KHẢO SÁT TÁC DỤNG HẠ LIPID MÁU CỦA VIÊN THANH MẠCH AN (CHẾ PHẨM PHỐI HỢP CHÈ ĐẮNG, GIẢO CỔ LAM, NGƯU TẤT, HOA HÒE VÀ NGHỆ) TRÊN THỰC NGHIỆM

Trần Mỹ Tiên, Chung Thị Mỹ Duyên*, Nguyễn Thị Thu Hương**

TÓM TẮT

Mục tiêu nghiên cứu: *Rối loạn lipid máu được xem là một trong những nguy cơ quan trọng trong sự hình thành và phát triển của bệnh xơ vữa động mạch, dẫn đến đột quỵ, nhồi máu cơ tim, và hầu hết các bệnh tim mạch nói chung. Chế phẩm viên Thanh Mạch An (phối hợp các dược liệu Chè đắng, Giảo cổ lam, Ngưu tất, Hoa hòe và Nghệ) được chọn để nghiên cứu tác dụng trên thực nghiệm gây tăng lipid máu nội sinh bằng tyloxapol nhằm mục đích cung cấp các dữ liệu khoa học cho ứng dụng của chế phẩm trong hổ trợ điều trị tăng lipid máu và các bệnh lý tim mạch liên quan.*

Đối tượng- Phương pháp nghiên cứu: *Chế phẩm viên Thanh Mạch An do công ty Giai Cảnh cung cấp. Mô hình tăng lipid máu nội sinh bằng tyloxapol (triton WR-1339): Chuột được chia lô và cho uống nước cất (lô chứng), viên Thanh Mạch An (lô thử) hay atorvastatin (lô đối chiếu) theo hai phác đồ điều trị và dự phòng. Chuột thử nghiệm được gây tăng lipid máu cấp hay mạn bằng cách tiêm phúc mạc tyloxapol liều 400 mg/kg thể trọng hay tiêm tĩnh mạch đuôi chuột các liều lập lại của tyloxapol liều 250 mg/kg, 3 lần/tuần trong 2 tuần. Lấy máu chuột để định lượng các chỉ số sinh hóa triglycerid, cholesterol toàn phần, HDL-cholesterol và LDL- cholesterol và tách gan chuột để định lượng malondialdehyd (MDA).*

Kết quả: *Kết quả nghiên cứu cho thấy mô hình gây tăng lipid máu nội sinh bằng tyloxapol làm tăng hàm lượng triglycerid, cholesterol, LDL-cholesterol, và giảm HDL-cholesterol ở lô chứng uống nước cất. Viên Thanh Mạch An liều uống 1 đến 2 viên/kg thể trọng chuột (tương đương với liều sử dụng trên người là 4-8 viên/ngày tính theo hệ số quy đổi) có tác dụng làm giảm sự tăng trị số triglycerid, cholesterol toàn phần, giảm LDL-cholesterol và tăng trị số HDL-cholesterol, tương tự như atorvastatin trong bệnh cảnh tăng lipid máu nội sinh cấp hay mạn tính gây bởi tyloxapol. Trên cơ địa bình thường, viên Thanh Mạch An liều 2 viên/kg cũng có tác dụng làm tăng HDL-cholesterol sau thời gian dài sử dụng (2-3 tuần). Ngoài ra, viên Thanh Mạch An làm giảm sự tăng MDA trong gan trong mô hình gây tăng lipid máu, thể hiện tác dụng bảo vệ gan trước tổn thương oxy hóa.*

Kết luận: *Viên Thanh Mạch An thể hiện tác dụng điều hòa sự tăng lipid máu thực nghiệm và có tác dụng bảo vệ gan trước tổn thương oxy hóa gây bởi bệnh cảnh tăng lipid máu.*

Từ khóa: *Viên Thanh Mạch An, tyloxapol, tác dụng hạ lipid máu, tác dụng bảo vệ gan.*

ABSTRACT

EVALUATING HYPOLIPIDEMIC EFFECT OF "THANH MACH AN" CAPSULE (COMBINED FROM EVODIA LEPTA, GYNOSTEMMA PENTAPHYLLUM, ACHYRANTHES BIDENTATA, STYPHNOLOBIUM JAPONICUM AND CURCUMA LONGA) ON EXPERIMENT STUDY

Tran My Tien, Chung Thi My Duyen, Nguyen Thi Thu Huong

* Y Hoc TP. Ho Chi Minh * Supplement of Vol. 19 - No 5 - 2015: 182 - 190

Experimental Objective: *Dyslipidemia is considered as one of the factors that causes the formation and development of atherosclerosis, which is known as one of the critical reasons for stroke, heart failure and*

* Trung Tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh-Viện Dược liệu

Tác giả liên lạc: PGS.TS. Nguyễn Thị Thu Hương *ĐT*: 38274377 *Email*: huongsam@hotmail.com

cardiovascular diseases. "Thanh Mach An" capsules (combined from Evodia lepta, Gynostemma pentaphyllum, Achyranthes bidentata, Styphnolobium japonicum and Curcuma longa) were subjected to study its medicinal effects on tyloxapol-induced experimental hyperlipidemia model in order to provide scientific data for the application of this preparation in the treatment of dyslipidemia and related cardiovascular diseases.

Materials and Methods: *"Thanh Mach An" capsules were provided by Giai Canh Company Ltd. Tyloxapol (triton WR-1339)-induced endogenous hyperlipidemia model was conducted as follows: Mice were randomly divided into control groups (distilled water), test groups ("Thanh Mach An" capsules) or positive control groups (atorvastatin) for pretreatment or treatment protocol. Mice were intraperitoneally injected with tyloxapol at the dose of 400 mg/kg body weight for acute hyperlipidemia or intravenously injected with repeated doses of tyloxapol (250 mg/kg, 3 times per week for 2 weeks) for chronic hyperlipidemia. Blood samples were taken to measure plasma biochemical indices of triglycerides, total cholesterol, HDL-cholesterol, and LDL-cholesterol. Hepatic malondialdehyde (MDA) content was used to evaluate hepatoprotective effect.*

Results: *Results showed that tyloxapol induced increases in plasma triglyceride, total cholesterol, and LDL-cholesterol levels in control groups in parallel with HDL-cholesterol decrease. Treatment of "Thanh Mach An" capsules at the oral dose of 1 to 2 capsules/kg mice body weight (equivalent to 4 to 8 capsules/day on human dosage based on conversion coefficient) as well as hypolipidemic drug atorvastatin reduced elevated plasma triglycerides, total cholesterol, and LDL-cholesterol in tyloxapol-induced hyperlipidemia in mice. Furthermore, "Thanh Mach An" capsules as well as atorvastatin elevated plasma HDL-cholesterol level in tyloxapol-induced hyperlipidemia in mice. "Thanh Mach An" capsules showed reduced level of hepatic MDA which was statistically significant compared with control group.*

Conclusion: *"Thanh Mach An" capsules exhibited hypolipidemic effects and hepatoprotective effect prior to liver oxidative damage caused by experimental hyperlipidemia model.*

Key words: *"Thanh Mach An" capsules, tyloxapol, hypolipidemic effect, hepatoprotective effect.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo tài liệu của tổ chức Y tế thế giới dự báo đến năm 2020, bệnh tim mạch, bệnh động mạch vành, đột quỵ với căn nguyên từ xơ vữa động mạch là nguyên nhân gây tử vong và tàn phế hàng đầu trên thế giới. Nguyên nhân của bệnh xơ vữa động mạch chủ yếu là do các rối loạn lipid máu. Xơ vữa động mạch với các biểu hiện lâm sàng như suy mạch vành, đột tử, nhồi máu cơ tim, nhồi máu não... Đang có xu hướng tăng nhanh theo nhịp độ phát triển của xã hội. Nhiều nghiên cứu thực nghiệm và lâm sàng đã chứng minh bệnh xơ vữa động mạch có mối liên hệ mật thiết với hàm lượng cholesterol và các thành phần lipid trong máu. Các nhóm thuốc điều trị tăng lipid máu có nguồn gốc tân dược có hiệu quả nhưng gây ít nhiều tác dụng phụ điển hình như nhóm statin làm tăng nguy cơ mắc các bệnh cơ và/hoặc tiêu cơ vân. Với tiêu chí đảm bảo an toàn trong điều trị, nhiều nhà khoa học trên thế giới đang có xu hướng quay về các thuốc có nguồn gốc tự nhiên hay các bài thuốc y học cổ truyền trong việc hỗ trợ điều trị các bệnh lý. Chế phẩm viên Thanh Mạch An (phối hợp các dược liệu Chè đắng, Giảo cổ lam, Ngưu tất, Hoa hòe và Nghệ) được chọn để nghiên cứu tác dụng trên thực nghiệm gây tăng lipid máu nội sinh bằng tyloxapol cấp hay mạn nhằm mục đích cung cấp các dữ liệu khoa học cho ứng dụng của chế phẩm này trong hổ trợ điều trị tăng lipid máu và các bệnh lý tim mạch liên quan.

ĐỐI TƯỢNG - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Viên Thanh Mạch An được cung cấp bởi Công ty TNHH Giai Cảnh, đóng gói hộp 30 viên nang, cùng lô sản xuất: 29/2013, ngày sản xuất 15/04/2013 và hạn dùng 04/2016. Thành phần chính trong mỗi viên: 300 mg cao khô gồm chè

đắng (*Evodia lepta*)(15%), giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum*) (45%), ngưu tất (*Achyranthes bidentata*) (20%), hoa hòe (*Styphnolobium japonicum*) (20%), nghệ (*Curcuma longa*) 50 mg và tá dược vừa đủ 500 mg. Liều thử nghiệm được tính dựa trên liều dự kiến sử dụng của viên Thanh Mạch An trên người là 5 viên/ngày và quy đổi ra liều thử trên chuột nhắt trắng là liều 1 viên/kg (liều thử 1) và liều 2 viên/kg (liều thử 2)[7].

Động vật thử nghiệm

Chuột nhắt trắng đực (chủng *Swiss albino*, 5-6 tuần tuổi, trọng lượng trung bình 25 g ± 2 g) được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế Nha Trang, nuôi trong điều kiện ổn định về chế độ dinh dưỡng. Thể tích cho uống mẫu thử hoặc tiêm phúc mạc là 10 ml/kg thể trọng chuột. Thời điểm cho chuột uống hay tiêm trong khoảng 8-9 giờ sáng.

Hóa chất

Các bộ kit định lượng triglycerid, cholesterol toàn phần, HDL-cholesterol và LDL- cholesterol (hãng Human Co., Germany).

Thuốc thử nghiệm

Tyloxapol (triton WR-1339) và acid thiobarbituric (Sigma-Aldrich, USA); Atorvastatin (Lipitor®, chứa 20 mg atorvastatin, Pfizer).

Mô hình gây tăng lipid máu cấp bằng tyloxapol (Triton WR-1339)[4,2]

Chuột được chia lô và cho uống nước cất (lô chứng), viên Thanh Mạch An (lô thử) hay atorvastatin (lô đối chiếu) theo hai phác đồ điều trị và dự phòng.

Phác đồ điều trị

Chuột được cho nhịn đói 16 giờ trước khi gây tăng lipid máu, sau đó tiêm phúc mạc liều duy nhất tyloxapol là 400 mg/kg thể trọng chuột. Sau khi tiêm tyloxapol, chuột được điều trị bằng viên Thanh Mạch An (liều 1 viên/kg và liều 2 viên/kg, uống 3 lần, lúc 9 giờ sáng, 5 giờ chiều và 24 giờ sau) và atorvastatin (liều 20 mg/kg, uống một lần trong ngày vào lúc 5 giờ chiều). Lấy máu chuột sau 24 giờ và sau 48 giờ tiêm tyloxapol để định lượng triglycerid, cholesterol toàn phần, LDL-cholesterol và HDL-cholesterol trong huyết tương.

Phác đồ dự phòng

Chuột ở các lô được cho uống thuốc thử nghiệm hằng ngày trong 8 ngày. Vào ngày thứ 7, một giờ sau khi uống viên Thanh Mạch An, gây tăng lipid máu bằng tiêm phúc mạc tyloxapol liều 400 mg/kg thể trọng. Vào ngày thứ 8, một giờ sau khi uống viên Thanh Mạch An và 24 giờ sau khi tiêm tyloxapol, tiến hành lấy máu chuột để định lượng các chỉ số triglycerid, cholesterol, LDL-cholesterol và HDL-cholesterol trong huyết tương.

Mô hình gây tăng lipid máu mạn bằng tiêm liều lập lại của tyloxapol[4,5]

Chuột được cho nhịn đói 16 giờ và được gây tăng lipid máu bằng cách tiêm tĩnh mạch đuôi chuột các liều lập lại của tyloxapol liều 250 mg/kg, 3 lần/tuần trong 2 tuần. Sau đó, chuột được điều trị hàng ngày bằng viên Thanh Mạch An (lô thử, uống một lần trong ngày vào lúc 5 giờ chiều) và atorvastatin (lô đối chiếu, uống một lần trong ngày vào lúc 5 giờ chiều) trong suốt 3 tuần. Trong quá trình điều trị, chuột vẫn được tiêm tyloxapol 3 lần/tuần để duy trì mức tăng cholesterol hay triglycerid. Lấy máu chuột để định lượng triglycerid, cholesterol toàn phần, LDL-cholesterol và HDL-cholesterol trong huyết tương.

Phương pháp xác định hàm lượng malondialdehyd (MDA) trong gan chuột[3]

Tách gan chuột và nghiền đồng thể trong dung dịch đệm KCl 1,15 %. Lấy 1-2 ml dịch đồng thể, thêm dung dịch đệm Tris (pH = 7,4) vđ 3 ml. Ủ hỗn hợp phản ứng ở 37^{o}C trong 60 phút và dừng phản ứng bằng 1 ml acid tricloacetic 10%. Sau khi ly tâm lấy 2 ml dịch trong cho phản ứng với 1 ml acid thiobarbituric 0,8% ở 100^{o}C trong 15 phút và đo quang ở λ = 532 nm. Hàm lượng

MDA (nM/ml) được tính theo phương trình hồi quy tuyến tính của chất chuẩn MDA.

Đánh giá kết quả

Các số liệu được biểu thị bằng trị số trung bình: M ± SEM (Standard error of the mean – sai số chuẩn của giá trị trung bình) và xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One–Way ANOVA và Student-Newman-Keuls test (phần mềm SigmaStat 3.5). Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi $p < 0,05$ so với lô chứng.

KẾT QUẢ-BÀN LUẬN

Mô hình gây tăng lipid máu cấp

Phác đồ điều trị

***Bảng 1**. Hàm lượng triglycerid và cholesterol toàn phần trong huyết tương sau tiêm tyloxapol 24 giờ và 48 giờ trong phác đồ điều trị.*

Nhóm	Lô thử nghiệm n = 10	Triglycerid (mg/dl)	Cholesterol toàn phần (mg/dl)
Tyloxapol (-) sau 24 giờ	Chứng sinh lý	109,50 ± 7,17	84,0 ± 4,22
Tyloxapol (+) sau 24 giờ	Chứng bệnh lý	917,30 ± 5,76#	303,10 ± 11,72#
	Thanh mạch an liều 1 viên/kg	829,60 ± 27,02*	238,20 ± 17,39*
	Thanh mạch an liều 2 viên/kg	765,30 ± 25,03*	251,50 ± 14,59*
	Atorvastatin 20 mg/kg	686,30 ± 43,18*	186,70 ± 18,37*
Tyloxapol (-) sau 48 giờ	Chứng sinh lý	127,40 ± 10,65	71,80 ± 3,71
Tyloxapol (+) sau 48 giờ	Chứng bệnh lý	205,40 ± 10,93#	96,0 ± 2,67#
	Thanh mạch an liều 1 viên/kg	143,90 ± 7,49*	71,30 ± 4,61*
	Thanh mạch an liều 2 viên/kg	167,80 ± 4,85*	70,30 ± 3,53*
	Atorvastatin 20 mg/kg	145,0 ± 17,88*	74,10 ± 4,91*

**: p < 0,05 so với lô chứng bệnh lý trong cùng nhóm #: p < 0,05 so với lô chứng sinh lý*

Kết quả ở bảng 1 cho thấy lô chứng bệnh lý tiêm tyloxapol có hàm lượng triglycerid và cholesterol toàn phần tăng sau 24 giờ và giảm dần sau 48 giờ tiêm, khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý không tiêm tyloxapol, chứng tỏ mô hình gây tăng lipid máu đạt ở hai thời điểm khảo sát. Ở nhóm tiêm tyloxapol vào thời điểm 24 giờ hoặc 48 giờ sau khi gây mô hình, hàm lượng triglycerid và cholesterol toàn phần ở các lô uống viên Thanh Mạch An liều 1 viên hay 2 viên/kg thể trọng đều giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý, tương tự như lô điều trị bằng thuốc đối chiếu atorvastatin.

***Bảng 2**. Hàm lượng LDL-cholesterol và HDL-cholesterol trong huyết tương sau tiêm tyloxapol 24 giờ và 48 giờ trong phác đồ điều trị*

Nhóm	Lô thử nghiệm n = 10	LDL-cholesterol (mg/dl)	HDL-cholesterol (mg/dl)
Tyloxapol (-) sau 24 giờ	Chứng sinh lý	13,50 ± 0,99	26,95 ± 1,43
Tyloxapol (+) sau 24 giờ	Chứng bệnh lý	31,70 ± 3,21#	16,08 ± 1,78#
	Thanh mạch an 1 viên/kg	16,83 ± 1,74*	29,02 ± 2,07*
	Thanh mạch an 2 viên/kg	17,33 ± 1,10*	41,49 ± 4,01*#
	Atorvastatin 20 mg/kg	17,40 ± 1,81*	36,13 ± 3,94*#
Tyloxapol (-) sau 48 giờ	Chứng sinh lý	9,30 ± 0,93	27,62 ± 3,35
Tyloxapol (+) sau 48 giờ	Chứng bệnh lý	27,20 ± 3,31#	18,75 ± 1,89#
	Thanh mạch an 1 viên/kg	17,17 ± 2,02*#	32,51 ± 3,10*
	Thanh mạch an 2 viên/kg	15,92 ± 1,65*#	38,53 ± 4,56*#
	Atorvastatin 20 mg/kg	12,60 ± 1,87*	34,99 ± 2,34*#

**: p < 0,05 so với lô chứng bệnh lý trong cùng nhóm #: p < 0,05 so với lô chứng sinh lý*

Kết quả ở bảng 2 cho thấy lô chứng bệnh lý tiêm tyloxapol có hàm lượng LDL-cholesterol tăng và hàm lượng HDL-cholesterol giảm sau 24 giờ và 48 giờ, khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý không tiêm tyloxapol, chứng tỏ mô hình gây tăng lipid máu đạt tiêu chí làm tăng LDL-cholesterol và giảm HDL-cholesterol ở hai thời điểm khảo sát. Ở nhóm bệnh lý vào thời điểm 24 giờ hoặc 48 giờ sau khi gây mô hình, hàm lượng LDL-cholesterol giảm và hàm lượng HDL-cholesterol tăng ở các lô uống viên Thanh Mạch An liều 1 viên hay 2 viên/kg thể trọng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý, tương tự như lô điều trị bằng atorvastatin. Riêng hàm lượng HDL-cholesterol ở lô uống viên Thanh Mạch An liều 2 viên/kg và lô điều trị bằng atorvastatin tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý tương ứng. Điều này chứng tỏ, viên Thanh Mạch An sử dụng theo phác đồ điều trị thể hiện tác dụng làm giảm sự tăng trị số LDL-cholesterol, một cholesterol xấu và làm tăng trị số HDL-cholesterol, một cholesterol tốt trong mô hình tăng lipid máu nội sinh bằng tyloxapol.

Phác đồ dự phòng

Bảng 3*. Hàm lượng triglycerid và cholesterol toàn phần trong huyết tương sau tiêm tyloxapol 24 giờ và 48 giờ trong phác đồ dự phòng*

Nhóm	Lô thử nghiệm n = 10	Triglycerid (mg/dl)	Cholesterol toàn phần (mg/dl)
Tyloxapol (-) sau 24 giờ	Chứng sinh lý	110,10 ± 11,01	75,20 ± 6,96
	Thanh mạch an liều 2 viên/kg	102,90 ± 6,51	74,60 ± 3,88
Tyloxapol (+) sau 24 giờ	Chứng bệnh lý	885,50 ± 18,12#	322,75 ± 21,84#
	Thanh mạch an liều 1 viên/kg	746,30 ± 91,10	242,42 ± 23,31*
	Thanh mạch an liều 2 viên/kg	627,90 ± 94,90*	218,50 ± 29,61*
Tyloxapol (-) sau 48 giờ	Chứng sinh lý	108,60 ± 11,29	69,40 ± 3,28
	Thanh mạch an liều 2 viên/kg	83,40 ± 10,25	71,50 ± 3,66
Tyloxapol (+) sau 48 giờ	Chứng bệnh lý	254,70 ± 23,05#	133,67 ± 8,27#
	Thanh mạch an liều 1 viên/kg	203,50 ± 11,58	104,25 ± 4,92*
	Thanh mạch an liều 2 viên/kg	161,90 ± 11,29*	99,75 ± 6,58*

**: p < 0,05 so với lô chứng bệnh lý trong cùng nhóm #: p < 0,05 so với lô chứng sinh lý*

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy Viên Thanh Mạch An liều 1 hoặc 2 viên/kg thể trọng uống trong 8 ngày không ảnh hưởng trên hàm lượng triglycerid và cholesterol toàn phần ở nhóm không tiêm tyloxapol chứng tỏ Viên Thanh Mạch An không ảnh hưởng đến trị số triglycerid và cholesterol toàn phần trên cơ địa chuột bình thường.

Lô chứng bệnh lý tiêm tyloxapol có hàm lượng triglycerid và cholesterol toàn phần tăng sau 24 giờ tiêm và giảm dần sau 48 giờ tiêm, khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý không tiêm tyloxapol, chứng tỏ mô hình gây tăng lipid máu đạt ở hai thời điểm khảo sát. Lô uống viên Thanh Mạch An liều 1 viên/kg và 2 viên/kg thể trọng dự phòng trước 7 ngày làm giảm hàm lượng triglycerid so với lô chứng bệnh nhưng chỉ đạt ý nghĩa thống kê ở liều 2 viên/kg thể trọng. Hàm lượng cholesterol toàn phần ở các lô uống viên Thanh Mạch An liều 1 viên hay 2 viên/kg thể trọng giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý. Như vậy, viên Thanh Mạch An sử dụng theo phác đồ dự phòng thể hiện tác dụng làm giảm sự tăng trị số triglycerid và giảm hàm lượng cholesterol toàn phần ở mô hình tăng lipid máu nội sinh bằng tyloxapol.

***Bảng 4**. Hàm lượng LDL-cholesterol và HDL-cholesterol trong huyết tương sau tiêm tyloxapol 24 giờ và 48 giờ trong phác đồ dự phòng*

Nhóm	Lô thử nghiệm n = 10	LDL-c (mg/dl)	HDL-c (mg/dl)
Tyloxapol (-) sau 24 giờ	Chứng sinh lý	8,0 ± 0,92	25,70 ± 1,68
	Thanh mạch an liều 2 viên/kg	8,80 ± 1,21	25,17 ± 1,81
Tyloxapol (+) sau 24 giờ	Chứng bệnh lý	27,0 ± 3,30#	15,56 ± 1,26#
	Thanh mạch an liều 1 viên/kg	9,75 ± 0,93*	26,53 ± 2,63*
	Thanh mạch an liều 2 viên/kg	13,58 ± 1,15*	32,03 ± 3,26*#
Tyloxapol (-) sau 48 giờ	Chứng sinh lý	6,80 ± 0,44	27,33 ± 2,25
	Thanh mạch an liều 2 viên/kg	6,40 ± 0,65	24,65 ± 1,03
Tyloxapol (+) sau 48 giờ	Chứng bệnh lý	21,92 ± 3,47#	21,27 ± 3,03#
	Thanh mạch an liều 1 viên/kg	9,33 ± 1,01*	36,64 ± 3,43*#
	Thanh mạch an liều 2 viên/kg	11,50 ± 0,71*	47,53 ± 3,52*#

**: p < 0,05 so với lô chứng bệnh lý trong cùng nhóm #: p < 0,05 so với lô chứng sinh lý*

Kết quả ở bảng 4 cho thấy viên Thanh Mạch An liều 1 hoặc 2 viên/kg thể trọng uống trong 8 ngày không ảnh hưởng trên hàm lượng LDL-cholesterol và HDL-cholesterol trong máu ở nhóm tyloxapol (-).

Lô chứng bệnh lý tiêm tyloxapol có hàm lượng LDL-cholesterol tăng và hàm lượng HDL-cholesterol giảm sau 24 giờ và và 48 giờ tiêm, khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý không tiêm tyloxapol, chứng tỏ mô hình gây tăng lipid máu đạt tiêu chí làm thay đổi LDL-cholesterol và HDL-cholesterol ở hai thời điểm khảo sát.

Ở lô uống viên Thanh Mạch An liều 1 viên/kg hay liều 2 viên/kg thể trọng dự phòng trước 7 ngày gây mô hình có hàm lượng LDL-cholesterol trong máu giảm và hàm lượng HDL-cholesterol trong máu tăng vào thời điểm 24 giờ hoặc 48 giờ sau khi gây mô hình, đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý. Điều này chứng tỏ, viên Thanh Mạch An sử dụng theo phác đồ dự phòng thể hiện tác dụng làm giảm sự tăng trị số LDL-cholesterol và làm tăng trị số HDL-cholesterol ở hai thời điểm khảo sát. Mô hình gây tăng lipid máu mạn.

***Bảng 5.** Hàm lượng triglycerid và cholesterol toàn phần trong mô hình tăng lipid máu nội sinh mạn*

Thời gian điều trị sau tiêm tyloxapol	Lô thử nghiệm n = 10	Triglycerid (mg/dl)	Cholesterol toàn phần (mg/dl)
Sau 1 tuần	Chứng sinh lý	94,10 ± 8,04	68,20 ± 2,27
	Chứng bệnh lý	619,57 ± 18,84#	155,57 ± 7,02#
	Thanh mạch an 1 viên/kg	535,50 ± 19,08*	113,07 ± 3,83*#
	Thanh mạch an 2 viên/kg	525,50 ± 19,65*	126,71 ± 6,46*#
	Atorvastatin 20 mg/kg	477,29 ± 17,48*	99,57 ± 4,58*#
Sau 2 tuần	Chứng sinh lý	112,50 ± 6,68	76,20 ± 2,11
	Chứng bệnh lý	640,07 ± 19,52#	170,93 ± 14,49#
	Thanh mạch an 1 viên/kg	580,36 ± 28,93*	138,79 ± 4,51*#
	Thanh mạch an 2 viên/kg	488,29 ± 16,12*	133,93 ± 5,96*#
	Atorvastatin 20 mg/kg	449,93 ± 20,10*	95,50 ± 5,36*#
Sau 3 tuần	Chứng sinh lý	103,10 ± 4,52	78,50 ± 2,48
	Chứng bệnh lý	657,64 ± 25,04#	175,93 ± 11,78#
	Thanh mạch an 1 viên/kg	531,07 ± 31,95*	109,36 ± 4,55*#
	Thanh mạch an 2 viên/kg	451,71 ± 20,82*	107,57 ± 3,53*#
	Atorvastatin 20 mg/kg	420,64 ± 31,63*	87,14 ± 5,08*

**: p < 0,05 so với lô chứng bệnh lý trong cùng nhóm #: p < 0,05 so với lô chứng sinh lý*

Kết quả ở bảng 5 cho thấy lô chứng bệnh lý tiêm tyloxapol 3 lần/tuần liên tục trong 5 tuần có hàm lượng triglycerid và cholesterol toàn phần trong máu tăng đạt ý nghĩa thống

kê so với lô chứng sinh lý không tiêm tyloxapol ở các thời điểm khảo sát, chứng tỏ mô hình gây tăng lipid máu mạn đạt tiêu chí làm tăng triglycerid và cholesterol toàn phần máu và được duy trì ổn định sau 5 tuần khảo sát. Viên Thanh Mạch An sử dụng liều 1 viên hay 2 viên/kg thể trọng theo phác đồ điều trị từ tuần thứ 3 sau khi gây mô hình tăng lipid máu bằng tyloxapol thể hiện tác dụng làm giảm sự tăng trị số triglycerid và giảm sự tăng trị số cholesterol toàn phần, đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh tương ứng ngay sau 1 tuần điều trị và ổn định sau 3 tuần điều trị.

Bảng 6. *Hàm lượng LDL-cholesterol và HDL- cholesterol trong mô hình tăng lipid máu nội sinh mạn*

Thời gian điều trị sau tiêm tyloxapol	Lô thử nghiệm n = 10	LDL-c (mg/dl)	HDL-c (mg/dl)
Sau 1 tuần	Chứng sinh lý	10,40 ± 0,60	32,50 ± 1,64
	Chứng bệnh lý	15,79 ± 1,42#	17,52 ± 1,52#
	Thanh mạch an 1 viên/kg	13,50 ± 0,99#	26,86 ± 1,44*#
	Thanh mạch an 2 viên/kg	15,50 ± 1,85#	33,39 ± 1,83*
	Atorvastatin 20 mg/kg	13,0 ± 1,29*	35,67 ± 2,27*
Sau 2 tuần	Chứng sinh lý	14,10 ± 0,85	39,58 ± 2,15
	Chứng bệnh lý	31,21 ± 3,44#	20,22 ± 1,66#
	Thanh mạch an 1 viên/kg	18,71 ± 1,35*#	29,45 ± 1,89*#
	Thanh mạch an 2 viên/kg	18,21 ± 1,89*#	27,67 ± 1,66*#
	Atorvastatin 20 mg/kg	9,93 ± 1,13*	27,87 ± 1,85*#
Sau 3 tuần	Chứng sinh lý	11,80 ± 0,66	34,43 ± 1,99
	Chứng bệnh lý	25,79 ± 2,88#	24,22 ± 1,02#
	Thanh mạch an 1 viên/kg	13,57 ± 1,13*	34,72 ± 1,94*
	Thanh mạch an 2 viên/kg	14,86 ± 1,25*	41,30 ± 2,31*#
	Atorvastatin 20 mg/kg	11,93 ± 0,92*	34,71 ± 2,30*

**: p < 0,05 so với lô chứng bệnh lý trong cùng nhóm #: p < 0,05 so với lô chứng sinh lý*

Kết quả ở bảng 6 cho thấy lô chứng bệnh lý tiêm tyloxapol 3 lần/tuần liên tục trong 5 tuần có hàm lượng LDL-cholesterol tăng và hàm lượng HDL-cholesterol giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý không tiêm tyloxapol ở các thời điểm khảo sát, chứng tỏ mô hình gây tăng lipid máu mạn tính đạt tiêu chí làm tăng LDL-cholesterol và giảm HDL-cholesterol máu. Viên Thanh Mạch An sử dụng liều 1 viên hay 2 viên/kg thể trọng theo phác đồ điều trị từ tuần thứ 3 thể hiện tác dụng làm giảm sự tăng trị số LDL-cholesterol và làm tăng trị số HDL-cholesterol, đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh tương ứng ở các tuần điều trị và đưa về giá trị bình thường sau 3 tuần điều trị (tuần thứ 5 của mô hình), tương tự như tác dụng của thuốc đối chiếu atorvastatin.

Bảng 7. *Kết quả định lượng MDA trong gan chuột (phác đồ dự phòng)*

Nhóm	Lô thử nghiệm	N (chuột)	MDA gan (nmol/g protein)
Tyloxapol (-) sau 48 giờ	Chứng sinh lý	10	158,67 ± 10,17
	Thanh mạch an liều 2 viên/kg	10	160,16 ± 7,29
Tyloxapol (+) sau 48 giờ	Chứng bệnh lý	10	194,23 ± 9,18#
	Thanh mạch an liều 1 viên/kg	12	141,27 ± 12,93*
	Thanh mạch an liều 2 viên/kg	12	154,87 ± 13,23*
	Atorvastatin 20 mg/kg	12	125,26 ± 16,30*

**: p < 0,05 so với lô chứng bệnh lý trong cùng nhóm #: p < 0,05 so với lô chứng sinh lý*

Kết quả ở bảng 7 cho thấy hàm lượng MDA trong gan của lô uống viên Thanh mạch an (liều uống 2 viên/kg) trong 8 ngày không khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý, chứng tỏ viên Thanh Mạch An không ảnh hưởng trên hàm lượng MDA trong gan ở cơ địa bình thường. Lô chứng bệnh lý có hàm lượng MDA trong gan tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô

chứng sinh lý, chứng tỏ mô hình gây tăng lipid máu bằng tyloxapol gây tổn thương oxy hóa tế bào gan. Hàm lượng MDA trong gan của các lô uống viên Thanh Mạch An (liều 1 hay 2 viên/kg) theo phác đồ dự phòng trước 7 ngày đều giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý.

BÀN LUẬN

Quá trình gây tăng lipid máu bằng tyloxapol gồm hai giai đoạn: Đầu tiên là sự tăng đột ngột nồng độ cholesterol huyết, đạt mức đỉnh gấp 2-3 lần trị số đối chứng (chứng sinh lý bình thường) sau 24 giờ. Sau đó, mức cholesterol sẽ giảm và trở về bình thường sau 24 giờ tiếp theo ở giai đoạn 2. Những thuốc tác dụng trên sự sinh tổng hợp cholesterol sẽ thể hiện tác dụng trong giai đoạn 1 của thử nghiệm, trong khi các thuốc tác dụng lên sự chuyển hóa và thải trừ cholesterol sẽ thể hiện tác dụng trong giai đoạn 2[7]. Viên Thanh Mạch An được cho uống ngay sau gây mô hình cho thấy chế phẩm có tác động trên cả hai giai đoạn của mô hình tương tự như thuốc đối chiếu atorvastatin, do đó có thể dự đoán tác dụng của viên Thanh Mạch An trên quá trình sinh tổng hợp, chuyển hóa hoặc thải trừ cholesterol. Viên Thanh Mạch An liều 2 viên/kg còn có tác dụng làm tăng HDL-cholesterol, một cholesterol tốt sau thời gian dài sử dụng trên cơ địa bình thường (2-3 tuần) và làm giảm LDL-cholesterol là nguyên nhân chính dẫn đến bệnh tim mạch vành. Do đó, chế phẩm này còn giúp giảm nguy cơ bệnh mạch vành, giúp phòng tránh các bệnh lý về tim mạch do rối loạn lipid máu.

Những nghiên cứu thực nghiệm cũng cho thấy tăng lipid máu và quá trình chuyển hóa acid béo bởi gan sẽ dẫn đến stress oxy hóa. Nghiên cứu trên chuột cống trắng cho thấy chế độ ăn giàu cholesterol gây rối loạn lipid máu đi kèm với tổn thương gan do thay đổi các tín hiệu (marker) có liên quan đến stress oxy hóa như làm tăng hàm lượng MDA, sản phẩm của quá trình peroxy hóa tế bào, làm giảm hàm lượng GSH và làm thay đổi hoạt tính của các enzym chống oxy hóa nội sinh[1]. Kết quả của đề tài cũng cho thấy lô chứng bệnh lý gây tăng lipid máu bằng tyloxapol có hàm lượng MDA trong gan tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý, chứng tỏ tyloxapol có gây tổn thương oxy hóa tế bào gan. Hàm lượng MDA trong gan của các lô uống viên Thanh Mạch An (liều 1 hay 2 viên/kg) theo phác đồ dự phòng trước 7 ngày đều giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý. Điều này chứng tỏ, viên Thanh Mạch An sử dụng theo phác đồ dự phòng có tác dụng ức chế tổn thương oxy hóa tế bào gan gây bởi mô hình tăng lipid máu, tương tự như tác dụng của thuốc đối chiếu atorvastatin.

Giảo cổ lam là thành phần chính trong viên Thanh Mạch An, được công bố có tác dụng hạ lipid máu trên chuột cống trắng[6]. Giảo cổ lam làm giảm sự tăng lipid máu theo cơ chế khác với atorvastatin, làm tăng phosphatidylcholin (ngăn ngừa sự tăng các chỉ số liên quan đến tăng lipid máu và xơ vữa động mạch) và làm giảm trimethylamine N-oxid (TMAO, chất chuyển hóa từ choline có liên quan đến sự lắng đọng cholesterol trong lòng động mạch, tăng nguy cơ của xơ vữa động mạch), trong khi atorvastatin theo cơ chế ảnh hưởng trên chuyển hóa lipid và protein[8].

KẾT LUẬN

Viên Thanh Mạch An (liều uống 1 đến 2 viên/kg thể trọng chuột, tương đương với liều sử dụng trên người là 4-8 viên/ngày tính theo hệ số quy đổi) thể hiện tác dụng điều hòa sự tăng lipid máu thực nghiệm và có tác dụng bảo vệ gan trước tổn thương oxy hóa gây bởi bệnh cảnh tăng lipid máu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Al-Rejaie SS, Aleisa AM, Sayed-Ahmed MM, Al-Shabanah OA, Abuohashish HM, Ahmed MM, Al-Hosaini KA, Hafez MM (2013). "Protective effect of rutin on the antioxidant genes expression in hypercholestrolemic male Wistar rat". *BMC Complement Altern Med*., 13:136.
2. Bertges L C, Alberto C, Mourão Jr, Jonathan B S, Vinícius A C C(2010). "perlipidemia induced by Triton WR-1339

(Tyloxapol) in Wistar rats". *Brazilian Journal of Medical Science and Health*, 1: 29-31.
3. Cheseman K.H. (1985). "Studies on lipid peroxidation in normal and tumor tissues". *J. Biol. Chem*., 235: 507–514.
4. Huynh Ngoc Trinh, Nguyen Ngoc Quyen, Tran Thi Van Anh, Vo Phung Nguyen (2008). "Hypolipidemic effect of extracts from Abelmoschus esculentus L. (Malvaceae) on tyloxapol-induced hyperlipidemia". *Mahildol Univ. J. Pharm. Sci*., 35(1-4): 42-46.
5. Levine S, Salzman A (2007). "A procedure for inducing sustained hyperlipidemia in rats by administration of a surfactant". *J. Pharmacol. Toxicol*., 55: 224-226.
6. Megalli S, Davies NM, Roufogalis BD (2006). "Anti-hyperlipidemic and hypoglycemic effects of Gynostemma pentaphyllum in the Zucker fatty rat". *J Pharm Pharm Sci*.; 9(3):281-291.
7. Viện Dược liệu – Bộ Y Tế (2006). *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ Dược thảo*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, tr.137, 385-387.
8. Wang M, Wang F, Wang Y, Ma X, Zhao M, Zhao C (2013). "Metabonomics study of the therapeutic mechanism of Gynostemma pentaphyllum and atorvastatin for hyperlipidemia in rats". *PLoS One*; 8(11):e78731.

Ngày nhận bài báo: *27/02/2015*
Ngày phản biện nhận xét bài báo: *18/05/2015*
Ngày bài báo được đăng: *08/09/2015*