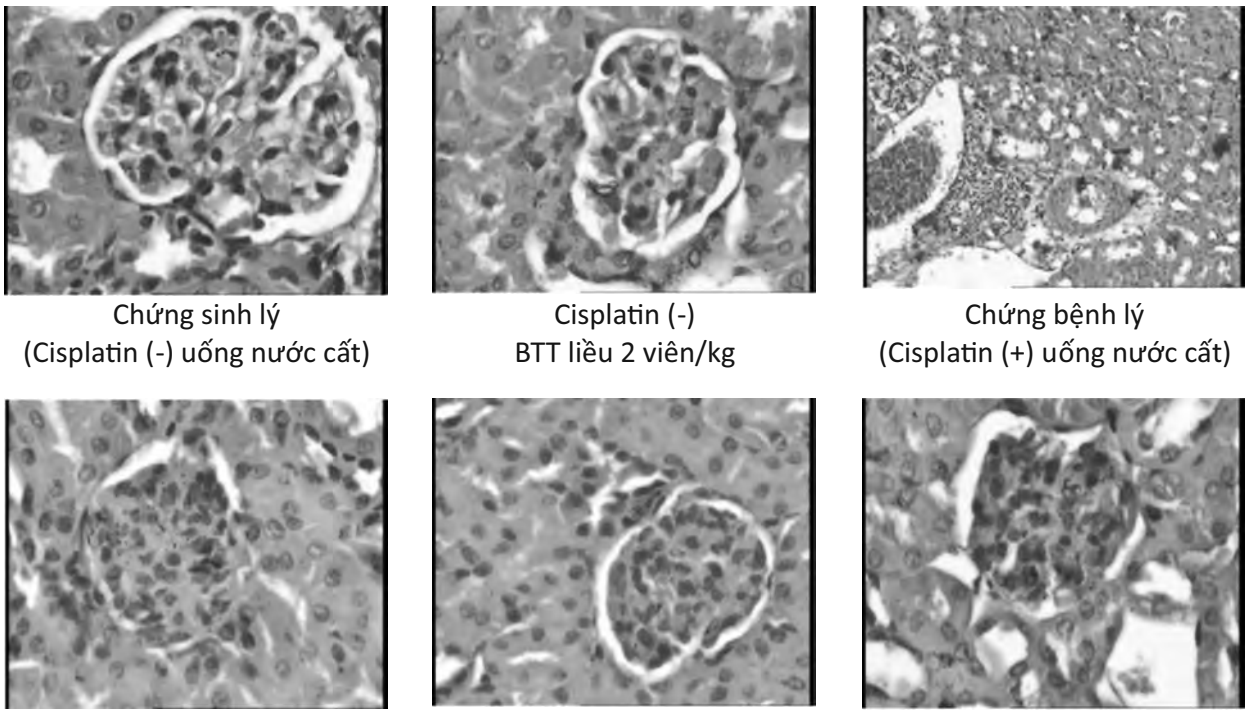
Lô bệnh cho uống BTT cả 2 liều 1 viên/kg- 2 viên/kg đều có hàm lượng MDA giảm 31.57%-49.48% đạt ý nghĩa thống kê so với chứng bệnh lý (*p< 0.001)*. Trong đó, BTT liều 2 viên/kg có tác

dụng làm giảm hàm lượng MDA trong thận tốt hơn BTT liều 1 viên/kg (*p=0.041*); thể hiện tác dụng chống peroxy hóa lipid tế bào thận tốt hơn quercetin liều 30 mg/kg (*p=0.022*); đưa trị số hàm lượng MDA trong thận trở về giá trị bình thường khi so sánh với chứng sinh lý (*p=0.788)* trên mô hình gây suy thận chuột nhắt trắng bằng cisplatin.

Bảng 6. Kết quả phân tích mô học thận chuột ở các lô thử nghiệm

Nhóm	Lô (n=3)	Tỷ lệ mất bờ bàn chải (%)	Tỷ lệ viêm mô kẽ thận (%)	Tỷ lệ xơ hóa cầu thận (%)	Tỷ lệ mô thận bình thường (%)
Cisplatin (-)	Chứng sinh lý	0	0	0	100
	BTT liều 2 viên/kg	0	0	0	100
Cisplatin (+)	Chứng bệnh lý	33.33 (1/3)	100 (3/3)	0	0
	BTT liều 1 viên/kg	0	33.33 (1/3)	0	66.67
	BTT liều 2 viên/kg	0	33.33 (1/3)	0	66.67
	Quercetin liều 30 mg/kg	0	0	0	100

Kết quả đánh giá mô học cho thấy rằng các lô thử nghiệm nhóm bình thường (cisplatin (-)) cho uống nước cất và cho uống BTT liều 2 viên/kg, lô bệnh cho uống quercetin liều 30 mg/kg đều có mô học thận nằm trong giới hạn bình thường. Lô chứng bệnh lý có tỷ lệ 100% mô thận bị viêm mô kẽ thận mức độ nhẹ, trong đó tỷ lệ 33.33% mô thận bị mất bờ bàn chải trên mô hình gây suy thận bởi cisplatin ở chuột nhắt trắng. Lô bệnh cho uống BTT ở cả 2 liều thử nghiệm đều có tỷ lệ mô thận bị viêm mô kẽ thận mức độ nhẹ thấp hơn so với lô chứng bệnh lý, không có trường hợp nào bị mất bờ bàn chải ở thận trên các mẫu khảo sát; điều này cho thấy BTT có tác dụng bảo vệ mô thận trước tác nhân gây suy thận bởi cisplatin ở chuột nhắt trắng.



Chứng sinh lý (Cisplatin (-) uống nước cất) | Cisplatin (-) BTT liều 2 viên/kg | Chứng bệnh lý (Cisplatin (+) uống nước cất)

Cisplatin (+) Quercetin liều 30 mg/kg | Cisplatin (+) BTT liều 1 viên/kg | Cisplatin (+) BTT liều 2 viên/kg

Hình 2. Hình mô học thận các lô thử nghiệm (x40)

4. BÀN LUẬN

Cisplatin được thải trừ chủ yếu qua thận và cisplatin tích lũy trong thận ở mức độ cao hơn các cơ quan khác dẫn đến cisplatin gây độc thận. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng tổn thương thận bắt đầu vài ngày sau khi tiêm cisplatin dẫn đến tình trạng nhiễm độc thận với sự gia tăng nồng độ creatinine, nitơ ure máu, tăng sản sinh các gốc tự do oxy (ROS), làm giảm hoạt tính các chất chống oxy hóa nội sinh (như catalase, superoxid dismutase, glutathion) dẫn đến tổn thương oxy hóa thận. Nồng độ creatinine- ure là chỉ tiêu đánh giá mức độ suy thận và malondialdehyd (MDA- một marker của tổn thương peroxy hóa lipid trong tế bào) được xem như là một dấu hiệu sinh học chính của tổn thương tế bào do stress oxy hóa [10, 13]. Kết quả nghiên cứu này cũng cho thấy rằng lô chuột bị gây độc bởi cisplatin mà không được điều trị có sự suy giảm chức năng thận. Quercetin có khả năng phục hồi chức năng thận bị tổn thương bởi cisplatin. Quercetin là chất chống oxy hóa mạnh giúp cơ thể chống lại các gốc tự do và phòng ngừa nhiều bệnh. Kết quả nghiên cứu cho thấy quercetin giúp làm giảm nồng độ creatinine-ure trong huyết tương, hàm lượng MDA trong thận trở về bình thường trên mô hình chuột bị gây tổn thương thận bằng cisplatin. Quercetin có khả năng chống lại các gốc tự do nên có tác dụng ngăn ngừa các bệnh lý mạn tính do mất cân bằng oxy hóa (stress oxy hóa) gây nên. Sanchaez –Gonzalez và cộng sự (2011) chứng minh rằng quercetin có tác dụng bảo vệ thận do các độc tố gây ra bởi thuốc chống ung thư cisplatin. Quercetin làm bài tiết NAG, LDh, ALP, KIM-1 và GGT giảm rõ rệt giúp giảm tổn thương ống thận [14].

Nghiên cứu cho thấy rằng viên nang bảo toàn thận được bào chế từ các hỗn hợp dược liệu ngưu tất, mạch môn, bạch hoa xà thiệt thảo, bán chi liên, thục địa, đỗ trọng có tác dụng làm giảm nồng độ creatinine- ure trong huyết tương và hàm lượng MDA trong thận trên mô hình thực nghiệm. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh ngưu tất có tác dụng ức chế quá trình peroxy hóa lipid tế bào và có tác dụng kháng viêm [15]. Hoạt chất Ophiopogonin D của mạch môn có tác dụng cải thiện chức năng thận bằng cách ức chế stress oxy hóa, ức chế hoạt động của NF-κB trong mô thận của chuột bị tổn thương thận, như được thể hiện bằng việc điều chỉnh giảm biểu hiện protein NF-κB và giảm viêm trên chuột bị gây tăng đường huyết bởi streptozotocin [4]. Gihyun Lee và cộng sự (2010) đã chứng minh bán chi liên có tác dụng điều hòa sự tăng creatinine và nitơ ure máu, làm giảm đáng kể sự giảm sản xuất TNF-α và các cytokin tiền viêm khác như IL-6 và IL-1β, đồng thời mô bệnh phẩm thận chuột được điều trị bởi bán chi liên ít tổn thương ống thận và cầu thận so với lô chứng không điều trị trên mô hình gây viêm thận chuột bởi cisplatin [5]. đỗ trọng rất giàu iridoid, flavonoid, lignan, phenolic, steroid, triterpen và nhiều hóa chất khác, trong đó các thành phần hoạt tính chính là rutin, hyperosid, acid chlorogenic, aucubin, quercetin, geniposid và kaempferol; giảm biểu hiện TLR4 ở thận, một loại protein liên quan đến tình trạng viêm thận [7]. Nghiên cứu này đã chứng minh được BTT phối hợp từ các dược liệu ngưu tất, mạch môn, bạch hoa xà thiệt thảo, bán chi liên, thục địa, đỗ trọng có tính an toàn vừa có tác dụng bảo vệ thận. Điều này đã giải quyết tính cấp thiết hiện nay trong việc hỗ trợ điều trị bệnh lý suy thận đang có xu hướng tăng cao như hiện nay.

5. KẾT LUẬN

Viên nang bảo toàn thận được phối hợp từ các dược liệu ngưu tất, mạch môn, bạch hoa xà thiệt thảo, bán chi liên, thục địa, đỗ trọng không gây độc tính cấp và độc tính bán trường diễn trên động vật thử nghiệm; thể hiện tác dụng bảo vệ thận trên mô hình thực nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] A. Francis, M.N. Harhay, A.C.M. Ong,..., J. Vivekanand, "Chronic kidney dise ase and the global public health agenda: an international consensus," *Nature Reviews Nephrology*, 20, pp 473–485, 2024.

[2] J.M., P.K.Witting, "Protective Role for Antioxidants in Acute Kidney Disease," *Nutrients*, *9*, 718, 2017.

[3] Đ. H. Bích, Đ.Q. Chung, B. X. Chương,..., T. Toàn, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam – Tập II*. Nxb Khoa học và Kỹ thuật, 430-435, 2004.

[4] Y. Qiao, H. Jiao, F. Wang, H. Niu, "Ophiopogonin D

of *Ophiopogon japonicus* ameliorates renal function by suppressing oxidative stress and inflammatory response in streptozotocin-induced diabetic nephropathy rats," *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 53(7), e9628, 2020.

[5] G. Lee, H. Kim, H. Lee, M. Shin, M. Hong, H. Bae, "Effects of *Scutellaria barbata* on cisplatin induced nephrotoxicity in mice," *Molecular & Cellular Toxicology*, 6, pp 255–259, 2010.

[6] B.C. Lee, J.B. Choi, H.J.Cho, Y.S. Kim, "Rehmannia glutinosa ameliorates the progressive renal failure induced by 5/6 nephrectomy, *Journal Ethnopharmacology*, 122(1), pp 131-135, 2009.

[7] M. Gong, H. Zhang, X. Liu, Li Q,..., Z. Wang, "Effect of *Eucommia ulmoides* leaves on hyperuricemia and kidney injury induced by a high-fat/high-fructose diet in rats," *Iran Jounal Basic Medicine Science*, 25(4), pp 527-535, 2022.

[8] Đ.T. Đàm, *Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc*. Nhà xuất bản Y học, 11-190, 2014.

[9] Bộ Y tế-Việt Nam, "Quyết định số 141/QĐ-K2ĐT về việc ban hành tài liệu chuyên môn Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc Đông y, thuốc từ Dược liệu," ngày 27/10/2015.

[10] S. Dasari, P. B. Tchounwou, "Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action," *European Journal of the Pharmacology*, 50, pp 364-437, 2014.

[11] N. T. T. Hương, M. T. Chung, N. N. Phụng, "Tác dụng bảo vệ thận của sâm Việt Nam chế biến trước độc tính trên thận của cisplatin," *Tạp chí Dược liệu*, 25 (2), 116 – 121, 2020.

[12] H.T.T. Ba, T.N. Dũng và T.T. Thuận, "Khảo sát độc tính bán trường diễn của cao chiết từ Nấm thượng hoàng (*Phellinus* sp.) hoang dại trên chuột nhắt trắng," *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam,* 1(86), 50-54, 2018.

[13] Arany, R.L. Safirstein, "Cisplatin nephrotoxicity," *Semin Nephrol*, 23(5), pp 460-464, 2003.

[14] P. D. Sanchez-Gonzalez, F.J.L. Hernandez, F.P.Barriocanal, A.I. Morales, J.M.L.Novoa1, "Quercetin reduces cisplatin nephrotoxicity in rats without compromising its anti-tumour activity," *Nephrol Dial Transplant*, 26, pp 3484–3495, 2011.

[15] Y.R.Chen, Y.S. Niu, H.L. Zhou, "*Achyranthes bidentata* Blume (Amaranthaceae): a review of its botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology," *Journal of Pharmacy and Pharmacology*,76, pp 930–966,2024.

Evaluation of safety and renal protective effects of bao toan than capsules mixed herbals

Nguyen Hoang Minh, Tran Hoai Tam,
Lê Tran Nguyen Vu and Nguyen Dinh Phuc

ABSTRACT

Background: Acute kidney injury is a common complication in clinical inpatients. Therefore, finding new interventions and treatments, especially of natural origin, is of remarkable clinical significance and application. Objective: Research conducted to evaluation of acute oral, semi-chronic toxicity and renal protective effects of bao toan than capsules mixed Achyranthes bidentata, Ophiopogon japonicus, Hedyotis diffusa, Scutellaria barbata, Rehmannia glutinosa, Eucommia ulmoides. Methods: Evaluation of acute toxicity and semi-chronic toxicity of BTT were conducted according to "Guidelines for Preclinical and Clinical Study of Traditional and Natural Medicines" approved by Ministry of Healthy- Vietnam (attached with Decision No.141/QĐ-K2ĐT dated on 27/10/2015. Besides, this study is to evaluate the protective effect of BTT against chemotherapy drugs-induced renal toxicity by using the models of cisplatin-induced acute nephrotoxicity. Results: BTT did not acute oral toxicity happened at the maximum dose Dmax=14,72 g/kg. The BTT (1 capsule/kg-2 capsule/kg) had no effect on general conditions, hematopoietic function.

No change in the liver, heart and kidney functions. Besides, BTT had no affect renal funtion in normal mice. The results showed that BTT (1 capsule/kg-2 capsule/kg) improved the renal damages which significantly decreased creatinine and urea levels in plasma, and inhibitory of renal cell lipid peroxidation through reduction of malondialdehyde (MDA) levels in renal tissue of cisplatin-subjected mice. Furthermore, it also reduced the incidence of renal histology inflammation in a cisplatin-induced renal failure model in mice. Conclusions: BTT did not cause acute toxicity and affect the hematopoietic in mice. BTT had renal protective effects on experimental animals.

Keywords: *bao toan than capsules, cisplatin, renal protective effects, toxicity*

Received: 22/10/2024
Revised: 20/11/2024
Accepted for publication: 22/11/2024