

NGHIÊN CỨU TÍNH AN TOÀN CỦA HERBAVERA CREAM TRÊN THỰC NGHIỆM

Nguyễn Hoàng Ngân*; Nguyễn Văn Long*; Chủ Văn Mến*

TÓM TẮT

Nghiên cứu tính an toàn của kem herbavera trên thực nghiệm, các tác giả nhận thấy:

1. Thử kích ứng da trên thỏ theo OECD thấy kem herbavera không gây kích ứng da. Độ kích ứng da của thuốc bằng 0.

2. Sau 25 ngày điều trị bằng herbavera bôi tại chỗ vết bỏng mỗi ngày một lần, tình trạng toàn thân thỏ không thấy gì đặc biệt, không làm thay đổi chức năng gan, thận và tạo máu của thỏ thực nghiệm.

* Từ khoá: Kem herbavera; Tính an toàn; Thực nghiệm.

STUDY OF SAFE PROPERTIES OF HERBAVERA CREAM IN EXPERIMENT

Nguyen Hoang Ngan; Nguyen Van Long; Chu Van Men

SUMMARY

This study was carried out on rabbit, the results showed that:

1. *The skin irritation score of herbavera cream was 0 when tested on rabbit's skin follow OECD guideline.*

2. *After 25 days using herbavera cream on burns once a day, rabbit's health is normal and did not observe the changes of on liver, kidney and hematology system.*

* *Key words: Herbavera cream; Safety; Experiment.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo định hướng phát triển thuốc điều trị bỏng từ dược liệu sẵn có trong nước, Học viện Quân y đã bào chế kem herbavera điều trị bỏng từ bốn loại dược liệu sẵn có trong nước là Lô hội, Cỏ lào Đơn kim và Bồ công anh.

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm:

- Đánh giá độ kích ứng da của kem herbavera.

- Đánh giá ảnh hưởng của kem herbavera lên toàn thân, chức năng gan, thận và tạo máu ở thỏ thực nghiệm.

* Học viện Quân y

Phản biện khoa học: PGS. TS. Nguyễn Văn Minh

ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng, vật liệu nghiên cứu.

* Chế phẩm nghiên cứu:

- Kem herbavera do Học viện Quân y bào chế, đạt TCCS.

- Kem silverin của Ấn Độ.

- Nớc muối sinh lý (NMSL).

* Động vật thí nghiệm:

Thỏ nhà khỏe mạnh, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, trọng lượng 1,8 kg - 2,2 kg được nuôi dưỡng trong điều kiện phòng thí nghiệm 5 ngày trước khi tiến hành nghiên cứu.

* Dụng cụ, thiết bị:

- Máy xét nghiệm sinh hoá tự động.

- Máy đếm hồng, bạch cầu tự động.

- Bộ dụng cụ mổ động vật cỡ nhỏ.

- Cân chính xác 10^{-2} mg, bơm kim tiêm...

2. Phương pháp nghiên cứu.

* Nghiên cứu xác định độ kích ứng da của kem herbavera theo OECD:

Áp dụng phương pháp nghiên cứu tính kích ứng da theo OECD, 2004 [1, 3].

Trên mỗi thỏ đặt một điểm chất thử với liều 0,5 g. Lượng chất thử này được phết đều vào miếng gạc đã tiệt trùng có diện tích 2,5 x 2,5 cm. Áp miếng gạc có thuốc thử vào vùng da định thử (đã cạo sạch lông). Sau 4 giờ, 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ bóc gạc, rửa sạch vùng da bằng nớc cất. Nhận định kết quả ở các thời điểm trên.

Đánh giá phản ứng trên chỗ da đặt thuốc xem mức độ kích ứng gây ban đỏ hoặc phù theo thang điểm được qui định sẵn nh sau:

* *Đánh giá phản ứng của da ở trạng thái gây ban đỏ, có vẩy xóc (ký hiệu A):*

. Không có ban đỏ: 0 điểm.

. Ban đỏ rất nhẹ: 1 điểm.

. Ban đỏ nhận thấy rõ: 2 điểm.

. Ban đỏ vừa phải đến nghiêm trọng: 3 điểm.

. Ban đỏ có vẩy xóc nhẹ: 4 điểm.

(Mức tối đa của thang điểm là 4)

* *Đánh giá phản ứng của da ở trạng thái phù nề (ký hiệu B):*

. Không phù nề: 0 điểm.

. Phù nề nhẹ: 1 điểm.

. Phù nề nhẹ có viên phỏng: 2 điểm.

. Phù nề vừa phải có viên phỏng: 3 điểm.

. Phù nề nghiêm trọng (viên phỏng ≥ 1 mm): 4 điểm.

(Mức tối đa của thang điểm là 4).

Sau khi cho điểm mức độ tổn thương (A và B), lấy trung bình của 2 điểm này (ký hiệu C). Đây chính là điểm trung bình kích ứng da của chế phẩm. Trong nghiên cứu đối với thuốc điều trị bỏng, chế phẩm phải không được kích ứng da, điểm trung bình kích ứng da bằng 0.

* *Nghiên cứu tính an toàn của kem herbavera khi dùng điều trị vết thương bỏng thực nghiệm:*

Gây bỏng cho thỏ theo phương pháp của Podidalo J.J. và CS (1955), Hladovec J. (1961). Độ sâu vết bỏng đồng nhất độ III (vùng rìa tổn thương) đến độ IV (vùng diện bỏng chính thức), diện tích bỏng khoảng 7% diện tích cơ thể thỏ [2].

Thỏ sau khi gây bỏng được chia ngẫu nhiên thành 3 lô nh sau:

- Lô 1: điều trị tại chỗ vết bỏng bằng kem herbavera (10 thỏ = 20 vết bỏng).

- Lô 2: điều trị tại chỗ vết bỏng bằng silverin (5 thỏ = 10 vết bỏng).

- Lô 3: điều trị tại chỗ vết bỏng bằng NMSL 0,9% (5 thỏ = 10 vết bỏng).

Bôi thuốc lên vết bỏng ngày một lần, trong 25 ngày.

Đánh giá tính an toàn của kem herbavera khi dùng điều trị vết thương bỏng thực nghiệm dựa vào các chỉ tiêu sau:

- *Sinh lý - dợc lý*: theo dõi tình trạng chung, hoạt động, ăn uống, phân, tình trạng nhiễm khuẩn, nhiễm độc.

- *Huyết học*: hồng cầu, hemoglobin, bạch cầu, tiểu cầu.

- *Sinh hóa*: SGOT, SGPT, ure, creatinin.

- *Mô bệnh học*: vào ngày thứ 25 sau bôi thuốc, giết mổ, quan sát hình ảnh đại thể gan, thận. Làm tiêu bản để nghiên cứu hình ảnh mô bệnh học gan, thận của tất cả các tổ thực nghiệm.

* *Thời điểm xét nghiệm*: lấy máu xét nghiệm các chỉ số sinh hóa, huyết học trước và sau bôi thuốc 25 ngày.

* *Ảnh hưởng của kem herbavera đến sự phát triển trọng lượng thỏ*:

Bảng 1:

THỜI ĐIỂM XÉT NGHIỆM	TRỌNG LƯỢNG CƠ THỂ (kg, $\bar{X} \pm SD$)			
	Lô NMSL (1) (n = 5)	Lô silverin (2) (n = 5)	Lô herbavera (3) (n = 10)	Giá trị p
Trước bôi thuốc (a)	1,99 ± 0,06	2,02 ± 0,10	2,02 ± 0,07	p ₂₋₁ > 0,05 p ₃₋₂ > 0,05 p ₃₋₁ > 0,05
Sau bôi thuốc (b)	2,13 ± 0,05	2,12 ± 0,10	2,11 ± 0,09	
p	p _{a-b} < 0,01			

Trọng lượng cơ thể của thỏ giữa 3 lô (lô bôi kem silverin 1%, lô bôi kem herbavera và lô bôi NMSL) tại các thời điểm thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). So sánh giữa các thời điểm sau so với trước bôi thuốc thấy trọng lượng cơ thể thỏ ở cả 3 lô đều tăng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$).

* *Ảnh hưởng của kem herbavera đối với một số chỉ tiêu huyết học của thỏ*:

Bảng 2:

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Độ kích ứng da của kem herbavera theo OECD.

Sau 72 giờ bôi thuốc cả 8 thỏ đều khoẻ mạnh, bình thường, không có biểu hiện gãi vào chỗ bôi. Các điểm bôi thuốc không có biểu hiện mẩn ngứa, da mịn bóng nh trước khi bôi. Đánh giá theo thang điểm xác định độ kích ứng da, chế phẩm có điểm trung bình kích ứng sơ cấp bằng 0.

2. Tính an toàn của kem herbavera.

* *Ảnh hưởng của kem herbavera lên tình trạng toàn thân thỏ thí nghiệm khi điều trị vết thương bỏng*:

Trong 1 - 2 ngày đầu, thỏ ăn ít hơn so với trước. Sau đó trở lại tương đối bình thường và sang tuần thứ 2 ăn uống tốt và nhanh nhẹn. Không có diễn biến khác nhau giữa các nhóm nghiên cứu.

THỜI ĐIỂM XÉT NGHIỆM	LÔ NMSL (1) (n = 5)	LÔ SILVERIN (2) (n = 5)	LÔ HERBAVERA (3) (n = 10)	GIÁ TRỊ p
Số lượng hồng cầu thô (x 10¹²/l, X ± SD)				
Trước bôi thuốc (a)	5,04 ± 0,23	4,65 ± 0,69	4,80 ± 0,48	<i>p</i> ₂₋₁ > 0,05 <i>p</i> ₃₋₂ > 0,05 <i>p</i> ₃₋₁ > 0,05
Sau bôi thuốc (b)	5,11 ± 0,36	4,73 ± 0,55	4,99 ± 0,39	
<i>p</i>	<i>p</i> _{b-a} > 0,05			
Số lượng huyết sắc tố thô (x g/l, X ± SD)				
Trước bôi thuốc (a)	108,50 ± 5,70	104,40 ± 9,45	101,10 ± 4,91	<i>p</i> ₂₋₁ > 0,05 <i>p</i> ₃₋₂ > 0,05 <i>p</i> ₃₋₁ > 0,05
Sau bôi thuốc (b)	108,60 ± 2,61	106,00 ± 5,39	103,20 ± 5,79	
<i>p</i>	<i>p</i> _{b-a} > 0,05			
Số lượng bạch cầu thô (x 10⁹/l, X ± SD)				
Trước bôi thuốc (a)	8,56 ± 1,09	9,02 ± 1,22	8,73 ± 1,62	<i>p</i> ₂₋₁ > 0,05 <i>p</i> ₃₋₂ > 0,05 <i>p</i> ₃₋₁ > 0,05
Sau bôi thuốc (b)	8,54 ± 1,08	8,99 ± 1,19	8,88 ± 1,33	
<i>p</i>	<i>p</i> _{b-a} > 0,05			
Số lượng tiểu cầu thô (x 10⁹/l, X ± SD)				
Trước bôi thuốc (a)	432,40 ± 144,46	525,40 ± 194,59	509,80 ± 139,56	<i>p</i> ₂₋₁ > 0,05 <i>p</i> ₃₋₂ > 0,05 <i>p</i> ₃₋₁ > 0,05
Sau bôi thuốc (b)	437,80 ± 119,13	518,60 ± 161,13	506,20 ± 141,77	
<i>p</i>	<i>p</i> _{b-a} > 0,05			

So sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm và giữa các lô ở cùng một thời điểm, các chỉ số huyết học của thử nghiệm cứu (số lượng HC, HST, BC, TC) thay đổi không có ý nghĩa thống kê (*p* > 0,05).

* Ảnh hưởng của kem herbavera đối với chức năng gan, thận:

Bảng 3:

THỜI ĐIỂM XÉT NGHIỆM	LÔ NMSL (1) (n = 5)	LÔ SILVERIN 1% (2) (n = 5)	LÔ HERBAVERA (3) (n = 10)	GIÁ TRỊ p
Hoạt độ enzym SGOT của thử (U/l, X ± SD)				
Trước bôi thuốc (a)	57,76 ± 7,26	57,28 ± 2,45	55,39 ± 6,79	<i>p</i> ₂₋₁ > 0,05 <i>p</i> ₃₋₂ > 0,05 <i>p</i> ₃₋₁ > 0,05
Sau bôi thuốc (b)	57,86 ± 7,44	58,53 ± 10,53	55,94 ± 7,36	
<i>p</i>	<i>p</i> _{b-a} > 0,05			
Hoạt độ enzym SGPT của thử (U/l, X ± SD)				
Trước bôi thuốc (a)	81,20 ± 6,63	77,78 ± 7,73	75,59 ± 11,62	<i>p</i> ₂₋₁ > 0,05 <i>p</i> ₃₋₂ > 0,05 <i>p</i> ₃₋₁ > 0,05
Sau bôi thuốc (b)	81,96 ± 8,30	73,38 ± 8,73	75,18 ± 11,97	
<i>p</i>	<i>p</i> _{b-a} > 0,05			
Nồng độ creatinin máu thử (μmol/l, X ± SD)				

Trước bôi thuốc (a)	64,38 ± 11,40	64,04 ± 7,84	59,54 ± 8,74	$p_{2-1} > 0,05$
Sau bôi thuốc (b)	64,26 ± 10,57	61,74 ± 9,82	59,71 ± 8,43	$p_{3-2} > 0,05$
p	$p_{b-a} > 0,05$			$p_{3-1} > 0,05$
Nồng độ ure máu th² (mmol/l, X ± SD)				
Trước bôi thuốc (a)	3,98 ± 0,73	3,72 ± 0,22	3,80 ± 0,42	$p_{2-1} > 0,05$
Sau bôi thuốc (b)	3,88 ± 0,90	3,58 ± 0,38	3,73 ± 0,76	$p_{3-2} > 0,05$
p	$p_{b-a} > 0,05$			$p_{3-1} > 0,05$

So sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm và giữa các lô ở cùng một thời điểm, hoạt độ enzyme SGOT, enzyme SGPT, hàm lượng creatinin máu, hàm lượng ure máu thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

* *Kết quả mô bệnh học tạng của thử thí nghiệm:*

Quan sát đại thể bằng mắt thường và dới kính lúp có độ phóng đại 25 lần thấy: màu sắc, hình thái của gan và thận ở 2 lô dùng kem herbavera và kem silverin không khác so với lô dùng NMSL.

Kết quả nghiên cứu về mô bệnh học gan, thận thử cho thấy kem herbavera dùng bôi tại chỗ tổn thương bong ngày một lần liên tục trong 25 ngày, không gây tổn thương trên gan, thận của thử.

KẾT LUẬN

Từ các kết quả nghiên cứu trên, chúng tôi rút ra kết luận:

- Kem herbavera không gây kích ứng da (độ kích ứng da bằng 0).

Sau 25 ngày điều trị liều dùng bôi tại chỗ vết bong mỗi ngày một lần, kem herbavera không ảnh hưởng đến tình trạng toàn thân và sự phát triển trọng lượng cơ thể, không độc với cơ quan tạo máu, không ảnh hưởng đến chức năng và mô bệnh học gan, thận, lách trên thử thí nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phùng Thị Vinh, Nguyễn Thị Lập. Một số phương pháp thử kích ứng da sơ cấp. Phòng Dược lý, Viện Kiểm nghiệm - Bộ Y tế.

2. Nguyễn Thị Ty. Tác dụng điều trị tại chỗ tổn thương bong thực nghiệm của tinh dầu trầm (Aetheroleum Cajeputi) và béc đầu ứng dụng lâm sàng. Luận án Phó TSKH - Y dược. Hà Nội, 1989.

3. OECD guideline for testing of chemicals adopted 12 may 81.