

ẢNH HƯỞNG CỦA THUỐC LIPIDAN ĐẾN QUÁ TRÌNH SINH SẢN PHÁT TRIỂN VÀ CHẤT LIỆU DI TRUYỀN TRÊN THỰC NGHIỆM

PHẠM VŨ KHÁNH - Học viện YDHCT Việt Nam

VŨ MẠNH HÙNG - Học viện Quân y

ĐẶT VẤN ĐỀ

LIPIDAN là viên nén Đông dược có tác dụng điều trị hội chứng rối loạn lipid máu. Thuốc đã được nghiên cứu đánh giá độc tính cấp và bán cấp trên thực nghiệm. Kết quả: quá trình bào chế không gây độc cho chế phẩm. Tuy nhiên, việc điều trị hội chứng rối loạn lipid máu trên lâm sàng thường tiến hành trong một thời gian tương đối dài. Vì vậy, để đánh giá độc tính trường diễn của thuốc, chúng tôi tiếp tục nghiên cứu đề tài này với mục tiêu: **Nghiên cứu ảnh hưởng của LIPIDAN đến quá trình sinh sản, phát triển và chất liệu di truyền trên thực nghiệm.**

NGUYÊN LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên liệu nghiên cứu

Nguyên liệu nghiên cứu là thuốc dạng viên nén LIPIDAN được nghiên cứu sản xuất trên quy mô pilot tại Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam và Đại học Dược Hà Nội. Số lô sản xuất: LPD15062008.

Thành phần cấu tạo cho một viên thuốc:

| | | | |
|---------------|-------|-------------|-------|
| Trần bì | 0,33g | Bán hạ chế | 0,33g |
| Bạch linh | 0,67g | Hậu phác | 0,25g |
| Nam mộc hương | 0,42g | Sơn tra | 0,33g |
| Ngũ gia bì | 0,33g | Sinh khương | 0,08g |
| Xa tiền tử | 0,33g | Tá dược | vỡ |

Dạng bào chế: thuốc được sản xuất dưới dạng viên nén, đóng lọ thành phẩm 50 viên/lọ.

Liều dùng: 12 viên/ngày, chia 3 lần, uống trước bữa ăn 20 – 30 phút.

2. Đối tượng nghiên cứu

Chuột nhắt trắng *Mus musculus* L. 500 con, dòng Swiss, trọng lượng từ 20 - 25g, khỏe mạnh, đủ tiêu chuẩn thí nghiệm do Trung tâm nghiên cứu ứng dụng y sinh dược, Học viện Quân y cung cấp.

3. Phương pháp nghiên cứu

Dùng LIPIDAN cho chuột nhắt trắng thí nghiệm uống qua kim công tày đầu, mỗi con chuột nhắt trắng uống

với thể tích giống nhau là 0,2ml/10 gam tính theo trọng lượng cơ thể (TLCT). Chúng tôi đã sử dụng mức liều cho chuột nhắt trắng là 2,40g/kgTLCT/24h ngoại suy dựa trên các số liệu đã nghiên cứu LD₅₀, liều nghiên cứu bán trường diễn trên động vật thí nghiệm và liều độ đã sử dụng cho người.

3.1 Nghiên cứu ảnh hưởng của LIPIDAN đối với quá trình sinh sản và phát triển ở chuột nhắt trắng

Tiến hành nghiên cứu trên ba thể hệ chuột nhắt trắng: P, F₁, F₂.

Các chỉ tiêu đánh giá:

- Tỷ lệ chuột nhắt trắng thụ thai (tính bằng %) so với tổng số.
- Số thai của mỗi chuột mẹ có chứa đã được phẫu tích (autopsy).
- Số thai chết (sớm/muộn), số thai dị tật (nếu có).
- Số chuột nhắt trắng con trung bình trong một lứa đẻ.
- Trọng lượng trung bình một con (tính bằng gam).
- Số ngày trung bình cần thiết nuôi để đạt TLCT là 20g ± 0,2g, đối với các thể hệ P, F₁, F₂.
- Các loại dị tật bẩm sinh quan sát được.

3.2 Nghiên cứu ảnh hưởng của LIPIDAN đến chất liệu di truyền trên thực nghiệm.

Trước thí nghiệm: 30 chuột thí nghiệm được cho uống LIPIDAN trong thời gian 30 ngày.

Chuột nhắt trắng được chia làm các lô: mỗi lô 5-6 chuột đực và 5-6 chuột cái.

Các chỉ tiêu đánh giá:

1. Tỷ lệ hồng cầu đa sắc/hồng cầu đơn sắc (PCE:NCE)/1000 tế bào/ chuột
2. Tỷ số (tính bằng %) vi nhân trên tế bào hồng cầu đa sắc (MN/PCE)

4. Thời gian nghiên cứu: năm 2009

5. Địa điểm nghiên cứu: Bộ môn Dược lý, Học viện Quân y.

KẾT QUẢ

1. Ảnh hưởng của LIPIDAN đến quá trình sinh sản trên chuột nhắt trắng

Bảng 1. Ảnh hưởng của LIPIDAN đến quá trình phát triển của thể hệ P

| Chỉ tiêu NC | Lô nghiên cứu (n là số CNT cái) | | | | So sánh | | |
|-----------------------------------|---------------------------------|----------------|-----------------|------------------|---------|---------|----------|
| | Lô chứng n = 30 | Lô I n = 30 | Lô II n = 30 | Lô III n = 30 | p (I-c) | p(II-c) | p(III-c) |
| Số CNT thụ thai | 25/30 | 24/30 | 24/30 | 25/30 | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| Số thai/ CNT mẹ | 10,40 ± 1,10 | 12,00 ± 1,20 | 13,00 ± 1,20 | 11,20 ± 1,10 | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| Số thai chết sớm/ muộn /dị tật | 0/0/0 | 0/0/0 | 0/0/0 | 0/0/0 | - | - | - |
| Số CNT cái đẻ | 20 | 19 | 19 | 20 | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| TLTB (CNT con) | 2,42 ± 0,21 | 2,38 ± 0,12 | 2,35 ± 0,17 | 2,34 ± 0,09 | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| Số ngày đẻ CNT con đạt 20g | 32,04 ± 2,38 | 33,02 ± 2,12 | 32,18 ± 2,04 | 33,36 ± 2,04 | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| Số CNT con có dị tật bẩm sinh | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - | - |

Ở thể hệ P :

- Tỷ lệ CNT cái thụ thai của các lô uống LIPIDAN so với lô chứng khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).
- Số bào thai trung bình của mỗi CNT ở thể hệ P giữa các lô thử - chứng khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).
- Trọng lượng trung bình của CNT sơ sinh khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) giữa lô chứng với các lô thử.
- Số ngày trung bình cần nuôi để CNT con đạt TLTB 20g của các lô khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).
- Không thấy có thai chết sớm/ muộn.
- Số CNT sinh ra không phát hiện thấy dị tật bẩm sinh

Bảng 2. Ảnh hưởng của LIPIDAN đến quá trình phát triển của thể hệ F₁

| Chỉ tiêu NC | Lô nghiên cứu (n là số CNT cái) | | | | So sánh | | |
|--------------------------------|---------------------------------|--------------|---------------|----------------|---------|---------|----------|
| | Lô chứng n=30 | Lô I n=30 | Lô II n=30 | Lô III n=30 | p (I-c) | p(II-c) | p(III-c) |
| Số CNT thụ thai | 24/30 | 25/30 | 24/30 | 26/30 | > 0,05 | >0,05 | > 0,05 |
| Số thai/ CNT mẹ | 12,30 ± 1,20 | 13,10 ± 1,10 | 12,20 ± 1,40 | 11,30 ± 1,60 | > 0,05 | >0,05 | > 0,05 |
| Số thai chết sớm/ muộn/ dị tật | 0/0/0 | 0/0/0 | 0/0/0 | 0/0/0 | | | |
| Số CNT cái đẻ | 19 | 19 | 18 | 19 | > 0,05 | > 005 | > 0,05 |
| TLTB (CNT con) | 2,24 ± 0,24 | 2,28 ± 0,14 | 2,34 ± 0,16 | 2,25 ± 0,18 | > 0,05 | >0,05 | > 0,05 |
| Số ngày để CNT con đạt 20g | 32,84 ± 2,10 | 32,12 ± 2,30 | 33,48 ± 2,24 | 32,08 ± 2,40 | > 0,05 | >0,05 | > 0,05 |
| Số CNT con có dị tật bẩm sinh | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - | - |

Ở thể hệ F₁:

- Tỷ lệ CNT cái có thai của các lô uống LIPIDAN so với lô chứng khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).
- Số bào thai TB của mỗi CNT mẹ so sánh giữa các lô thử - chứng khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).
- Trọng lượng trung bình của CNT sơ sinh giữa lô chứng và các lô thử khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).
- Số ngày trung bình cần nuôi để CNT con đạt TLTB 20g của các lô khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).
- Không thấy có thai chết sớm/ muộn. Số CNT sinh ra không phát hiện thấy dị tật bẩm sinh.

Bảng 3. Ảnh hưởng của LIPIDAN đến quá trình phát triển của thể hệ F₂

| Chỉ tiêu NC | Lô nghiên cứu (n là số CNT cái) | | | | So sánh | | |
|--------------------------------|---------------------------------|--------------|---------------|----------------|---------|---------|----------|
| | Lô chứng n=30 | Lô I n=30 | Lô II n=30 | Lô III n=30 | p (I-c) | p(II-c) | p(III-c) |
| Số CNT thụ thai | 26/30 | 25/30 | 26/30 | 25/30 | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| Số thai/ CNT mẹ | 12,40 ± 1,40 | 13,40 ± 2,70 | 12,60 ± 1,40 | 14,08 ± 2,20 | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| Số thai chết sớm/ muộn/ dị tật | 0/0/0 | 0/0/0 | 0/0/0 | 0/0/0 | - | - | - |
| Số CNT cái đẻ | 21 | 20 | 19 | 18 | > 0,05 | > 005 | > 0,05 |
| TLTB (CNT con) | 2,48 ± 0,12 | 2,52 ± 0,22 | 2,44 ± 0,26 | 2,44 ± 0,26 | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| Số ngày để CNT con đạt 20g | 32,60 ± 3,00 | 33,28 ± 2,40 | 32,12 ± 2,32 | 34,08 ± 2,34 | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| Số CNT con có dị tật bẩm sinh | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - | - |

Ở thể hệ F₂:

- Tỷ lệ CNT cái có thai của các lô uống LIPIDAN so với lô chứng khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).
- Số bào thai TB của mỗi CNT mẹ so sánh giữa các lô thử - chứng khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).
- Trọng lượng trung bình của CNT sơ sinh giữa lô chứng và các lô thử khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).
- Số ngày trung bình cần nuôi để CNT con đạt TLTB 20g của các lô khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).
- Không thấy có thai chết sớm/ muộn. Số CNT sinh ra không phát hiện thấy dị tật bẩm sinh.

2. Kết quả nghiên cứu về chất liệu di truyền (MN-test)

Bảng 4. Tỷ lệ hồng cầu đa sắc: hồng cầu đơn sắc (PCE:NCE)/1000 tế bào/ CNT và tỷ lệ % vi nhân trên tế bào hồng cầu đa sắc (MN/PCE)

| Lô chứng | STT | PCE | NCE | PCE:NCE | PCE tổng | MN | PMN (%) |
|----------|-----|-----|-----|---------|----------|----|---------|
| cái | 1 | 700 | 450 | 1,56 | 700 | 7 | 1,0 |
| cái | 2 | 550 | 400 | 1,38 | 1000 | 10 | 1,0 |
| cái | 3 | 585 | 415 | 1,41 | 1000 | 11 | 1,1 |
| cái | 4 | 650 | 410 | 1,86 | 1000 | 9 | 0,9 |
| cái | 5 | 600 | 350 | 1,71 | 1000 | 8 | 0,8 |
| đực | 6 | 700 | 390 | 1,79 | 700 | 8 | 1,14 |
| đực | 7 | 567 | 442 | 1,28 | 750 | 11 | 1,47 |
| đực | 8 | 652 | 377 | 1,73 | 750 | 9 | 1,2 |
| đực | 9 | 676 | 388 | 1,74 | 750 | 8 | 1,01 |
| đực | 10 | 663 | 414 | 1,60 | 750 | 8 | 1,01 |
| đực | 11 | 579 | 460 | 1,26 | 750 | 9 | 1,2 |

| Lô 1 | STT | PCE | NCE | PCE:NCE | PCE tổng | MN | PMN (%) |
|------|-----|------|-----|---------|----------|----|---------|
| cái | 1 | 1000 | 760 | 1,32 | 1000 | 9 | 0,9 |
| cái | 2 | 1000 | 752 | 1,33 | 1000 | 10 | 1,0 |
| cái | 3 | 1000 | 635 | 1,57 | 1000 | 12 | 1,2 |
| cái | 4 | 1000 | 822 | 1,22 | 1000 | 18 | 1,8 |
| cái | 5 | 1000 | 727 | 1,38 | 1000 | 11 | 1,1 |
| đực | 7 | 1000 | 676 | 1,48 | 1000 | 9 | 0,9 |
| đực | 8 | 1000 | 805 | 1,24 | 1000 | 11 | 1,1 |
| đực | 9 | 1000 | 776 | 1,29 | 1000 | 10 | 1,0 |
| đực | 10 | 1000 | 707 | 1,41 | 1000 | 12 | 1,2 |
| đực | 11 | 1000 | 617 | 1,62 | 1000 | 11 | 1,1 |
| đực | 12 | 1000 | 640 | 1,56 | 1000 | 15 | 1,5 |

| Lô 2 | STT | PCE | NCE | PCE:NCE | PCE tổng | MN | PMN (%) |
|------|-----|-----|-----|---------|----------|----|---------|
| đực | 1 | 682 | 462 | 1,48 | 1000 | 11 | 1,1 |
| đực | 2 | 794 | 567 | 1,40 | 1000 | 10 | 1,0 |
| đực | 3 | 590 | 355 | 1,66 | 1000 | 15 | 1,5 |
| đực | 4 | 693 | 465 | 1,49 | 1000 | 16 | 1,6 |
| đực | 5 | 527 | 423 | 1,25 | 750 | 12 | 1,6 |
| cái | 6 | 524 | 489 | 1,07 | 1000 | 11 | 1,1 |
| cái | 7 | 647 | 533 | 1,21 | 1000 | 12 | 1,2 |
| cái | 8 | 709 | 402 | 1,76 | 1000 | 10 | 1,0 |
| cái | 9 | 850 | 460 | 1,85 | 850 | 12 | 1,41 |
| cái | 10 | 800 | 450 | 1,78 | 800 | 10 | 1,25 |
| cái | 11 | 691 | 400 | 1,73 | 1300 | 15 | 1,15 |

Tổng hợp kết quả :

| | PCE:NCE | Tổng số PCE | Số MN | Tỷ lệ(%) MN/PCE |
|----------|-------------------------------------|-------------|-------|-------------------------------------|
| Lô chứng | 1,55 ± 0,19 | 9150 | 98 | 1,07 ± 0,18 |
| Lô 1 | 1,40 ± 0,14 | 11000 | 128 | 1,16 ± 0,27 |
| Lô 2 | 1,52 ± 0,27 | 10700 | 134 | 1,26 ± 0,23 |
| p | C-1 >0,05 C-2 >0,05 1-2 >0,05 | | | C-1 >0,05 C-2 >0,05 1-2 >0,05 |

Nhận xét:

Tỷ lệ hồng cầu non đa sắc (PCE)/ hồng cầu trưởng thành đơn sắc (NCE) trong tủy xương chuột giảm không có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm chuột uống thuốc và chuột không uống thuốc. Điều đó chứng tỏ thuốc không gây độc tính đối với tủy xương trong chức năng phân chia tế bào máu tạo hồng cầu.

Tỷ lệ vi nhân trên tế bào hồng cầu non - đa sắc của các nhóm uống thuốc LIPIDAN so với nhóm chứng không uống thuốc khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

BÀN LUẬN

LIPIDAN là một chế phẩm được tạo ra từ các loại thảo dược trong nước có tác dụng điều trị hội chứng rối loạn lipid máu. Công thức bài thuốc được thành lập theo lý luận cơ bản của y học cổ truyền (YHCT). Để đảm bảo rằng thuốc không gây độc đối với quá trình sinh sản, phát triển và di truyền, chúng tôi tiến hành thực hiện nghiên cứu trên ba thế hệ chuột nhắt trắng. Kết quả nghiên cứu cho thấy: thuốc không gây độc với chất liệu di truyền ở mức liều đã khảo sát. LIPIDAN an toàn ở mức liều đã sử dụng.

Với kết quả trên, có thể nói sử dụng LIPIDAN để

điều trị hội chứng rối loạn lipid máu trong thời gian dài là tương đối an toàn. Điều này tạo tâm lý yên tâm cho người bệnh vì quá trình điều trị hội chứng rối loạn lipid máu thường được thực hiện trong thời gian dài.

KẾT LUẬN

1. Ảnh hưởng của LIPIDAN đến sự sinh sản, phát triển trên ba thế hệ chuột nhắt trắng (P, F₁ và F₂):

- Thuốc không ảnh hưởng tới khả năng thụ thai, số thai trung bình ở mỗi chuột mẹ, số chuột con được sinh ra ở mỗi lứa, trọng lượng trung bình của chuột con mới sinh.

- Không phát hiện thấy thai chết sớm, chết muộn, dị tật bẩm sinh ở các chuột nhắt trắng con được sinh ra.

2. Ảnh hưởng của LIPIDAN trên chất liệu di truyền:

- Chưa thấy ảnh hưởng đến chất liệu di truyền trên test vi nhân ở tế bào hồng cầu tủy xương chuột nhắt trắng.

- Không thấy các rối loạn và bất thường của chất liệu di truyền.

Như vậy LIPIDAN không gây độc với chất liệu di truyền ở mức liều đã khảo sát. LIPIDAN an toàn ở mức liều đã sử dụng.

SUMMARY

Lipidan is one sort of herbal tablet which has effect in the treatment of lipid metabolism disorders. Drugs have been studied in order to assess the acute and sub-acute toxicity through the experiment upon animals. Because the treatment of lipid metabolism disorders clinically takes quite a long time, so we continued research to evaluate chronic toxicity of the drug on three generations of white mice. Our results showed that: Drugs were not toxic to genetic materials in the dose surveyed. LIPIDAN was safe at doses used.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (1996), Quy định về nghiên cứu dược lý các thuốc y học cổ truyền dân tộc. Ban hành kèm theo Quyết định số 371/QĐ-BYT ngày 12 tháng 3 năm 1996 của Bộ trưởng Bộ Y tế.

2. WHO (1992), Recommendations guiding physicians in biomedical research involving human subject, Declaration of Helsinki From World Drug Information, Vol 6. N^o4, pp 186 - 188

3. WHO (1992), Report of the meeting of the working group on the safety and efficacy of herbal medicine; Manila, pp 5 - 9 - 10

4. WHO (1993), Research guidelines for evaluating the safety and efficacy on herbal medicine, Regional office for the Western Pacific, Manila, Philippines.

5. Cimino M.C. (2001), New OECD genetic toxicology guidelines and interpretation of results, W.n Chog (ed.), Genetic Toxicology and Cancer Risk Assessment, Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 223-248.

6. Drew R.T. et al. (1978), Environmental inhalation chambers. Methods of Animal Experimentation, Vol.IV. Academic Press, New York, pp.1-41.

7. ICH (1996), Technical requirement for registration of pharmaceutical for human use. Guidance on specific aspects of regulatory genotoxicity test for pharmaceuticals. S2A document recommended for adoption at step 4 of the ICH process on July 19, 1995. federal register 61: 18198-18202, April 24, pp. 275-291.