

2. Nước sạch & vệ sinh môi trường tại Việt Nam | UNICEF Việt Nam. 2020.

3. Bộ Y tế. Cao Bằng triển khai có hiệu quả chương trình Mở rộng quy mô vệ sinh và nước sạch nông thôn. 2019.

4. **Hoàng Anh Tuấn** và cộng sự (2011). Thực trạng kiến thức, thái độ, thực hành về vệ sinh môi trường của người Dao tại một số xã đặc biệt khó khăn tỉnh Thái Nguyên. Tạp chí Khoa học và Công nghệ. 2014; 123(09); 3-10.

5. **Lưu Văn Trị, Lê Thị Thanh Hương**. Thực trạng nhà tiêu hợp vệ sinh của người dân tộc Raglay và một số yếu tố liên quan tại huyện Bác Ái, tỉnh Ninh Thuận năm 2018. Tạp chí Y học Dự phòng. 2018; 4(28); 151 - 156.

6. **Trần Ngọc Thúy**. Thực trạng và sử dụng

nhà tiêu ở người dân tộc Dao tại một số xã thuộc huyện Nguyễn Bình, tỉnh Cao Bằng. Luận văn Thạc sĩ Y học; 2016.

7. **Đặng Văn Nam, Lê Khắc Đức** (2018). Thực trạng nhà tiêu hợp vệ sinh và một số yếu tố liên quan của hộ gia đình tại xã Dũng Phong, huyện Cao Phong, tỉnh Hòa Bình năm 2018. Tạp chí Y học dự phòng. 2019;1(29); 142 - 7.

8. **Trần Thị Hữu**. Nghiên cứu thực trạng vệ sinh môi trường hộ gia đình tại một số tỉnh Kon Tum. Luận văn Thạc sĩ Khoa học, 2011.

9. **Dương Chí Nam** và cộng sự. Dương Chí Nam và cộng sự (2014). Thực trạng và yếu tố liên quan nhà tiêu hợp vệ sinh của hộ gia đình nông thôn tại tỉnh Hòa Bình năm 2014. Tạp chí Y-Dược học Quân sự. 2020; 1; 13 - 19, 2020.

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA 10 β -[(2' β -HYDROXY-3'-IMIDAZOL) PROPYL] DEOXOARTEMISININ (32) ĐẾN CHỨC NĂNG GAN CỦA THỎ THỰC NGHIỆM

NGUYỄN THỊ THÚY¹, NGUYỄN THỊ MINH THU²,
TRẦN THANH DƯƠNG³, TRẦN VĂN MINH⁴,
ĐỖ THỊ NGUYỆT QUẾ¹, NGUYỄN THỊ THU HẰNG²

¹Trường Đại học Dược Hà Nội

²Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam

³Viện Sốt rét - KST - CT Trung ương

⁴Trường Đại học Y Hà Nội

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành tại Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương và Trường Đại học Y Hà Nội từ tháng 02 - 05 năm 2021 nhằm đánh giá ảnh hưởng của hợp chất 10 β -[(2' β -hydroxy-3'-imidazol) propyl] deoxoartemisinin (32) đến chức năng gan của thỏ thực nghiệm.

Phương pháp: Tiến hành theo hướng dẫn của Bộ Y tế và OECD về thử độc tính bán

trường diễn. Hợp chất (32) được dùng bằng đường uống trên thỏ ở 2 mức liều 72 và 216 mg/kg/ngày \times 28 ngày liên tiếp. Thử nghiệm tiến hành song song với nhóm chứng. Lấy máu tĩnh mạch tai thỏ để xét nghiệm sinh hóa vào các ngày N0, N14 và N29. Mổ 50% số thỏ ở mỗi lô vào ngày N29 (sau 28 ngày dùng thuốc) và mổ nốt thỏ ở ngày N43 (sau 15 ngày ngừng thuốc) để quan sát đại thể và làm vi thể mô gan. Các chỉ tiêu đánh giá gồm: chỉ số sinh hóa (hàm lượng AST, ALT, protein toàn phần, bilirubin toàn phần), những biến đổi bất thường của hình thái đại thể và vi thể gan thỏ (nếu có).

Kết quả: Hầu hết các chỉ số sinh hóa gan thỏ ở hai lô thử (32) đều không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và kết quả tại

Chịu trách nhiệm: Nguyễn Thị Thúy

Email: thuy96dtqn@gmail.com

Ngày nhận: 10/9/2021

Ngày phản biện: 18/10/2021

Ngày duyệt bài: 12/11/2021

N14, N29 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với N0 ($p > 0,05$). Ngoại trừ, ở N14, hàm lượng protein toàn phần ở lô uống (32) liều 72 mg/kg/ngày tăng có ý nghĩa thống kê so với ngày N0 ($p < 0,05$), tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê tại N29 ($p > 0,05$).

Về đại thể, nhu mô gan thỏ ở tất cả các lô tại N29 và N43 đều bình thường, gan mềm, mịn, đồng nhất, đỏ tươi. Ở lô chứng và lô uống (32) liều 72 mg/kg/ngày, cấu trúc vi thể tế bào gan bình thường, không thoái hóa hay hoại tử, bào tương sáng. Có 1/5 thỏ lô chứng và 2/5 thỏ ở mỗi lô dùng thuốc có sung huyết nhẹ ở tĩnh mạch trung tâm và xoang mạch, khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Riêng lô thử (32) liều 216 mg/kg/ngày có 2/6 thỏ (33.33%) có thoái hóa hạt nhẹ ở một số tế bào gan. Tại N43 cấu trúc vi thể gan thỏ ở tất cả các lô đều bình thường.

Kết luận: Hợp chất (32) với liều 72 mg/kg/ngày \times 28 ngày liên tiếp bằng đường uống (tương đương liều dùng dự kiến trên người) không ảnh hưởng đến chức năng gan thỏ thí nghiệm. Ở liều 216 mg/kg/ngày \times 28 ngày, (32) có xu hướng ảnh hưởng đến tế bào gan của thỏ, nhưng sau 15 ngày ngừng thuốc tế bào gan hồi phục trạng thái bình thường.

Từ khóa: 10 β -[(2' β -hydroxy-3'-imidazol) propyl] deoxoartemisinin (32), thỏ, chức năng gan, chỉ số sinh hóa, AST, ALT, protein toàn phần, bilirubin toàn phần, hình thái đại thể, cấu trúc vi thể.

SUMMARY

THE EFFECTS OF PROPYL 10 β - [(2' β -HYDROXY-3'-IMIDAZOL)]DEOXOARTEMISININ (32) ON RABBIT LIVER FUNCTIONS

This study was conducted at the National Institute of Malaria, Parasitology and Entomology and Hanoi Medical University from February to May, 2021. The compound 10 β -[(2' β -hydroxy-3'-imidazol) propyl] deoxoartemisinin (32) was treated orally in experimental rabbits in order to examine whether it affected rabbit liver functions or not.

Methods: The Vietnam Ministry of Health's and OECD's guidelines for sub-chronic toxicity testing were applied. The compound (32) was treated orally in two different groups with the dose regimens of 72 and 216 mg/kg/day \times 28 consecutive days, respectively. A control group treated orally with solvent was also tested simultaneously. Two milliliters of blood were

pulled out from each rabbit's ear vein on day 0 (before testing), day 14 (the middle of testing) and day 29 (after stopping taking 32) in order to test for biochemical parameters including AST, ALT, total bilirubin and total protein. Half of rabbits from each group were operated on day 29 and the others were finished operations on day 43 (after 15 days taking no (32) compound) for general liver observations and microbody structures of liver cells.

Results: Generally, most of the biochemical parameters of rabbit liver of the two (32)-treated groups were not significantly different from the control group. Besides, those indices on days 14 and 29 did not change significantly compared to before taking the (32) on day 0 (the p values > 0.05). Nevertheless, with the dose of 72 mg/kg/day, rabbits' total protein increased significantly on day 14 comparing to that on day 0 ($p < 0.05$) and became in normal limits on day 29 ($p > 0.05$).

Macroscopically, liver parenchyma of all rabbits on days 29 and 43 were normal, soft, smooth, homogeneous and brightly red. Microscopically, most liver cells had no necrosis and degeneration and liver textures were in normal limits with bright cytoplasm. There were 1/5 (20%) rabbits in the control group and 2/5 rabbits (40%) of each treated groups which had mild congestions in the central veins and sinuses on day 29 ($p > 0.05$) while the others had expected texture. In particular, with the dose of 216 mg/kg/day, 2/6 of rabbits (33.33%) had slight granular degeneration in some hematocytes on day 29 but hepatic microstructures of rabbits were normal on day 43.

Conclusion: The compound (32) did not affect rabbit's liver functions at the dose regimen of 72 \times 28 consecutive days. Nonetheless, at the dose of 216 mg/kg/day \times 28 consecutive days, the compound (32) tended to affect rabbit hepatocytes but this adverse drug reaction disappeared after 15 days stopping taking drug.

Keywords: 10 β -[(2' β -hydroxy-3'-imidazol) propyl] deoxoartemisinin (32), rabbit, liver function, biochemical parameter, AST, ALT, total bilirubin, total protein, hepatic parenchyma, macroscopic, microscopic, congestion, granular degeneration.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Sốt rét là bệnh truyền nhiễm do kí sinh trùng *Plasmodium* gây nên, trong số các loài gây bệnh ở người thì *P. falciparum* là loài nguy hiểm hơn cả. Cho đến nay, sốt rét vẫn là một trong những gánh nặng gây áp lực lớn cho nền kinh tế và sức khỏe toàn cầu. Thách thức lớn nhất trong kiểm soát bệnh sốt rét tình trạng kháng thuốc ngày càng lan rộng ở nhiều quốc gia và vùng lãnh thổ. Đáng lo ngại, *P. falciparum* đã ghi nhận đề kháng với hầu hết các thuốc điều trị sốt rét hiện có, đặc biệt là artemisinin (ART) và các dẫn xuất - nhóm thuốc có hiệu lực điều trị KST nhanh và hiệu quả trong những thập kỷ trước [2]. Vì vậy, việc nghiên cứu phát triển thuốc sốt rét mới có khả năng chống kháng thuốc và hiệu quả điều trị cao hơn đang là yêu cầu cấp bách được đặt ra với các nhà khoa học.

Viện Hóa học Các hợp chất thiên nhiên đã tổng hợp và tinh chế thành công hợp chất 10 β -[(2' β -hydroxy-3'-imidazol) propyl] deoxoartemisinin (dẫn xuất 32). Hợp chất này đã được Viện Sốt rét – KST – CT Trung ương chứng minh hiệu lực *in vitro* tương đương ART [7], có tác dụng chống sốt rét tốt *in vivo* với chủng *P. bergeri* kháng cloroquin trên chuột nhắt trắng [8] và không có độc tính cấp đường uống [7,8]. Các nghiên cứu tiền lâm sàng nói trên cho thấy (32) có triển vọng để điều trị sốt rét. Hiện chưa có nghiên cứu nào theo dõi độc tính dài ngày của (32) trên các cơ quan của động vật thực nghiệm. Nhằm tiếp tục phát triển hợp chất (32), nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá ảnh hưởng của (32) đến chức năng gan của thỏ khi cho uống 28 ngày liên tiếp.

ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Thuốc thử nghiệm: Dẫn xuất 10 β -[(2' β -hydroxy-3'-imidazol) propyl] deoxoartemisinin (32) do Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên cung cấp, độ tinh khiết 99,98%.

Động vật thí nghiệm: Thỏ trưởng thành (*Oryctolagus cuniculus* L.), tổng số 36 con, cân nặng trung bình 2,1 \pm 0,2 kg, 2 tháng tuổi, khỏe mạnh, không phân biệt đực - cái, do Trung tâm nghiên cứu Dê và Thỏ Sơn Tây cung cấp. Với động vật cái phải không mang thai, không nuôi con bú và chưa sinh sản lần nào. Động vật được nuôi ổn định 7 ngày trong điều kiện thí nghiệm trước khi tiến hành nghiên cứu.

2. Phương pháp nghiên cứu

Tiến hành theo hướng dẫn của Bộ Y tế [1] và OECD số 407 [5]. Ảnh hưởng của hợp chất (32) đến chức năng gan của thỏ được đánh giá thông qua việc xác định các chỉ số sinh hóa gan trước, trong và sau dùng thuốc, đồng thời xác định sự biến đổi hình thái vi thể mô gan thỏ ở thời điểm sau 28 ngày dùng thuốc và sau 15 ngày ngưng dùng thuốc.

Thỏ sau khi nuôi ổn định 7 ngày, được chia ngẫu nhiên thành 3 lô, mỗi lô 12 con:

- Lô 1: chứng (n = 12): Uống dung môi gồm arabic 1%, thể tích tương đương liều điều trị thuốc \times 28 ngày liên tiếp.

- Lô 2 (n = 12): Uống hỗn dịch (32) liều 72mg/kg/ngày, (tương đương liều dùng dự kiến trên người) \times 28 ngày liên tiếp.

- Lô 3 (n = 12): Uống hỗn dịch (32) liều 216mg/kg/ngày, (tương đương gấp 3 lần liều dùng dự kiến trên người) \times 28 ngày liên tiếp.

Trước uống thuốc, thỏ được lấy máu tĩnh mạch tai để làm xét nghiệm sinh hóa vào ngày N0. Cho thỏ uống thuốc mỗi ngày một lần vào buổi sáng bằng kim đầu tù, liên tục trong 28 ngày. Các ngày lấy máu tĩnh mạch tai để làm xét nghiệm sinh hóa tiếp theo là N14 (sau khi uống thuốc 2 giờ) và N29. Sau 28 ngày cho uống thuốc liên tục, vào ngày N29, mổ 50% số thỏ ở lô chứng và các lô uống thuốc, lấy các mô gan để làm tiêu bản đánh giá ảnh hưởng của thuốc. Số thỏ còn lại được nuôi bình thường, sau 15 ngày ngưng thuốc, vào ngày N43, mổ hết để đánh giá sự hồi phục của tổ chức gan. Các mẫu tiêu bản gan ở hai đợt được xử lý như nhau.

Phương pháp nghiên cứu mô bệnh học: Sau khi giết động vật thí nghiệm, quan sát tổng thể các mẫu gan một cách sơ bộ, rồi lấy đại diện 5 mẫu gan ở mỗi thỏ tại các vị trí khác nhau. Các mẫu bệnh phẩm được cắt mỏng từ 3-5 mm, cố định trong dung dịch formol 10% trong 48 giờ. Sau đó, khử nước, đúc parafin (khối nén), và cắt mỏng 3 μ m. Nhuộm hematoxylin eosin (HE). Để xác định khả năng dự trữ glycogen của gan, dùng phương pháp nhuộm periodic acid Schiff (phản ứng PAS).

Các số liệu nghiên cứu được xử lý bằng chương trình Excel 2016 theo phương pháp thống kê y học với cỡ mẫu nhỏ (< 30), sử dụng t-test Student và Fisher's exact test để so sánh các số liệu trước, trong và sau thử nghiệm và so sánh giữa lô dùng thuốc và lô chứng.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Ảnh hưởng của hợp chất (32) đến chức năng gan của thỏ được đánh giá thông qua việc xác định các chỉ số sinh hóa gan trước, trong và sau khi dùng thuốc, đồng thời xác định sự biến đổi hình thái vi thể mô gan thỏ sau khi dùng thuốc và sau khi ngừng thuốc 15 ngày.

Bảng 1. Hàm lượng AST (U/L) trong huyết thanh thỏ tại các thời điểm nghiên cứu

Lô	N0	N14	N29	<i>p</i> (N0-N14)	<i>p</i> (N0-N29)
Lô 1: chứng (n = 12)	22,5 ± 7,96	20,33 ± 8,48	24,42 ± 6,30	> 0,05	> 0,05
Lô 2: uống (32), 72 mg/kg/ngày × 28 ngày (n = 12)	22,00 ± 12,40	16,75 ± 5,12	20,08 ± 7,28	> 0,05	> 0,05
Lô 3: uống (32), 216 mg/kg/ngày × 28 ngày (n = 12)	19,33 ± 6,44	17,92 ± 5,70	21,50 ± 9,79	> 0,05	> 0,05
<i>p</i> (1-2), <i>p</i> (1-3), <i>p</i> (2-3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05		

Nhận xét:

Hàm lượng AST trong huyết thanh thỏ tại N14 và N29 ở các lô uống (32) liều 72 và 216 mg/kg × 28 ngày liên tiếp khác nhau không có ý nghĩa thống kê so với trước khi uống thuốc (N0) và so với lô chứng tại cùng thời điểm tương ứng (các giá trị *p* > 0,05).

Bảng 2. Hàm lượng ALT (U/L) trong huyết thanh thỏ ở các thời điểm nghiên cứu

Lô	N0	N14	N29	<i>p</i> (N0-N14)	<i>p</i> (N0-N29)
Lô 1: chứng (n = 12)	45,17 ± 15,97	51,67 ± 16,72	50,33 ± 7,75	> 0,05	> 0,05
Lô 2: uống (32), 72 mg/kg/ngày × 28 ngày (n = 12)	54,58 ± 9,18	56,75 ± 9,47	49,83 ± 10,65	> 0,05	> 0,05
Lô 3: uống (32), 216 mg/kg/ngày × 28 ngày (n = 12)	49,75 ± 13,01	52,08 ± 8,73	47,75 ± 9,63	> 0,05	> 0,05
<i>p</i> (1-2), <i>p</i> (1-3), <i>p</i> (2-3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05		

Nhận xét:

Hàm lượng ALT ở các lô uống (32) liều 72 và 216 mg/kg/ngày × 28 ngày liên tiếp tại N14 và N29 thay đổi không có ý nghĩa thống kê so với N0 và so với lô chứng tại cùng thời điểm (các giá trị *p* > 0,05).

Bảng 3. Hàm lượng bilirubin toàn phần (μmol/L) trong huyết thanh thỏ tại các thời điểm nghiên cứu

Lô	N0	N14	N29	<i>p</i> (N0-N14)	<i>p</i> (N0-N29)
Lô 1: chứng (n = 12)	5,50 ± 1,57	4,50 ± 1,83	5,25 ± 1,72	> 0,05	> 0,05
Lô 2: uống (32), 72 mg/kg/ngày × 28 ngày (n = 12)	4,58 ± 1,24	4,92 ± 1,08	4,67 ± 1,56	> 0,05	> 0,05
Lô 3: uống (32), 216 mg/kg/ngày × 28 ngày (n = 12)	4,83 ± 1,59	5,25 ± 1,36	5,17 ± 1,34	> 0,05	> 0,05
<i>p</i> (1-2), <i>p</i> (1-3), <i>p</i> (2-3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05		

Nhận xét:

Hàm lượng bilirubin toàn phần trong huyết thanh thỏ ở các lô uống thuốc tại N14 và N29 thay đổi không có ý nghĩa thống kê so với trước khi uống thuốc (N0) và không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng hay so giữa các lô uống thuốc với nhau tại cùng thời điểm (các giá trị *p* > 0,05).

Bảng 4. Nồng độ protein toàn phần (g/L) trong huyết thanh thỏ ở các thời điểm nghiên cứu

Lô	N0	N14	N29	p (N0-N14)	p (N0-N29)
Lô 1: chứng (n = 12)	52,91 ± 7,82	56,93 ± 5,58	58,58 ± 6,37	> 0,05	> 0,05
Lô 2: uống (32), 72 mg/kg/ngày × 28 ngày (n = 12)	53,40 ± 3,98	57,59 ± 4,32	56,12 ± 3,60	p = 0,0217 (< 0,05)	> 0,05
Lô 3: uống (32), 216 mg/kg/ngày × 28 ngày (n = 12)	53,76 ± 4,55	56,33 ± 5,90	55,77 ± 7,17	> 0,05	> 0,05
p (1-2), p (1-3), p (2-3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05		

Nhận xét:

Hàm lượng protein toàn phần của thỏ ở lô uống (32) liều 216 mg/kg/ngày × 28 ngày thay đổi không có ý nghĩa thống kê ở N14 và N29 so với N0 và so với lô chứng tại các thời điểm tương ứng (các giá trị p > 0,05). Ở lô uống (32) liều 72 mg/kg/ngày × 28 ngày, hàm lượng protein tăng có ý nghĩa thống kê ở N14 so với ngày N0 (p = 0,027), nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ở N29 (p > 0,05). So với lô chứng và lô dùng thuốc còn lại, hàm lượng protein của lô 2 ở các thời điểm nghiên cứu đều khác nhau không có ý nghĩa thống kê (các giá trị p > 0,05).

Ở ngày N29, 50% số thỏ được mổ (hình 1) và 50% số thỏ còn lại được nuôi tiếp 15 ngày sau khi ngừng uống thuốc. Ngày N43, mổ tiếp 50% số thỏ còn lại để quan sát đại thể gan. Kết quả cho thấy, không có bất thường về hình thái đại thể gan ở tất cả các lô thí nghiệm.

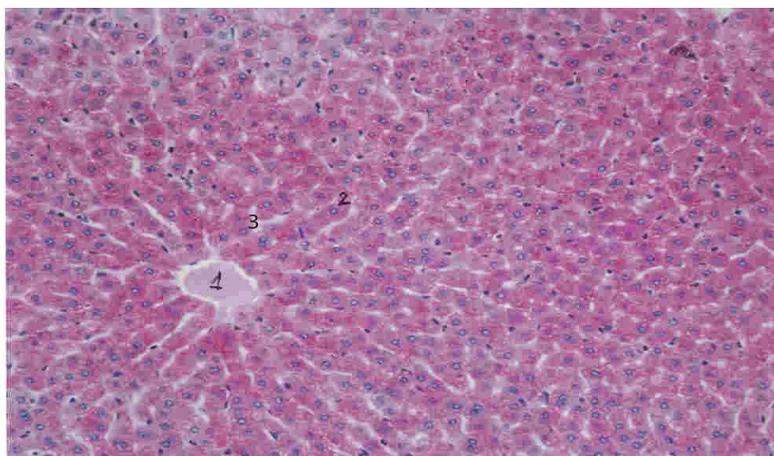


Hình 1. Mổ thỏ thí nghiệm ở lô uống thuốc (32) liều 216 mg/kg/ngày × 28 ngày

Cấu trúc vi thể gan thỏ (được đánh giá bởi TS. Trần Văn Minh, Trưởng Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội) như sau:

Cấu trúc vi thể gan thỏ lô chứng:

Ở lô chứng, các thỏ được mổ (6 con) có tế bào gan trong giới hạn bình thường, nhu mô gan không có ổ hoại tử, bào tương sáng có các hạt nhỏ đồng đều, 1/6 thỏ có xoang mạch và tĩnh mạch trung tâm sung huyết nhẹ; PAS dương tính, vừa, đồng đều; khoảng cửa không viêm (hình 2).

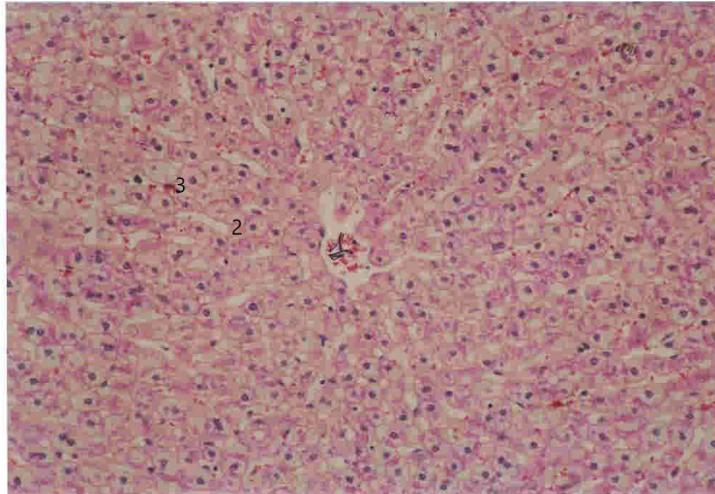


Hình 2. Gan thỏ lô chứng (HE × 100) ngày N29

1. Tĩnh mạch trung tâm;
2. Tế bào gan: Bình thường;
3. Xoang mạch: Không sung huyết.

Cấu trúc vi thể gan thỏ uống (32) liều 72 mg/kg/ngày × 28 ngày liên tiếp:

Tế bào gan không thoái hoá hay hoại tử, bào tương sáng, giàu glycogen, PAS dương tính. Có 2/6 thỏ có sung huyết nhẹ các tĩnh mạch trung tâm và xoang mạch (hình 3), các thỏ khác bình thường (không sung huyết xoang mạch).

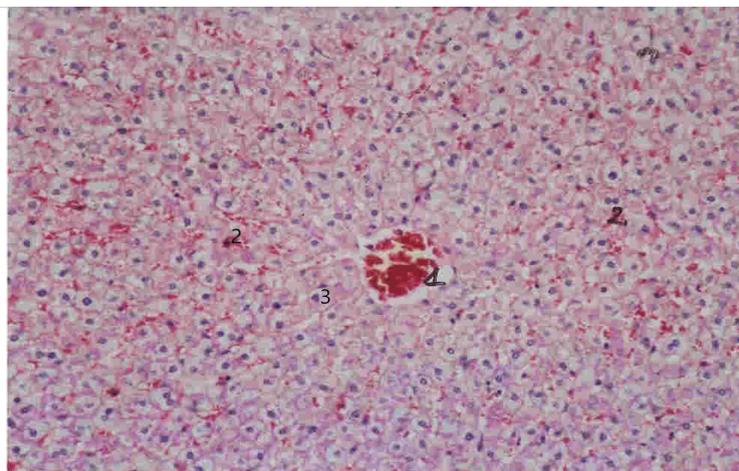


Hình 3. Gan thỏ uống (32) liều 72 mg/kg/ngày × 28 ngày (HE × 100)

1. Tĩnh mạch trung tâm: Có rất ít hồng cầu;
2. Tế bào gan: Bình thường; 3. Xoang mạch: sung huyết nhẹ.

Cấu trúc vi thể gan thỏ uống (32) liều 216 mg/kg/ngày × 28 ngày liên tiếp:

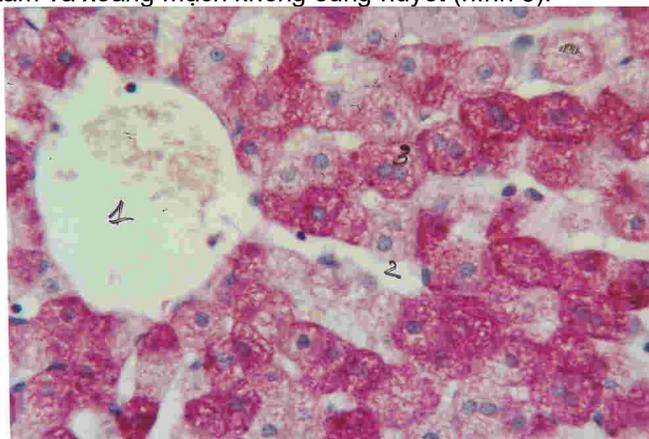
Tế bào gan sáng, giàu glycogen, PAS (+++), không có hoại tử tế bào, không sung huyết ở 4/6 thỏ. Tuy nhiên, 2/6 thỏ có sung huyết nhẹ ở tĩnh mạch trung tâm và xoang mạch, thoái hoá hạt nhẹ ở một số tế bào gan (hình 4).



Hình 4. Gan thỏ uống (32) liều 216 mg/kg/ngày × 28 ngày (HE × 100)

1. Tĩnh mạch trung tâm;
2. Xoang mạch: Sung huyết;
3. Tế bào gan: Thoái hoá hạt nhẹ

Số thỏ được mổ ở ngày N43 cho thấy tế bào gan bình thường, không thoái hóa, PAS dương tính, tĩnh mạch trung tâm và xoang mạch không sung huyết (hình 5).



Hình 5. Gan thỏ uống (32) liều 216 mg/kg/ngày × 28 ngày, sau 15 ngày ngừng thuốc (HE × 250)

1. Tĩnh mạch trung tâm;
2. Xoang mạch;
3. Tế bào gan.

BÀN LUẬN

Trong cơ thể, gan đảm nhận nhiều chức năng quan trọng trong đó có chức năng chuyển hóa và thải trừ các chất. Khi đưa vào cơ thể một liều thuốc lớn hoặc kéo dài có thể làm tổn thương các tế bào gan hay làm suy giảm chức năng gan. Gan chứa rất nhiều enzym làm nhiệm vụ xúc tác các phản ứng chuyển hóa các chất trong tế bào. Khi tế bào gan bị tổn thương, một lượng enzym sẽ được giải phóng vào huyết thanh. Do đó, việc xác định hoạt độ những enzym này trong huyết thanh sẽ giúp đánh giá được các tổn thương của gan, nếu tổn thương càng rộng, càng cấp tính thì lượng enzym giải phóng vào máu càng nhiều. Trái lại, nếu tổn thương mạn tính âm ỉ thì gan chỉ giải phóng một lượng enzym vừa phải vào máu.

Để đánh giá mức độ ảnh hưởng của hợp chất (32) tới chức năng gan thỏ, chúng tôi tiến hành xác định hàm lượng các enzym AST, ALT, nồng độ protein toàn phần, bilirubin toàn phần trong huyết thanh thỏ tại các thời điểm N0 (trước uống thuốc), N14 và N29, đồng thời xác định sự biến đổi hình thái vi thể mô gan thỏ ở N29 và N43 (sau khi ngừng dùng thuốc 15 ngày).

Kết quả nghiên cứu được thể hiện ở các bảng từ 1 đến 4 cho thấy hầu hết các chỉ số như hàm lượng AST, ALT, nồng độ protein toàn phần, bilirubin toàn phần trong huyết thanh thỏ ở các lô thử không có sự khác biệt so với lô chứng và kết quả thu được tại N14,

N29 không có sự khác biệt so với N0 ($p > 0,05$). Chỉ có hàm lượng protein của lô thử (32) liều 72 mg/kg/ngày × 28 ngày tại N14 tăng có ý nghĩa thống kê so với ngày N0 ($p = 0,027$), tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê tại N29 ($p > 0,05$).

Tình trạng tăng hàm lượng protein trong máu ở N14 có ý nghĩa thống kê so với N0 là hiện tượng rối loạn sinh lý thường gặp ở thỏ, tại N29 chỉ số này lại trở về mức bình thường và khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với N0, cho thấy hợp chất (32) không làm ảnh hưởng tới khả năng sản xuất protein của gan.

Mổ thỏ, quan sát hình thái đại thể gan ở tất cả các lô thí nghiệm quan sát được ở N29 và N43 đều không ghi nhận bất thường.

Cấu trúc vi thể gan thỏ tại N29 cho thấy: Ở lô chứng cho kết quả bình thường, 1/6 thỏ có xoang mạch và tĩnh mạch trung tâm sung huyết nhẹ. Các lô thử (32) với liều 72 mg/kg/ngày × 28 ngày và 216 mg/kg/ngày × 28 ngày có 2/6 thỏ (33,3%) có sung huyết nhẹ tĩnh mạch trung tâm và xoang mạch, riêng lô 3 có 2/6 thỏ có thoái hóa hạt nhẹ ở một số tế bào gan.

Vi thể gan thỏ ở cả lô chứng và lô thử đều có xuất hiện tình trạng xuất huyết ở xoang mạch và tĩnh mạch trung tâm. Tuy nhiên, số lượng thỏ gặp phải tình trạng này và mức độ tổn thương tăng dần theo liều của hợp chất (32) chứng tỏ hợp chất (32) có thể gây ra các tổn thương nhẹ trên gan mặc dù hoạt độ các enzym do gan tiết ra vẫn trong giới hạn bình thường.

Cấu trúc vi thể gan thỏ tại N43 (15 ngày sau khi ngừng thuốc) ở cả ba lô cho kết quả hoàn toàn bình thường, không có thoái hóa hạt, PAS dương tính, tĩnh mạch trung tâm và xoang mạch không sung huyết.

Nghiên cứu độc tính bán cấp của trifluoromethylhydroartemisinin (BB101) trên khỉ cho kết quả: Liều 4mg/kg và 8 mg/kg × 30 ngày bằng đường tiêm bắp làm giảm rõ hàm lượng SGPT tại các thời điểm N14 và N30 với lô chứng [3]. Một nghiên cứu độc tính bán trường diễn khác trên khỉ của BB134 - dẫn xuất gắn Fluor của artemisinin thì chỉ ra rằng hợp chất BB134 với liều 9 mg/kg/ngày × 28 ngày không làm thay đổi hàm lượng SGOT, SGPT, hàm lượng bilirubin và protein của thỏ [4].

Papiya Bigoniya và cộng sự khi nghiên cứu về độc tính bán trường diễn của Artesunate đã nhận thấy Artesunate làm gia tăng đáng kể SGOT, SGPT, ALP, TC và TG ở liều 8 mg/kg/ngày × 45 ngày. Hình ảnh mô học gan thận cho thấy: Artesunate liều 2mg/kg/ngày, tế bào gan bình thường và có thâm nhiễm viêm nhẹ. Liều 4 mg/kg/ngày có xảy ra sự biến dạng tế bào, tạo các khoảng trống trong tế bào chất. Liều 8mg/kg/ngày, cho thấy trên gan có hoại tử khu trú, sung huyết và viêm nhiễm rộng [6].

Như vậy, hợp chất (32) ở liều 72 mg/kg/ngày × 28 ngày (tương đương liều dùng dự kiến trên người) không ảnh hưởng đến chức năng gan. Ở mức liều 216 mg/kg/ngày × 28 ngày (liều cao gấp 3 lần liều tương đương dùng dự kiến trên người), (32) có xu hướng làm tổn thương gan ở cấu trúc vi thể, gây thoái hóa hạt nhẹ ở tế bào gan. Tuy nhiên các tổn thương này còn nhẹ và chưa ảnh hưởng tới các chỉ số sinh hóa của gan (AST, ALT, bilirubin và protein trong huyết thanh) và đều phục hồi sau một khoảng thời gian 15 ngày ngừng thuốc. So với các dẫn xuất khác của Artemisinin như BB101, BB134 và Artesunate, hợp chất (32) thể hiện tính an toàn cao và ít ảnh hưởng tới gan của động vật thí nghiệm hơn.

KẾT LUẬN

Đã nghiên cứu ảnh hưởng của 10β-[(2'β-hydroxy-3'-imidazol) propyl] deoxoartemisinin (32) đến chức năng gan của thỏ thực nghiệm với hai liều đường uống 72 và 216 mg/kg/ngày × 28 ngày liên tiếp. Kết quả cho thấy:

Các chỉ số sinh hóa phản ánh chức năng hoạt động của gan (AST, ALT, bilirubin toàn phần, protein toàn phần) ở các lô thử nghiệm

đều bình thường, nhìn chung khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và giá trị tại N14, N29 không khác biệt so với N0 ($p > 0,05$).

Tuy nhiên, liều 216 mg/kg/ngày × 28 ngày liên tiếp (tương đương liều gấp 3 lần liều dự kiến dùng trên người) có xu hướng ảnh hưởng nhẹ tới cấu trúc vi thể gan thỏ (33,33% thoái hóa hạt nhẹ ở tế bào gan) và sau 15 ngày ngừng thuốc, vi thể gan ở số thỏ này trở về bình thường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bộ Y tế** (2015). Quyết định số: 141/QĐ-K2ĐT, Quyết định về việc ban hành tài liệu chuyên môn "Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng thuốc đông y, Thuốc từ dược liệu".

2. **Noedl H. et al.** (2008). "Evidence of artemisinin-resistant malaria in western Cambodia", *N Engl J Med*, 359(24), pp. 2619 - 2620.

3. **Trương Văn Như, Đoàn Hạnh Nhân, Bùi Thị Sáu, Lê Minh Đạo, Nguyễn Thị Minh Thu, Đỗ Mạnh Hà** (2004). "Nghiên cứu độc tính bán cấp của trifluoromethylhydroartemisinin (BB101) trên khỉ", Phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng, số 6, tr. 44 - 49.

4. **Trương Văn Như, Đoàn Hạnh Nhân, Bùi Thị Sáu, Nguyễn Thị Minh Thu và cộng sự** (2005). "Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của 16 - Piperazinoethanol - 10α - Trifluoromethyl Anhydrodihydro Artemisinin (BB134) trên động vật thực nghiệm", Phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng, số 6, tr. 15 - 22.

5. **OECD** (2008). "Repeated dose 28-oral toxicity study in rodents", OECD guidelines for the testing of chemicals, No. 407.

6. **Papiya Bigoniya, Taranginee Sahu, Vikalp Tiwari** (2015). "Hematological and biochemical effects of sub-chronic artesunate exposure in rats", *Toxicology reports*, 2, 280 - 288.

7. **Nguyễn Thị Minh Thu, Ngô Việt Thành, Tạ Thị Tĩnh, Nguyễn Mạnh Hùng và cộng sự** (2011). "Nghiên cứu hiệu lực in vitro của 5 dẫn xuất artemisinin và độc tính cấp của 10β-[(2'β-hydroxy-3'-imidazol) propyl] deoxoartemisinin", *Tạp chí Dược học*, (số 428), tr.31 - 34.

8. **Nguyễn Thị Minh Thu, Nguyễn Lương Hiếu** (2020). "Tác dụng in vivo và độc tính cấp đường uống của 10β-[2'β-hydroxy-3'-imidazol) propyl] deoxoartemisinin (32)", *Tạp chí Y Dược cổ truyền Việt Nam*, tập 7, (số 32), tr.35 - 45.