

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



ĐỖ QUỐC HƯƠNG

**NGHIÊN CỨU ĐỘTÍNH VÀ HIỆU QUẢ
CỦA VIÊN NANG LIPIDAN TRONG ĐIỀU TRỊ
HỘI CHỨNG RỐI LOẠN LIPID MÁU**

Chuyên ngành: Y học cổ truyền

Mã số: 62 72 02 01

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2016

CÔNG TRÌNH ĐƯỢC HOÀN THÀNH TẠI
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

Người hướng dẫn khoa học:

PGS.TS Phạm Vũ Khánh

PGS.TS Vũ Thị Ngọc Thanh

Phản biện 1: PGS.TS Phạm Văn Trịnh

Phản biện 2: PGS.TS Đặng Thị Ngọc Dung

Phản biện 3: PGS.TS Trần Quốc Bình

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp trường họp tại Trường Đại học Y Hà Nội.

Vào hồi giờ ngày tháng năm 20

Có thể tìm hiểu luận án tại:

Thư viện Quốc gia

Thư viện Thông tin Y học Trung ương

Thư viện Trường Đại học Y Hà Nội

**DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU ĐÃ CÔNG
BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. Đỗ Quốc Hương, Vũ Thị Ngọc Thanh, Nguyễn Phương Thanh, Phạm Vũ Khánh (2014). Độc tính cấp và tác dụng của viên nang Lipidan trên chuột nhắt chằng được gây rối loạn lipid máu bằng Poloxamer - 407. *Y học thực hành*, 941, 15-18.
2. Đỗ Quốc Hương, Vũ Thị Ngọc Thanh, Nguyễn Phương Thanh, Phạm Vũ Khánh (2014). Tác dụng của viên nang lipidan trên chuột cống trắng được gây rối loạn lipid máu theo cơ chế ngoại sinh. *Y học thực hành*, 946, 1- 5.
3. Đỗ Quốc Hương, Vũ Thị Ngọc Thanh, Phạm Vũ Khánh (2015): Đánh giá tác dụng của viên nang Lipidan trong điều trị hội chứng rối loạn lipid máu. *Y học thực hành*, 980, 57- 59.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Rối loạn lipid máu (RLLPM) là yếu tố quan trọng cho việc hình thành và phát triển của bệnh vữa xơ động mạch (VXĐM), bệnh động mạch vành (ĐMV), động mạch não... VXĐM đã gây ra nhiều biến chứng nghiêm trọng đe dọa đến tính mạng con người như: tăng huyết áp, nhồi máu cơ tim, tai biến mạch máu não... Bệnh động mạch vành và bệnh lý vữa xơ động mạch là các nguyên nhân gây tử vong chính ở các nước phát triển và tỷ lệ tử vong ngày một gia tăng.

Ở Mỹ, hàng năm có khoảng 1 triệu người chết về bệnh lý tim mạch, trong đó tử vong liên quan tới VXĐM chiếm 42,6%. Theo số liệu của Tổ chức Y tế Thế giới, năm 2010, Việt Nam có 100.000 người tử vong do bệnh ĐMV và dự báo đến năm 2020, các bệnh tim mạch và đặc biệt là VXĐM sẽ trở thành nguyên nhân hàng đầu gánh nặng bệnh tật trên toàn Thế giới.

Bài thuốc nghiên cứu gồm: Trần bì, Bạch linh, Mộc hương nam, Ngũ gia bì, Xa tiền tử, Bán hạ chế, Hậu phác nam, Sơn tra, Sinh khương. Bài thuốc đã được nghiên cứu, sản xuất dưới dạng viên nang và kí hiệu là “Lipidan”.

Mục tiêu của đề tài:

- 1. Xác định độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của viên nang Lipidan.*
- 2. Đánh giá tác dụng của viên nang Lipidan trên mô hình gây rối loạn lipid máu thực nghiệm.*
- 3. Đánh giá tác dụng của viên nang Lipidan trong điều trị rối loạn lipid máu ở người.*

Ý NGHĨA THỰC TIỄN VÀ ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Đề tài tiến hành điều trị trên một bệnh lý mà tỷ lệ gặp trong cộng đồng gặp tương đối cao. Điều trị bằng y học hiện đại cũng đem lại hiệu quả, song còn gây nên một số tác dụng phụ (đau cơ, rối loạn tiêu hóa...) và giá

thành cao. Do vậy, việc tiếp tục tìm kiếm các thuốc mới, thuốc có nguồn gốc từ thảo dược có hiệu quả, an toàn, giá thành rẻ vẫn là nhu cầu cần thiết, là hướng nghiên cứu đang được các nhà khoa học quan tâm.

Công trình khoa học của luận án nghiên cứu một cách khá hệ thống chặt chẽ, cả tiền lâm sàng và lâm sàng một dạng viên nang mới có thành phần gồm chín vị thuốc YHCT sẵn có trong cộng đồng dùng trong điều trị rối loạn mỡ máu.

Kết quả nghiên cứu đề tài góp phần chứng minh giá trị thực tế của YHCT, một sản phẩm của nền văn hóa phương đông, góp phần ảnh hưởng tích cực tới truyền thống văn hóa, khuyến khích lòng tự hào dân tộc, giữ gìn bản sắc văn hóa dân tộc, nâng cao sức khỏe cộng đồng.

Việc nghiên cứu ứng dụng bài thuốc YHCT trong điều trị, góp phần làm sáng tỏ lý luận YHCT và từng bước hiện đại hóa YHCT là việc làm có ý nghĩa khoa học, thực tiễn.

CÁU TRÚC CỦA LUẬN ÁN

Luận án gồm 125 trang: đặt vấn đề 02 trang, Tổng quan tài liệu 36 trang, đối tượng và phương pháp nghiên cứu 16 trang, kết quả nghiên cứu 36 trang, bàn luận 32 trang, kết luận 02 trang và khuyến nghị 01 trang. Luận án có 154 tài liệu tham khảo (75 tiếng Việt, 65 tiếng Anh, 14 tiếng Trung Quốc), 52 bảng, 11 biểu đồ, 04 hình, 06 ảnh, 06 sơ đồ và phụ lục.

Chương 1. TỔNG QUAN

1.1. Rối loạn lipid máu

RLLPM là tình trạng rối loạn và/hoặc tăng nồng độ các thành phần lipid trong máu. Hậu quả làm tăng nguy cơ bệnh tim mạch, đột quỵ.

1.2. Rối loạn lipid máu tiên phát

Năm 1965, Fredrickson dựa vào kỹ thuật điện di và siêu ly tâm các thành phần lipoprotein đã chia hội chứng rối loạn lipid máu thành 5 tít (I, II, III, IV, V).

1.2.1. Rối loạn lipid máu thứ phát

Yếu tố ảnh hưởng đến hình thành lipid gồm béo phì, ăn quá nhiều thức ăn chứa cholesterol như mỡ và phủ tạng động vật, trứng, bơ, sữa toàn phần..., ít vận động, hút thuốc, uống nhiều rượu, rối loạn nội tiết, bệnh gan và thận...

1.2.2. Rối loạn lipid máu và bệnh lý tim mạch

Theo Kannel, khi cholesterol tăng $>2,5$ g/l thì nguy cơ BMV tăng 2,25- 3,25 lần. Khi cholesterol từ 5,2- 6,5 mmol/l thì tử vong do BMV tăng gấp đôi. Khi cholesterol từ 5,2- 7,8 mmol/l, tử vong do BMV tăng gấp bốn.

Một số nghiên cứu cho thấy, tăng huyết áp và cholesterol máu có tác dụng hiệp đồng mạnh trong quá trình thúc đẩy VXĐM.

1.2.3. Điều trị hội chứng rối loạn lipid máu: điều chỉnh lối sống, chế độ ăn uống, sinh hoạt, hạn chế hoặc giảm thịt, mỡ động vật, trứng, sữa... Tránh căng thẳng thần kinh, nghỉ ngơi... giảm/ bỏ thuốc lá, tăng tập thể dục, dưỡng sinh, xoa bóp. Điều trị bằng thuốc: nhóm statin, nhựa gắn với acid mật (resin), dẫn xuất acid fibric (fibrat), acid nicotinic (niacin), probucol, thuốc ức chế hấp thu cholesterol (Ezetimibe), D- Thyroxin. Kết quả của nhiều nghiên cứu cho thấy, hạ thấp nồng độ cholesterol máu vẫn là phương pháp chủ yếu để phòng và điều trị bệnh tim mạch.

1.3. Rối loạn lipid máu theo YHCT

** Nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh*

- Do ẩm thực bất điều: ăn nhiều thức ăn ngọt béo, nhiều cao lương mĩ vị, uống nhiều rượu, làm việc trí óc quá sức, làm tổn thương tỳ vị, vận hoá thủy thấp rối loạn dẫn đến đàm thấp nội sinh.

- Do ít vận động thể lực: đàm ú trệ lâu ngày, khí huyết không lưu thông, dẫn đến khí trệ, huyết ú. Thương khí dẫn đến khí hư, thương nhục dẫn đến tỳ hư, tỳ khí hư sinh đàm trệ.

- Do thất tình (yếu tố tinh thần): lo nghĩ hại tỳ, giận dữ hại can; can mộc vượng khắc tỳ thổ làm tổn thương tỳ vị, tỳ thổ hư yếu sẽ giảm hoặc mất khả năng vận hoá thuỷ cốc, tân dịch tụ lại thành đàm thấp.

- Do tiên thiên bất túc (yếu tố thể chất): sách Linh khu thiên “Thọ yếu cương nhu” viết: “Con người ta sinh ra có cương, có nhu, có cường có nhược, có dài có ngắn, có âm có dương”.

** Thể lâm sàng theo YHCT*

- Tỳ hư đàm thấp: chóng, chậm tiêu, tay chân tê bì, lưỡi bệu có vết hằn răng, rêu lưỡi trắng nhờn, mạch hoạt, trầm hoạt.

- Tỳ thận dương hư: cơ thể mệt mỏi, đau lưng, môi gỏi, ù tai, hoa mắt, chóng mặt, bụng chướng khó tiêu, lạnh bụng, lưỡi bệu, rêu trắng nhờn, mạch trầm tế nhược.

- Âm hư dương xung: chóng mặt, ù tai, ngủ ít, hay mê, chân tay tê dại, khát nước, lưỡi đỏ, rêu lưỡi vàng, mạch trầm.

- Can thận âm hư: chóng mặt, ù tai, đau lưng, khô miệng, lưỡi đỏ, rêu lưỡi vàng, mạch trầm sắc.

- Thấp nhiệt uất kết: cơ thể béo phì, tức ngực, chóng mặt, đầy bụng, chán ăn, mệt mỏi, tiểu vàng, đại tiện táo, chất lưỡi đỏ, rêu lưỡi vàng dày, mạch hoạt sắc.

- Thể khí trệ huyết ứ: tức ngực, khó thở, đau đầu, hoa mắt chóng mặt, đau cố định một chỗ, chân tay tê bì, chất lưỡi tía hoặc có điểm ứ huyết, mạch vi sáp, kết đại.

- Can uất hóa hỏa: đau đầu, chóng mặt, dễ cáu giận, mặt và mắt đỏ, miệng khô, nước tiểu vàng, mạch huyền.

** Bài thuốc nghiên cứu*

Thành phần bài thuốc gồm: Trần bì, Bạch linh, Mộc hương nam, Ngũ gia bì, Xa tiền tử, Bán hạ chế, Hậu phác nam, Sơn tra, Sinh khương.

Trần bì, Bán hạ, Bạch linh có tác dụng lý khí, táo thấp, hóa đàm, kiện tỳ thâm thấp, Sinh khương có tác dụng giáng nghịch, hóa ẩm và giải tính độc của Bán hạ, Hậu phác nam tác dụng hạ khí, tiêu đàm,

ấm trung tiêu, Mộc hương hành khí, kiện tỳ, Ngũ gia bì trừ phong thấp, tráng gân, bổ thận, Xa tiền lợi tiểu, khứ đàm, lợi phế, thông lâm, Sơn tra có tác dụng tiêu thực tích, hành ú hóa đàm. Tổng hợp tác dụng của các vị thuốc trên, viên nang Lipidan có tác dụng kiện tỳ, thẩm thấp, tiêu thực lý khí hóa đàm, lợi tiểu. Tác dụng này của Lipidan đã giúp cải thiện được các triệu chứng lâm sàng và làm giảm được các thành phần lipid của máu.

Chương 2. CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NC

2.1. CHẤT LIỆU NGHIÊN CỨU

2.1.1. Thuốc nghiên cứu trên thực nghiệm

Viên nang Lipidan Công ty cổ phần BV Pharma: Ấp 2 - xã Tân Thạnh Tây - huyện Củ Chi - Tp. Hồ Chí Minh

2.1.2. Thuốc dùng nghiên cứu trên lâm sàng

90 bệnh nhân nghiên cứu dùng viên nang Lipidan

2.2. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

2.2.1. Nghiên cứu trên động vật

- Chuột nhắt trắng (*Mus musculus*) chủng Swiss, khoẻ mạnh, cả hai giống trọng lượng trung bình 25 ± 2 g (để nghiên cứu tác dụng trên lipid máu) và 20 ± 2 g (nghiên cứu độc tính cấp) do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp.

- Chuột cống trắng cả hai giống, khoẻ mạnh, trọng lượng 150 - 180g

- Thỏ chủng *Oryctolagus cuniculus*, cả hai giống, khoẻ mạnh, trọng lượng 1,8- 2,5 kg do Trung tâm dê- thỏ Sơn Tây (Viện chăn nuôi) cung cấp.

2.2.2. Nghiên cứu trên người

90 bệnh nhân được chẩn đoán xác định rối loạn lipid máu được điều trị tại Bệnh viện Y học cổ truyền Bộ công an.

*** Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân theo YHHĐ**

Bệnh nhân có hội chứng RLLPM thoả mãn các điều kiện:

+ CT \geq 6,5 mmol/l, LDL-C \geq 4,2 mmol/l

+ Hoặc TG > 2,3 mmol/l

+ Hoặc CT từ 5,2 - 6,2 mmol/l, HDL-C < 0,91 mmol/l.

Bệnh nhân được chọn vào nghiên cứu có số đo huyết áp tâm thu từ 110 - 139 mmHg, huyết áp tâm trương 70 - 89 mm Hg.

*** Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân theo YHCT** (thể tỷ hư đàm thấp và thể tỷ thận dương hư).

Tứ chẩn	Tỷ hư đàm thấp	Tỷ thận dương hư
Vọng	lưỡi bệu, có vết hằn răng, rêu trắng nhớt, hình thể mập	lưỡi bệu, rêu trắng, hình thể mập
Vấn	nói bình thường, nhỏ yếu, nói to	nói bình thường, nhỏ yếu, nói to
Vấn	ăn kém, chậm tiêu, tứ chi rã rời, chướng bụng, tê nặng chân tay và thân	đau lưng, mỗi gối, ù tai, tiểu đêm, hoa mắt, chóng mặt, bụng chướng, ăn kém
Thiết	mạch hoạt, cơ nhẽo	trầm tế, cơ nhẽo

2.2.2.3. Tiêu chuẩn loại trừ bệnh nhân ra khỏi nghiên cứu (YHHĐ)

- Có hội chứng RLLPM thứ phát sau các bệnh: thiếu năng giáp, đái tháo đường, hội chứng thận hư, suy gan, suy thận.

- Rối loạn tiêu hoá, phụ nữ có thai, đang cho con bú, suy dinh dưỡng, tâm thần, đang sử dụng thuốc ảnh hưởng đến chuyển hoá lipid.

- Mắc các bệnh nhiễm khuẩn, bệnh cấp tính kèm theo.

- Không chấp hành đúng theo tiêu chuẩn nghiên cứu.

- Thực hiện chế độ ăn kiêng.

2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.3.1. Nghiên cứu trên thực nghiệm

* *Nghiên cứu độc tính cấp và bán trường diễn*

- *Độc tính cấp*: được xác định trên chuột nhắt trắng theo đường uống theo hướng dẫn của Bộ Y tế và Tổ chức y tế thế giới, Bảy lô chuột nhắt trắng, mỗi lô 10 con, được uống thuốc thử theo liều tăng dần từ liều cao nhất không gây chết chuột đến liều thấp nhất gây chết 100% chuột, với thể tích thuốc uống hằng định mỗi lần 0,3ml/10g cân nặng, uống 3 lần/24 giờ, các lần uống cách nhau 2 giờ- Lipidan liều 0,3g/kg/giờ (liều có tác dụng tương đương trên người) và liều cao gấp 5 lần (1,5g/kg/giờ), uống liên tục trong 6 tuần cũng không thấy thay đổi về tình trạng chung, về chức phận sinh hóa của gan, thận và chức phận tạo máu.

Theo dõi tình trạng chung của chuột và số lượng chuột chết ở mỗi lô trong 72 giờ (những chuột chết trong 2 giờ đầu được mổ để quan sát đại thể). Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống thuốc thử. Tính LD₅₀ theo phương pháp Litchfield- Wilcoxon.

- *Độc tính bán trường diễn*: Lipidan liều 0,3g/kg/giờ (liều có tác dụng tương đương trên người) và liều cao gấp 5 lần (1,5g/kg/giờ), uống liên tục trong 6 tuần cũng không thấy thay đổi về tình trạng chung, về chức phận sinh hóa của gan, thận, chức phận tạo máu.

Theo dõi cân nặng, ăn, ngủ, hoạt động, tiêu hóa, huyết học, hóa sinh chức năng gan, thận, tại các thời điểm trước uống thuốc, sau 2 tuần, 4 tuần uống thuốc và sau 2 tuần ngừng uống thuốc. Quan sát hình ảnh đại thể, mô bệnh học gan và thận sau 4 tuần uống thuốc và sau 2 tuần ngừng uống thuốc.

** Nghiên cứu tác dụng làm giảm lipid máu trên thực nghiệm*

- *Mô hình gây rối loạn lipid máu theo cơ chế nội sinh*

+ Lipidan liều 6,0g/kg: uống Lipidan liều 6,0g/kg hàng ngày, ngày thứ 7 tiêm màng bụng P- 407 liều 200mg/kg.

+ Lipidan liều 12,0g/kg: uống Lipidan liều 12,0 g/kg hàng ngày, ngày thứ 7 tiêm màng bụng P- 407 liều 200mg/kg.

Chuột được uống Lipidan, atorvastatin hoặc nước cất trong 7 ngày. Vào ngày thứ 7, chuột ở các lô (trừ lô 1) được tiêm màng bụng P- 407. Tất cả các chuột được nhịn ăn trong 24 giờ, uống nước tự do. Ngày thứ 8, 24 giờ kể từ khi tiêm P- 407, tất cả các chuột được lấy máu động mạch cảnh làm xét nghiệm định lượng triglycerid (TG), cholesterol toàn phần (TC), HDL- cholesterol (HDL- C). Chỉ số non-HDL- cholesterol (cholesterol không phải HDL) được tính bằng công thức: $\text{Non-HDL- C} = (\text{TC}) - (\text{HDL- C})$.

- *Mô hình gây rối loạn lipid máu theo cơ chế ngoại sinh*

+ Mô hình gây tăng lipid máu theo cơ chế ngoại sinh: cho chuột uống hỗn hợp dầu cholesterol bao gồm: cholesterol, acid cholic, propylthiouracil (PTU) pha trong dầu lạc hàm lượng 10 ml/kg/ngày trong 4 tuần. Gồm 5 lô: lô 1 (chứng trắng), lô 2 (mô hình), lô 3 (chứng dương), lô 4 (Lipidan liều 1), lô 5 (Lipidan liều 2). Thuốc thử và thuốc chứng dương được uống sau Lipidan hoặc atorvastatin 2 giờ sau khi uống hỗn hợp dầu cholesterol. Tiến hành cân trọng lượng chuột ở tất cả các lô tại thời điểm trước, sau nghiên cứu 1, 2 và 4 tuần và lấy máu đuôi chuột để định lượng các chỉ số lipid máu: Cholesterol toàn phần (TC), triglycerid (TG), HDL cholesterol (HDL- C) và tính chỉ số non- HDL- cholesterol.

2.4.2.2. *Đánh giá tác dụng của Lipidan trên lâm sàng*

*** Phương pháp nghiên cứu**

Thử nghiệm lâm sàng mở có so sánh trước và sau điều trị.

*** Tiến hành nghiên cứu**

Chọn 90 bệnh nhân thể tỷ hư đàm thấp (nhóm A) và tỷ thận dương hư (nhóm B).

- Bệnh nhân được khám 2 lần độc lập

- Làm bệnh án: bệnh nhân được khám lâm sàng, xét nghiệm cận lâm sàng vào 2 thời điểm trước điều trị (D_0) và sau 42 ngày điều trị (D_{42}).

*** Cách dùng thuốc** (viên nang Lipidan)

- Viên nang Lipidan hàm lượng 0,54g/1viên.

- Cách dùng: mỗi ngày dùng 9 viên/ngày, chia làm 3 lần, mỗi lần 3 viên, uống sau ăn 30 phút, uống thuốc liên tục trong 42 ngày.

*** Trang thiết bị, hoá chất phục vụ nghiên cứu**

- Dụng cụ, máy móc: bơm kim tiêm, pipet, ống nghiệm, huyết áp kế, cân đồng hồ, máy huyết học tự động, máy sinh hóa bán tự động.

- Hóa chất, kit thử.

*** Các chỉ số nghiên cứu**

- Chỉ số khối cơ thể, trọng lượng cơ thể, chiều cao, mạch, huyết áp.

- Chỉ số huyết học và sinh hoá máu: công thức máu, chỉ số cholesterol, triglycerid, HDL- C, LDL- C, ALT, AST, ure, creatinin, glucose...

2.4.3. Tiêu chuẩn đánh giá kết quả

2.4.3.1. Đánh giá theo YHHĐ dựa trên cận lâm sàng

Chia làm 4 loại dựa theo tiêu chuẩn nghiên cứu lâm sàng của Bộ Y tế Trung Quốc.

- Loại tốt:

+ CT giảm > 20%

+ TG giảm > 40%

+ HLD- C tăng $\geq 0,259$ mmol/l

+ LDL- C giảm < 3,90 mmol/l

- Loại khá:

+CT giảm 10% - 20%.

+ TG giảm 20% - 40%.

+ HLD- C tăng từ 0,120- 0,258 mmol/l.

+ LDL- C giảm 3,900 - 4,90 mmol/l.

- Không hiệu quả: không thay đổi các chỉ tiêu hoặc thay đổi ít (ở dưới mức các chỉ tiêu của hiệu quả khá).

- Xấu đi:

+ CT tăng > 10%.

+ TG tăng \geq 10%.

+ HLD- C giảm \geq 0,120 mmol/l.

2.4.3.2. Đánh giá lâm sàng theo YHCT

- Loại tốt:

+ Mạch hết hoạt, hết trầm tế.

+ Rêu lưỡi hết trắng nhờn, hình thái lưỡi cân đối.

+ Hết đau đầu, chóng mặt.

+ Hết tê môi, hết nặng nề.

+ Hết tức ngực, hết chướng bụng

+ Hoạt động bình thường.

- Loại khá: các triệu chứng lâm sàng giảm nhưng chưa hết hẳn.

+ Mạch hết nhu hoãn.

+ Rêu lưỡi còn trắng nhờn; chất lưỡi còn bệu, còn ngắn răng.

+ Còn biểu hiện đau đầu, chóng mặt.

+ Còn cảm giác tê môi, nặng nề.

+ Còn tức ngực nhẹ.

+ Cử động đỡ nặng nề.

- Không hiệu quả: các triệu chứng lâm sàng không thay đổi.

- Xấu: các triệu chứng không thay đổi mà còn tăng lên.

2.5. Xử lý số liệu

Số liệu được nhập bằng phần mềm Excel 2007 - Microsoft, xử lý bằng phần mềm SPSS 16.0. Kiểm định sự khác biệt các giá trị bằng test t - Student và test “trước- sau”. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

Số liệu thu được trong nghiên cứu được xử lý theo phương pháp xác suất thống kê y sinh học. Sử dụng các thuật toán:

- Tính tỉ lệ %, tính số trung bình (\bar{X})
- Tính độ lệch chuẩn (SD).
- Toàn bộ số liệu thu thập được xử lý bằng chương trình SPSS và STATA.

2.6. Đạo đức trong nghiên cứu

- Nghiên cứu thông qua Hội đồng chăm đề cương nghiên cứu sinh của trường Đại học Y Hà Nội.

- Được sự đồng ý của Hội đồng khoa học và đạo đức Bệnh viện YHCT Bộ Công An - Hà Nội.

Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1.KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU TRÊN THỰC NGHIỆM

3.1.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp

- Chuột nhắt trắng uống Lipidan liều tăng dần từ 17,3 g/kg/ngày đến 43,2 g/kg/ngày (gấp 36,0 lần liều tương đương liều điều trị trên người) với lượng uống mỗi lần 0,25 ml/10g cân nặng, uống 3 lần/24giờ, uống cách nhau 2 giờ. Không có biểu hiện độc tính cấp.

3.1.2. Độc tính bán trường diễn

3.1.2.1. Tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng của thỏ

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của Lipidan đến thể trọng thỏ

Thời gian Uống thuốc	Lô chứng(n=12)		Lô trị 1(n=12)		Lô trị 2 (n=12)		P
	Trọng lượng (kg)	% ↑ trọng lượng	Trọng lượng (kg)	% ↑ trọng lượng	Trọng lượng (kg)	% ↑ trọng lượng	
Trước (1)	2,06 ± 0,17		2,05 ± 0,19		2,03 ± 0,19		> 0,05
Sau 3 tuần (2)	2,28 ± 0,19	10,35 ± 3,96	2,27 ± 0,13	11,08 ± 4,71	2,25 ± 0,16	11,14 ± 5,17	> 0,05
p (1-2)	< 0,05		< 0,05		< 0,05		
Sau 6 tuần (3)	2,45 ± 0,19	18,95 ± 6,28	2,47 ± 0,12	21,08 ± 8,07	2,43 ± 0,12	20,34 ± 8,61	> 0,05
p (1-3)	< 0,05		< 0,05		< 0,05		

Bảng 3.1 cho thấy, sau 3 tuần, 6 tuần uống thuốc, mức độ gia tăng trọng lượng thỏ giữa các lô khác biệt không có ý nghĩa, p > 0,05.

3.1.2.2. Đánh giá chức năng tạo máu

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của Lipidan đến số lượng HC trong máu thỏ

Thời gian uống thuốc	Số lượng hồng cầu (T/l)			p
	Lô chứng (n=12)	Lô trị 1 (n=12)	Lô trị 2 (n=12)	
Trước (1)	5,12 ± 0,13	5,31 ± 0,15	5,26 ± 0,23	> 0,05
Sau 3 tuần (2)	5,09 ± 0,64	5,28 ± 0,31	5,33 ± 0,17	> 0,05
p (1,2)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 6 tuần (3)	5,26 ± 0,72	5,32 ± 0,19	5,21 ± 0,32	> 0,05
p (1,3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Lipidan đến hàm lượng HST trong máu thỏ

Thời gian uống thuốc	Hàm lượng huyết sắc tố (g/dl)			p
	Lô chứng (n=12)	Lô trị 1 (n=12)	Lô trị 2 (n=12)	
Trước (1)	10,12± 0,91	10,72± 0,55	10,2 ± 0,63	> 0,05
Sau 3 tuần (2)	10,24± 0,63	10,82± 0,44	10,25± 0,63	> 0,05
p (1,2)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 6 tuần (3)	10,43± 0,75	10,54± 0,53	10,52± 0,64	> 0,05
p (1,3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Lipidan đến hematocrit trong máu thỏ

Thời gian uống thuốc	Hematocrit (%)			p
	Lô chứng (n=12)	Lô trị 1 (n=12)	Lô trị 2 (n=12)	
Trước (1)	0,30 ± 0,03	0,32 ± 0,07	0,31 ± 0,14	> 0,05
Sau 3 tuần (2)	0,31 ± 0,02	0,31 ± 0,03	0,31 ± 0,23	> 0,05
p (1,2)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 6 tuần (3)	0,31 ± 0,12	0,32 ± 0,01	0,32 ± 0,15	> 0,05
p (1,3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của Lipidan đến SLBC trong máu thô

Thời gian uống thuốc	Số lượng bạch cầu (G/l)			p
	Lô chứng (n=12)	Lô trị 1 (n=12)	Lô trị 2 (n=12)	
Trước (1)	6,17 ± 1,12	6,38 ± 1,71	6,54 ± 1,21	> 0,05
Sau 3 tuần (2)	6,42 ± 1,37	6,19 ± 1,07	6,96 ± 1,37	> 0,05
p (1,2)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 6 tuần (3)	6,51 ± 1,64	6,41 ± 1,25	6,75 ± 2,01	> 0,05
p (1,3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Bảng 3.6. Ảnh hưởng của Lipidan đến CTBC trong máu thô

Thời gian uống thuốc	Công thức bạch cầu (%)					
	Lô chứng (n=12)		Lô trị 1 (n=12)		Lô trị 2 (n=12)	
	Lympho	Trung tính	Lympho	Trung tính	Lympho	Trung tính
Trước (1)	59,75 ± 4,18	37,12 ± 7,23	59,16 ± 3,21	36,86 ± 8,04	59,64 ± 5,21	37,87 ± 7,16
Sau 3 tuần (2)	59,89 ± 4,25	37,73 ± 7,18	59,86 ± 4,92	37,06 ± 6,73	59,84 ± 5,21	37,53 ± 7,38
p (1,2)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Sau 6 tuần (3)	58,99 ± 5,02	37,25 ± 7,62	59,40 ± 4,61	36,93 ± 7,37	59,56 ± 7,03	37,74 ± 5,34
p (1,3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Lipidan đến SLTC cầu trong máu thô

Thời gian uống thuốc	Số lượng tiểu cầu (G/l)			p
	Lô chứng(n=12)	Lô trị 1 (n=12)	Lô trị 2(n=12)	
Trước (1)	301,13±62,56	302,98±75,12	309,13±63,29	>0,05
Sau 3 tuần(2)	303,26±67,11	307,06 ± 74,27	305,45±66,47	>0,05
p (1,2)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 6 tuần(3)	303,19±65,53	305,16± 72,17	307,71±64,57	>0,05

p (1,3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
---------	--------	--------	--------	--

Kết quả từ bảng 3.2 đến 3.7 cho thấy, sau 3 tuần và 6 tuần uống Lipidan, tất cả các kết quả xét nghiệm công thức máu và sinh hóa máu ở lô trị 1, lô trị 2 so với lô chứng khác biệt không có ý nghĩa thống kê, $p > 0,05$.

3.1.2.3. Đánh giá độc tính trên gan

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Lipidan đến hoạt độ AST trong máu thỏ

Thời gian uống thuốc	Hoạt độ AST (UI/l)			p
	Lô chứng(n=12)	Lô trị 1 (n=12)	Lô trị 2 (n=12)	
Trước (1)	40,78 ± 7,15	40,23 ± 5,98	41,43 ± 6,58	> 0,05
Sau 3 tuần (2)	41,08 ± 6,37	40,91 ± 6,72	40,22 ± 7,13	> 0,05
p (1,2)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 6 tuần (3)	41,21 ± 7,09	41,56 ± 6,23	40,57 ± 7,23	> 0,05
p (1,3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của Lipidan đến hoạt độ ALT trong máu thỏ

Thời gian uống thuốc	Hoạt độ ALT (UI/l)			p
	Lô chứng(n=12)	Lô trị 1(n=12)	Lô trị 2(n=12)	
Trước (1)	39,92 ± 4,98	40,50 ± 5,03	37,07 ± 6,01	>0,05
Sau 3 tuần (2)	40,08 ± 5,01	40,77 ± 5,70	38,21 ± 5,76	>0,05
p (1, 2)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 6 tuần (3)	41,39 ± 5,55	42,01 ± 6,03	37,14 ± 5,12	>0,05
p (1,3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Bảng 3.8 và 3.9 cho thấy, sau 3 tuần và 6 tuần uống Lipidan, các xét nghiệm đánh giá độc tính trên gan trong máu thỏ ở cả lô trị 1 và

lô trị 2 đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau uống thuốc thử ($p > 0,05$).

3.1.2.4. Ảnh hưởng của Lipidan chức năng thận

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của Lipidan đến nồng độ ure trong máu thỏ

Thời gian uống thuốc	Ure (mmol/l)			P
	Lô chứng (n=12)	Lô trị 1 (n=12)	Lô trị 2 (n=12)	
Trước (1)	5,29 ± 0,22	5,12 ± 0,91	4,92 ± 0,89	>0,05
Sau 3 tuần (2)	5,31 ± 0,38	5,12 ± 0,75	5,01 ± 0,87	>0,05
p (1,2)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 6 tuần (3)	5,27 ± 0,25	5,11 ± 0,98	4,96 ± 0,74	>0,05
p (1,3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Bảng 3.11. Ảnh hưởng của Lipidan đến nồng độ creatinin máu thỏ

Thời gian uống thuốc	Creatinin (μmol/l)			p
	Lô chứng (n=12)	Lô trị 1 (n=12)	Lô trị 2 (n=12)	
Trước (1)	60,32 ± 9,85	61,36 ± 7,67	60,27 ± 8,51	> 0,05
Sau 3 tuần (2)	61,05 ± 7,94	61,53 ± 7,89	60,74 ± 8,37	> 0,05
p (1,2)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 6 tuần (3)	60,58 ± 8,01	62,57 ± 8,12	61,43 ± 8,75	> 0,05
p (1,3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Bảng 3.10 và 3.11 cho thấy, sau 3 tuần và 6 tuần uống Lipidan, ở cả lô trị 1 và lô trị 2, nồng độ ure và creatinin trong máu thỏ thay đổi khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng. So sánh nồng độ ure và creatinin giữa các thời điểm nghiên cứu ở mỗi lô không có sự khác biệt có ý nghĩa, $p > 0,05$.

3.2. Tác dụng của viên Lipidan trên thực nghiệm

3.2.1. Tác dụng của Lipidan trên mô hình RLLPM theo cơ chế nội sinh.

Bảng 3.14. Tác dụng của Lipidan lên các chỉ số lipid máu của chuột sau 24 giờ tiêm P- 407

LÔ	n	Chỉ số lipid máu ($\bar{X} \pm SE$, mmol/L)			
		TG	TC	HDL-C	non-HDL-C
		(Phần trăm thay đổi so với lô mô hình)			
Lô 2:mô hình	10	7,79 ± 084***	6,45 ± 0,22***	4,37 ± 0,13***	2,68 ± 0,23
Lô 3: Atorvastatin 100 mg/kg	10	13,9 ± 0,97+++ (↑79,0%)	4,70 ± 0,15+ ++ (↓27,1%)	3,58 ± 0,08+ ++ (↓18,3%)	1,12 ± 0,17+ (↓46,2%)
Lô 4: Lipidan 6,0 g/kg	10	7,79 ± 0,77 (↓0,0%)	5,54 ± 0,25+ (↓14,4%)	4,04 ± 0,22+ (↓7,6%)	1,50 ± 0,17+++ (↓27,0%)
Lô 5: Lipidan 12,0 g/kg	10	5,70 ± 0,30++ (↓26,8%)	4,80 ± 0,15+ ++ (↓25,6%)	3,31 ± 0,16++ (↓8,2%)	1,49 ± 0,12++ (↓28,0%)

Chú thích: Khác biệt so với chứng trắng: ***: $p < 0,001$

Khác biệt so với mô hình: +: $p < 0,05$; ++: $p < 0,01$; +++: $p < 0,001$

Số liệu từ bảng 3.14 cho thấy, Lipidan liều 6,0 g/kg làm giảm có ý nghĩa thống kê chỉ số TC và non-HDL-C, nhưng không làm thay đổi hàm lượng TG so với lô mô hình. Lipidan liều 12,0 g/kg ngoài làm giảm có ý nghĩa thống kê TC và non-HDL-C còn làm giảm rõ rệt TG so với lô mô hình.

3.2.2. Tác dụng của Lipidan trên mô hình RLLPM ngoại sinh

Bảng 3.18. Nồng độ các chỉ số lipid máu tại thời điểm sau 4 tuần NC

Lô NC	n	Nồng độ các chỉ số lipid máu			
		TG	TC	HDL - C	Non-HDL-C
Chứng trắng (1)	10	0,77 ±0,02	2,29 ±0,07	0,81 ±0,03	1,48 ±0,08
Mô hình (2)	10	0,93 ±0,04	4,29 ±0,22	1,76 ±0,05	2,58 ±0,23
p (2,1)		< 0,01	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Atorvastatin (3)	10	0,85 ±0,04	3,33 ±0,18	1,58 ±0,09	1,75 ±0,18
p (3,2)		> 0,05	< 0,01	> 0,05	< 0,05
Lipidan 0,7g/kg (4)	10	0,93 ±0,03	3,20 ±0,20	1,66 ±0,04	1,62 ±0,18
p (4,2)		> 0,05	< 0,01	> 0,05	< 0,01
p (4,3)		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Lipidan 1,4g/kg (5)	10	0,95 ±0,03	3,58 ±0,17	1,62 ±0,06	1,97 ±0,17
p (5,2)		> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05
p (5,3)		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
p (5,4)		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Kết quả từ bảng 3.18 cho thấy:

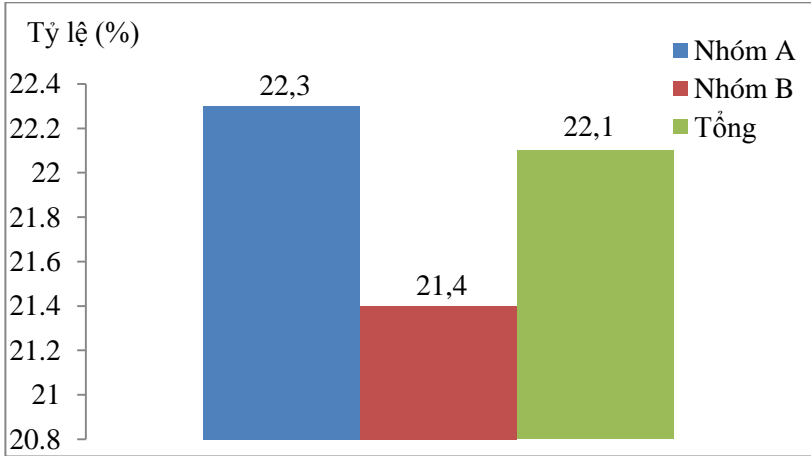
- Atorvastatin 10 mg/kg thể hiện rõ tác dụng điều chỉnh RLLPM máu qua giảm có ý nghĩa thống kê chỉ số TC, Non - HDL - C. TG có xu hướng giảm so với lô mô hình, khác biệt chưa có ý nghĩa, $p > 0,05$.

- Lipidan cả 2 liều 0,7g /kg và 1,4g/kg làm giảm rõ rệt nồng độ TC và Non - HDL - C, nhưng không làm giảm TG so với lô mô hình.

3.3. Tác dụng của viên nang Lipidan điều trị hội chứng RLLPM ở người thông qua một số chỉ số lâm sàng và cận lâm sàng

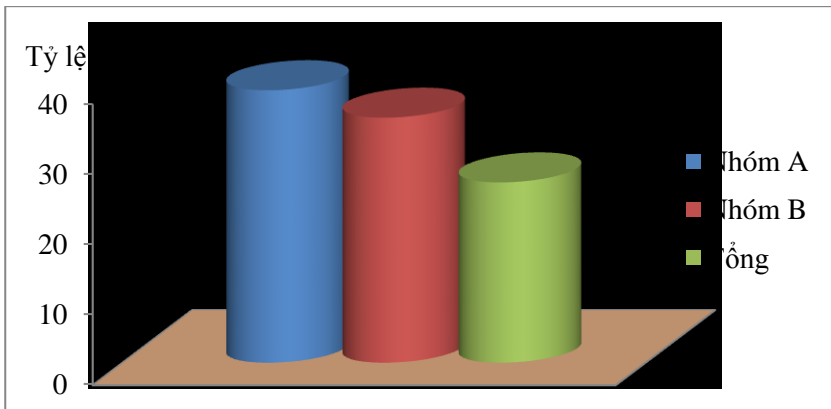
3.3.3. Hiệu quả điều trị của Lipidan thông qua các chỉ số CLS

3.3.3.1. Sự thay đổi một số thành phần lipid máu sau 42 ngày điều trị



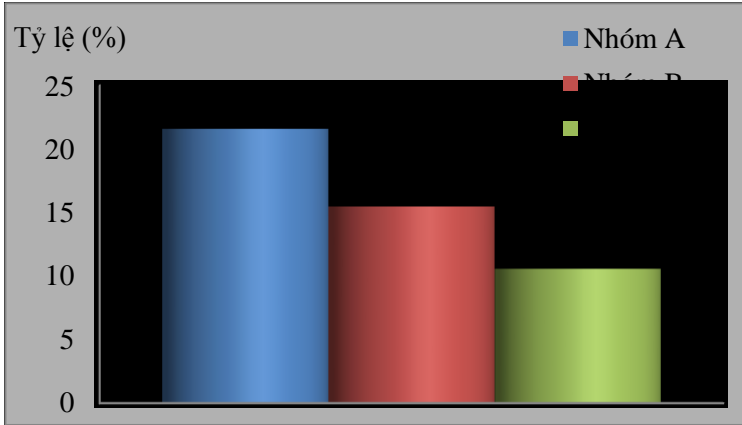
Biểu đồ 3.8. Tỷ lệ giảm trên chỉ số cholesterol trên bệnh nhân NC

Biểu đồ 3.8 cho thấy, thuốc Lipidan với hàm lượng 0,54g/1viên, liều 9 viên/24giờsau 42 ngày điều trị đã làm giảm rõ rệt chỉ số cholesterol toàn phầnmáu so với trước điều trị với $p < 0,001$.



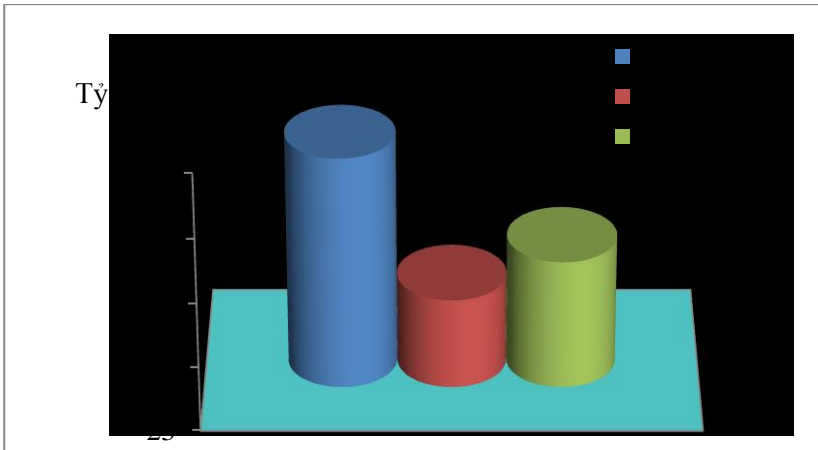
Biểu đồ 3.9. Tỷ lệ giảm trên chỉ số triglycerid trên bệnh nhân NC

Biểu đồ 3.9 cho thấy, triglycerid máu trung bình sau khi dùng Lipidan 42 ngày, đã giảm rõ rệt so với trước nghiên cứu, $p < 0,001$.



Biểu đồ 3.10. Tỷ lệ giảm trên chỉ số HDL-C trên bệnh nhân NC

Biểu đồ 3.10 cho thấy, chỉ số HDL - C máu trung bình của 2 nhóm sau 42 ngày điều trị, đã tăng cao hơn so với lúc trước điều trị, $p < 0,001$.



Biểu đồ 3.11. Tỷ lệ giảm trên chỉ số LDL-C trên bệnh nhân NC

Biểu đồ 3.11 cho thấy, chỉ số LDL - C nhóm A và nhóm B sau 42 ngày điều trị đã giảm rõ rệt so với lúc trước điều trị, $p < 0,001$

3.3.3.2. Kết quả điều trị theo tiêu chuẩn đề ra

Bảng 3.38. Hiệu quả điều trị theo tiêu chuẩn YHHĐ

Hiệu quả \ Nhóm	Nhóm A		Nhóm B		Tổng		p
	n	%	n	%	n	%	
Hiệu quả tốt	29	64,5	25	55,6	54	60,0	>0,05
Hiệu quả khá	15	33,3	18	40,0	33	36,7	>0,05
Không hiệu quả	1	2,2	2	4,4	3	3,3	>0,05
Hiệu quả xấu	0	0,0	0	0,0	0,0	0,0	
p	>0,05						

Kết quả bảng 3.38 cho thấy, tổng số bệnh nhân có hiệu quả tốt và khá chiếm tỷ lệ là 95,6%. Chỉ có 3 bệnh nhân điều trị không hiệu quả chiếm tỷ lệ là 3,3%.

Bảng 3.39. Hiệu quả điều trị theo tiêu chuẩn YHCT

Hiệu quả \ Nhóm	Nhóm A		Nhóm B		Tổng		p
	n	%	n	%	n	%	
Hiệu quả Tốt	24	53,3	22	48,9	46	51,1	>0,05
Hiệu quả Khá	20	44,5	21	46,7	41	45,6	>0,05
Không hiệu quả	1	2,2	2	4,4	3	3,3	>0,05
Hiệu quả xấu	0	0,0	0	0,0	0	0,0	
p	>0,05						

Kết quả bảng 3.39 cho thấy, sau 42 ngày điều trị, tỷ lệ bệnh nhân đạt hiệu quả điều trị tốt và khá chiếm 96,7%.

3.4. Không thấy tác dụng không mong muốn trên lâm sàng

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

4.1. Độc tính cấp LD₅₀ và độc tính bán trường diễn của Lipidan

4.1.1. Độc tính cấp

Nghiên cứu độc tính cấp cho thấy chuột uống Lipidan liều tăng dần từ 17,3 g/kg/ngày đến 43,2 g/kg/ngày (liều lớn nhất có thể cho chuột nhất trắng uống được - gấp 36,0 lần liều tương đương liều điều trị trên người, tính theo hệ số 12), nhưng không có chuột nào chết và không thấy biểu hiện bất thường nào ở chuột. Kết quả này chứng tỏ Lipidan có độc tính cấp thấp. Từ kết quả trên cho thấy phạm vi an

toàn của Lipidan là rất rộng. Điều này cho thấy sự phối ngũ các vị thuốc trong bài thuốc nghiên cứu là rất hợp lý. Vì thế, viên nang Lipidan chưa thấy độc và chưa xác định được LD50.

4.1.2. Độc tính bán trường diễn

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn được thực hiện bằng cách cho động vật thí nghiệm uống thuốc thử hàng ngày liên tục trong một khoảng thời gian nhất định. Theo WHO, đối với một thuốc y học cổ truyền, thời gian nghiên cứu độc tính bán trường diễn phụ thuộc vào thời gian dự kiến dùng trên người. Lipidan dự kiến dùng 6 tuần trên người, do vậy chúng tôi tiến hành đánh giá độc tính bán trường diễn trên thỏ với hai liều: liều 0,3 g/kg/ngày là liều có tác dụng tương đương trên người (tính theo hệ số 3) và một liều cao hơn gấp 5 lần liều trên (1,5 g/kg/ngày), uống liên tục trong 6 tuần. Qua thời gian nghiên cứu không làm ảnh hưởng tới sự phát triển của thỏ. Chưa thấy biến đổi các chỉ số huyết học, hóa sinh máu và hình ảnh đại thể, mô bệnh học gan, thận thỏ. Kết quả này cho thấy Lipidan có tính an toàn cao.

4.3. Hiệu quả của viên nang Lipidan trong điều trị rối loạn lipid máu ở người thông qua một số chỉ số lâm sàng và cận lâm sàng

4.3.2.2. Hiệu quả điều trị của Lipidan trên các thành phần lipid máu

Kết quả biểu đồ 3.8 cho thấy, trước điều trị, chỉ số cholesterol toàn phần trung bình của bệnh nhân nhóm tỷ hư đàm thấp và bệnh nhân nhóm tỷ thận dương hư trong nghiên cứu là $6,02 \pm 0,84$ (mmol/l). Sau 42 ngày uống viên nang Lipidan thì hàm lượng cholesterol trung bình là $4,68 \pm 0,50$ mmol/l, giảm 22,13%. Chỉ số cholesterol trước và sau 42 ngày điều trị khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

Triglycerid máu là một chỉ số quan trọng để thăm dò về sự cân bằng lipid của cơ thể và góp phần phản ánh nguy cơ vữa xơ động mạch. Kết quả biểu đồ 3.9 cho thấy, chỉ số triglycerid sau 42 ngày điều trị còn $(1,90 \pm 0,39$ mmol/l) giảm 25,7%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với trước điều trị $(3,19 \pm 2,3$ mmol/l), $p < 0,001$.

Kết quả biểu đồ 3.10 cho thấy, chỉ số HDL- C trung bình trước điều trị HDL- C là $1,04 \pm 0,33$ (mmol/l) và sau 42 ngày điều trị, HDL- C trung bình là $1,22 \pm 0,24$. Như vậy, chỉ số HDL- C trung bình tăng so với trước điều trị là 10,6 %, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

Kết quả biểu đồ 3.11 cho thấy chỉ số LDL- C trung bình trước điều trị là $4,0 \pm 0,86$ (mmol/l). Sau 42 ngày uống thuốc, LDL- C

trung bình là $3,04 \pm 0,49$, giảm 24,0% so với trước điều trị và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$...

Giải thích cho tác dụng hạ mỡ máu của thuốc Lipidan YHHĐ, chúng tôi nhận thấy, thuốc Lipidan có các vị Sơn tra, Trần bì, Bán hạ, Bạch linh, Mộc hương nam, Hậu phác, Ngũ gia bì, Sinh khương, Xa tiền. Trong đó, vị Sơn tra là loại thảo dược phổ biến nhất dùng điều trị chứng bệnh tăng lipid và cholesterol và được xuất hiện trong hơn 50% các bài thuốc YHCT. Trong nhiều nghiên cứu đã cho thấy dịch triết nước từ Sơn tra liều dùng 3,6g/ngày trong 3 tháng đã chứng minh được làm giảm nồng độ cholesterol, triglycerid, và LDL- C cho 45 tình nguyện viên bị tăng lipid máu. Trần bì đã làm giảm lượng chất béo trung tính, giảm CT và LDL-C động vật thực nghiệm được ăn chế độ có cholesterol cao nên đã được sử dụng làm trà uống cho người béo phì. Bán hạ với thành phần chính là β - sitosterol có tác dụng làm giảm cholesterol trong máu, ức chế hấp thu cholesterol từ ruột. Theo nhóm tác giả Hàn Quốc (2006), sản phẩm chiết nước từ rễ cây Bán hạ có tác dụng làm giảm cân nặng, lượng TG và acid béo tự do trong máu chuột Zucker thực nghiệm. Dịch chiết từ Hậu phác nam có tác dụng làm giảm lượng triglycerid và cholesterol ở gan chuột được nuôi bằng chế độ ăn giàu chất béo trong 6 tuần. Hỗn hợp tinh dầu táo, Hậu phác nam và một số vị thuốc khác có tác dụng làm giảm trọng lượng của chuột công được nuôi dưỡng bằng chế độ ăn giàu chất béo. Sinh khương là một vị thuốc nhưng đồng thời cũng là gia vị rất thường dùng và sản phẩm dịch chiết từ Sinh khương đã làm giảm lượng triglycerid và cholesterol trong máu ở chuột công nuôi dưỡng bằng chế độ ăn giàu chất béo sau 6 tuần. Ngoài ra sản phẩm này còn làm tăng sự nhạy cảm của tế bào với insulin. Trong một thử nghiệm lâm sàng ở Iran, bệnh nhân béo phì sau khi được sử dụng nước từ Sinh khương hàng ngày trong 10 tuần thấy có giảm trọng lượng cơ thể, lượng triglycerid và cholesterol giảm hơn so với nhóm không được sử dụng nước gừng hàng ngày. Xa tiền làm tăng lợi tiểu, thanh can, cố thận tăng đào thải các thành phần tham gia vào quá trình chuyển hóa như urê, acid uric, muối... Kết hợp với các vị thuốc trên còn có Mộc hương, một vị thuốc ngoài có tác dụng lý khí ở trung tiêu còn có tác dụng tăng tiết dịch mật kích thích tiêu hóa. Vì thế, theo chúng tôi, tác dụng trừ đàm của viên nang Lipidan đã được tăng lên. Ngoài ra, sự có mặt của Ngũ gia bì còn có tác dụng trừ phong thấp, trắng gân cốt, bổ thận nên làm mạnh gân xương qua đó càng làm tăng tác dụng trừ đàm thấp mà làm giảm các thành phần lipid máu cũng

như các triệu chứng lâm sàng liên quan đến rối loạn lipid máu của viên nang Lipidan.

Như vậy, viên nang Lipidan có tác dụng tốt trong điều chỉnh các thành phần lipid máu. Tuy nhiên, khi so sánh tác dụng trên bệnh nhân nhóm tỳ hư đàm thấp và nhóm bệnh nhân tỳ thận dương hư, chúng tôi nhận thấy, Lipidan có xu hướng cải thiện các chỉ số lipid máu ở nhóm bệnh nhân tỳ hư đàm thấp tốt hơn so với nhóm bệnh nhân tỳ thận dương hư nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

4.3.2.3. Hiệu quả điều trị của Lipidan theo YHHĐ và YHCT

Kết quả bảng 3.38, 3.39 cho thấy, hiệu quả của viên nang Lipidan dựa theo tiêu chuẩn của YHHĐ, chúng tôi thấy có 54 bệnh nhân chiếm 60,0% đạt hiệu quả điều trị tốt, 33 bệnh nhân chiếm 36,7% đạt hiệu quả điều trị khá. Như vậy, tổng số bệnh nhân đạt hiệu quả tốt và khá là 96,7%. Chỉ còn 3 bệnh nhân (3,3%) không đạt kết quả và không có bệnh nhân đạt hiệu quả xấu. Kết quả của chúng tôi cao hơn kết quả của Trương Việt Bình khi dùng viên Giao cô lam nhưng tương tự kết quả của Tăng Thị Bích Thủy (2007) với 93,3% bệnh nhân điều trị có hiệu quả, trong đó hiệu quả tốt là 30% khi dùng HCT1 và nghiên cứu của tác giả Phạm Thị Bạch Yến với 96,8% bệnh nhân đạt hiệu quả tốt và khá khi dùng năm Hồng chi liều 4g/24h và 97% bệnh nhân dùng năm Hồng chi liều 15g/24h.

Dựa trên tiêu chuẩn của YHCT, chúng tôi thấy, ở cả 2 nhóm có 87 bệnh nhân đạt hiệu quả điều trị tốt và khá chiếm tỷ lệ là 96,7%. Trong đó, tỷ lệ bệnh nhân đạt hiệu quả điều trị tốt và khá ở nhóm tỳ hư đàm thấp (97,8%) cao hơn nhóm tỳ thận dương hư (95,6%) nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, $p > 0,05$.

4.2.3.4. Hiệu quả của Lipidan theo tiêu chuẩn đề ra

+ Bệnh nhân thể tỳ hư đàm thấp (nhóm A) đạt hiệu quả tốt 53,3%; hiệu quả khá: 44,5%; không hiệu quả: 2,2%; không có hiệu quả xấu.

+ Bệnh nhân thể tỳ thận dương hư (nhóm B) đạt hiệu quả tốt 48,9%; hiệu quả khá: 46,7%; không hiệu quả: 4,4%; không có hiệu quả xấu.

+ Hiệu quả điều trị chung cho nhóm nghiên cứu: hiệu quả tốt và khá là 96,7%; không hiệu quả 3,3%; không có hiệu quả xấu.

4.3.3. Không thấy có tác dụng không mong muốn trên lâm sàng

KẾT LUẬN

1. Độc tính cấp, độc tính bán trường diễn của viên nang Lipidan:

- Lipidan với liều tối đa có thể chịu được là 43,2g/kg/24giờ (gấp 36,0 lần liều tương đương liều điều trị trên người) cũng không thấy độc tính cấp, nên chưa tính được LD₅₀.

- Lipidan liều 0,3g/kg/giờ (liều có tác dụng tương đương trên người) và liều cao gấp 5 lần (1,5g/kg/giờ), uống liên tục trong 6 tuần cũng không thấy thay đổi về tình trạng chung, về chức phận sinh hóa của gan, thận và chức phận tạo máu.

2. Tác dụng của viên nang Lipidan trên mô hình gây rối loạn lipid máu thực nghiệm.

- Lipidan liều 6,0g/kg và 12,0g/kg uống trong 7 ngày có tác dụng làm giảm rõ rệt TC (14,1% và 25,6%), non – HDL (27,9% và 28,4%); liều 12,0g/kg còn làm giảm rõ rệt TG (26,8%) so với lô mô hình.

- Lipidan liều 0,7g/kg và 1,4g/kg uống trong 2 tuần có tác dụng làm giảm rõ rệt TC (3,1% và 25,3%), non – HDL (42,5% và 35,9%). Sau 4 tuần Lipidan liều 0,7g/kg làm giảm TC 31,2%, non – HDL 46,4%; liều 1,4g làm giảm TC 23,0% và non - HDL 31,8% so với lô mô hình.

3. Tác dụng điều chỉnh lipid máu của viên nang Lipidan trên người:

- Lipidan làm giảm: cholestrol 22,13%, triglycerid 25,7%, LDL-C 24,0% và làm tăng HDL-C 10,6% khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Theo tiêu chuẩn YHHĐ: kết quả tốt và khá đạt 96,7%.

- Theo tiêu chuẩn YHCT: thể tỷ hư đàm thấp và tỷ thận dương hư đạt kết quả tốt và khá là 96,7%.

- Lipidan không làm ảnh hưởng đến các chức phận sinh hóa của gan, thận và về chức phận tạo máu. Không thấy có tác dụng không mong muốn trên trên lâm sàng.

KHUYẾN NGHỊ

Nghiên cứu trình bày trong luận án phần nào mới chỉ là bước đầu nghiên cứu về tác dụng điều trị của Lipidan. Để khẳng định được tác dụng làm giảm các thành phần lipid máu của viên nang Lipidan trong điều trị, cần phải có những nghiên cứu tiếp theo. Vì vậy, đề tài cần nghiên cứu khẳng định.

- Cơ chế tác dụng về giảm lipid máu của thuốc Lipidan

- Tiếp tục nghiên cứu về tác dụng của thuốc Lipidan trong điều trị rối loạn lipid máu với cỡ mẫu lớn hơn và thời gian nghiên cứu lâu hơn.

- Hoàn thiện các quy trình của Bộ Y tế để sản xuất Lipidan lưu hành rộng rãi trong cộng đồng.

**MINISTRY OF EDUCATION
AND TRAINING**

MINISTRY OF HEALTH

HANOI MEDICAL UNIVERSITY



DO QUOC HUONG

**RESEARCH TOXICITY OF LIPIDAN
CAPSULES FOR THE TREATMENT OF
DYSLIPIDEMIE SYNDROME**

Specialty: Traditional Medicine

Code: 62 72 02 01

**MEDICAL DOCTOR DISSERTATION
SUMMARY**

HANOI - 2016

**WORK TO BE COMPLETED
IN HANOI MEDICAL UNIVERSITY**

Supervisor: Ass Pro.PhD. Pham Vu Khanh
 Ass Pro.PhD. Vu Thi Ngoc Thanh

Opponent 1: Prof.

Opponent 2: Prof.

Opponent 3: Prof.

The dissertation will be put before the Board to protect the
state level thesis held in Hanoi Medical University

By the time day in May 2016

Can be found the dissertation in:

National Library

Library Central Medical Information

Library Hanoi Medical University

LIST OF PUBLIC SCIENTIFIC WORKS RELATED TO THE DISSERTATION

1. Do Quoc Huong, Vu Thi Ngoc Thanh, Nguyen Phuong Thanh, Pham Vu Khanh (2014): Acute toxicity and effect of capsule Lipidan of on mice is caused by dyslipidemia Poloxamer - 407. Medical Practice. 941, 15-18.
2. Do Quoc Huong, Vu Thi Ngoc Thanh, Nguyen Phuong Thanh, Pham Vu Khanh (2014): Effects of capsules lipidan white rats are causing dyslipidemia under the Exogenous. Medical Practice. 946, 1- 5.
3. Do Quoc Huong, Vu Thi Ngoc Thanh, Pham Vu Khanh (2015): To evaluate the effect of lipid capsules for the treatment of dyslipidemia syndrome. Medical Practice. 980, 57- 59.

INTRODUCTION

Dyslipidemia is an important factor for the formation and development of atherosclerotic disease (AD), (coronary) artery atherosclerosis causes many serious complications that threatens to human life such as hypertension, myocardial infarction, stroke and coronary artery disease. Atherosclerosis disease is the main cause of mortality in the developed country and its mortality is on the rise. In America, about 1 million people die of cardiovascular disease every year, in which mortality related to AD accounts for 42.6% atherosclerosis. According to the World Health Organization, Vietnam had 100,000 dead people from coronary disease in 2010 and it is forecast that cardiovascular diseases, especially AD will become the leading cause with burden of diseases worldwide by 2020.

Medicinal research include: Tran bi, Bach linh, Moc huong nam, Ngu gia bi, Xa tien tu, Ban ha che, Hau phac nam, Son tra, Sinh khuong. These medicinal remedies have been researched, and manufactured in the form of capsule denoted as "Lipidan"

Objectives of researches:

1. Identify acute toxicity and chronic toxicity of Lipidan capsule.
2. Evaluate the effect of Lipidan capsules in the treatment of human's dyslipidemia.
3. Assess the effect of the capsules Lipidan in dyslipidemia treatment to humans.

ACTUAL MEANING AND NEW CONTRIBUTIONS OF THE DESSERTATION

The researches on a disease that is now becoming the leading issues of health with a quite high proportion in the community. Although the curation with modern medicines (YHHD) have gained some good results, it exists some inadequacies such as: muscle pain, tangled intestinal digestion, expensive prices ... Thus, the study for new treatments that originates from effective, safe and low-priced herbs is of practical significance, even it is still a study orientation that has been received attention to by many scientists.

Scientific works of the dissertation have systematically carried out both preclinical and clinical researches of a new form of capsule including nine traditional drugs available in the community to treat dyslipidemia.

The research results will contribute to prove the actual value of traditional medicine - a product of oriental culture, creating the positive influences of traditional culture through a return to traditional therapies, as well as encouraging ethnic pride, preserving the country's cultural identity and improving community health. The research and application of traditional medicine (YHCT) in treatment help to clarify the theoretical basis of YHCT and gradually modernize it. This research will be of scientific significance in the real life.

STRUCTURE OF THE DESSERTATION

Apart from the introduction and conclusion, the dissertation has four chapters:

Chapter 1: Overview 36 pages

Chapter 2: Research subjects and methods 16 pages

Chapter 3: Findings 36 pages

Chapter 4: Discussion 32 pages

The thesis has 52 tables, 11 graphs, 04 form, 06 pictures, 06 diagram and appendix, 154 references (75 in Vietnamese, 65 in English, 14 in Chinese)

CHAPTER 1 OVERVIEW

1.1. Dyslipidemia

Dyslipidemia is the disorder and/or increasing the concentration of lipids in the blood components. Consequently, it increases the risk of heart disease and stroke.

1.2. Primary dyslipidemia

In 1965, based on technical electrophoresis and ultracentrifugation of components of lipoprotein, Fredrickson divided dyslipidemia into 5 types (I, II, III, IV, V).

1.2.2. Secondary dyslipidemia

Factors affecting the formation of lipid are obesity, or eating too much cholesterol foods such as animal viscera, eggs, butter, milk ...,

sedentary, smoking, excessive drinking, endocrine disorders, liver and kidney diseases ...

1.2.3. Dyslipidemia and cardiovascular disease

According to Kannel, when cholesterol elements increase > 2.5 g/l, the risk of BMV increases 2,25- 3.25 times. When cholesterol from 5,2- 6,5 mmol/l, the BMV deaths doubled. When cholesterol elements are from 5,2- 7,8 mmol/l, deaths caused by BMV quadrupled.

Some studies show that an increase in blood pressure and cholesterol have powerful synergistic effect in promoting atherosclerotic.

1.2.5. Treatment of dyslipidemia syndrome:

Adjusting lifestyle, diet, activities, limiting or reducing the meat, animal fats, eggs, milk ... Avoiding stress and relaxing ... reducing/quitting smoking, increasing exercise, tai-chi, massage. Drug therapy: statin group, resins associated with bile acids (resin), fibric acid derivative (fibrate), nicotinic acid (niacin), probucol, cholesterol absorption inhibitors (Ezetimibe), D- thyroxine. The results of many studies show that lowering blood cholesterol level is still the primary method for preventing and treating cardiovascular disease.

1.3. Dyslipidemia in the view of traditionel

* Causes, pathogenesis

- Due to unhealthy diet: eating more fat food fat, many rare and nutritious food, drinking much alcohol, too much mental work, spleen damage, low disorders leading to low endogenous phlegm.

- Due to less physical activity: a long stasis phlegm, no circulation of blood results in stagnant air, blood stasis. Pain in body air injures spleen damage resulting.

- Due to lovesick (mental element): worry affects spleen, anger harms.

- Due to physical factors

* Primary symptom of YHCT

- Spleen damage and low phlegm: bloating, indigestion, limb numbness, big tongue with teeth imprints, greasy white tongue, pulse operation, low body operation.

- Spleen damage: the body fatigue, back pain, fatigue knees, tinnitus, vertigo, dizziness, stomach indigestion, cold hearted, white and big tongue.

- Positive impulses blood damage: dizziness, tinnitus, sleep less, or anesthesia, limb numbness, thirst, red tongue, yellow tongue,.....

- Liver and kidney damag: dizziness, tinnitus, back pain, dry mouth, red tongue, yellow tongue....

- fat body, dizziness, bloating, loss of appetite, fatigue, yellow urine, defecation apple, nature red tongue, thick yellowtongue

- Chest tightness, shortness of breath, headache, dizziness, long pain for one position, limb numbness, or purple tongue.

- Headache, dizziness, irritability, easy anger, dry mouth, yellow urine.

*** Medicinal Research**

Ingredients for a drug include: Tran bi, Bach linh, Moc huong nam , Ngu gia bi, Xa tien tu, Ban ha che, Hau phac nam, Son tra, Sinh khuong

CHAPTER 2

MATERIALS, SUBJECTS AND AND METHODS OF RESEARCH

2.1. Research Materials

2.1.1. *Experimental part:*

Capsule Lipidan: BV Pharma Joint Stock Company : Hamlet 2 - Tan Thanh Tay commune - Cu Chi district – Ho Chi Minh city.

2.1.2. *Clinical part*

90 patients in research use capsules Lipidan

2.2. Research subjects

2.2.1. *Research on animals*

- White house-mice (*Mus musculus*) Swiss species: healthy, weight $25 \pm 2g$ on average (to study the effect on blood lipids) and $20 \pm 2g$ (to study acute toxicity) by the State Institute of Hygiene Services

- White Rats: healthy, weight 150 - 180g

- Rabbit (*Oryctolagus cuniculus* species): healthy, weight 1,8- 2,5 kg, provided by Son Tay Center for raising goat and rabbit (Livestock Institute).

2.2.2. Human Studies

90 patients: diagnosed dyslipidemia and being treated at the Traditional Medicine Hospital, Police Ministry.

* Criteria for patients selection in accordance with modern medicine

Patients with the syndrome dyslipidemia satisfies the following conditions:

≥ 6.5 mmol CT +/l, LDL-C ≥ 4.2 mmol/l

+ Or TG > 2.3 mmol/l

+ Or CT from 5.2 to 6.2 mmol/l, HDL-C < 0.91 mmol/l.

Selected patients with measurements of systolic blood pressure between 110-139 mmHg, diastolic blood pressure of 70-89 mm Hg.

* Criteria for patients selection in accordance with traditional medicine

Four diagnostic methods	Spleen phlegm nowhere low	Positive spleen damage
Look	Beu tongue with teeth imprints, white moss mucus, body fat	Beu tongue, white moss, body fat
Listen	said normal, small and weak, talk to	said normal, small and weak, talk to
Question	eat less, dyspepsia, weary limbs, bloating, severe limb numbness and coal	backache, knee fatigue, tinnitus, nocturia, dizziness, dizziness, abdominal distention, poor food
Examination	circuit operation, flabby muscles	economic depression, flabby muscles

2.2.2.3. Exclusion criteria for patients out of study. (modern medicine)

- Dyslipidemia secondary syndrome from diseases: hypothyroidism, diabetes, nephrotic syndrome, liver failure, kidney failure.

- Digestive disorders, women who are pregnant, breastfeeding, malnutrition, mental illness, drug use affect lipid metabolism.
- Acquired infections, acute illness contracted.
- Failing to obey the research standards.
- Having a diet.

2.3. Research methods

2.3.1. Experimental section:

* Research about acute toxicity and chronic...

- Acute toxicity: Determined on white house-mice following oral drinking administration under the guidance of the Ministry of Health and the World Health Organization. Seven white mice batches, each batch of 10 mice, have been taken medicine orally with gradually increased dose. Descending from the nonlethal highest dose to the lethal lowest dose of 100% death, with constant volume pills per 0,3ml/10g weight, 3 times/24 hours, the times taken every 2 hours - Lipidan dose of 0,3g/kg/hour (equivalent dose to humans) and 5-fold higher dose (1.5g/kg/hour), continuous drinking for 6 weeks. As a result, their general changes, function of liver and kidney biochemistry, and hematopoietic function have not been discovered.

Observe general condition of mice and the number of dead mice in each batch during 72 hours (the mice died in the first 2 hours will be in surgery for overall observation). Then continue to monitor the status of the mouse to the end of the 7th day after taking up the dose. Calculate LD50 under Litchfield- Wilcoxon method.

- Semi-chronic toxicity: Lipidan dose of 0,3g/kg/hour (equivalent dose to humans) and 5-fold higher dose (1.5g/kg/hour), continuous drinking for 6 weeks. No changes in the general condition, the function of liver and kidney biochemistry and hematopoiesis have been discovered.

Track weight, eating, sleep, activity, digestion, hematology, liver and kidney biochemistry at the time of taking dose of every 2 week, and every 4 week, and after 2 weeks of stopping the dose. Observe

overall images, liver and kidney histopathology after 4 weeks of medication and stopped taking medication after 2 weeks.

* *Research to lower blood lipids in experiment*

- *Mode that causes dyslipidemia endogenous mechanism*

+ Lipidan dose of 6,0g/kg: oral dose Lipidan 6,0g/kg daily, day 7 with P- 407 peritoneal injection: 200 mg/kg.

+ Lipidan dose of 12,0g/kg: 12.0 g oral dose Lipidan/kg daily, day 7 with P- 407 peritoneal injection 200 mg/kg.

Mice took lipidan, atorvastatin or distilled water orally for 7 days. On day 7, mice in the lots (except Lot 1) was injected intraperitoneally P 407. All the mice were fasted for 24 hours, drink water freely. On day 8, 24 hours after injection of P-407, all the mice had blood samples tested carotid quantitative triglyceride (TG), total cholesterol (TC), HDL cholesterol (HDL-C). Non-HDL cholesterol index (cholesterol not HDL) is calculated by using the formula: $\text{Non-HDL-C} = (\text{TC}) - (\text{HDL-C})$.

- *Mode that causes dyslipidemia under the Exogenous mechanism*

+ Mode of hyperlipidemia under exogenous mechanism: mice drinks cholesterol oil including: cholesterol, cholic acid, propylthiouracil (PTU) diluted in peanut oil with 10ml/ kg/day for 4 weeks. With 5 lots: Lot 1 (white ..), lot 2 (mode), Lot 3 (...), Lot 4 (Lipidan dose 1), Lot 5 (Lipidan dose 2). Reagents and drugs were taken after Lipidan or atorvastatin, 2 hours after drinking the cholestorol oil mixture. Conduct to weigh mice of all lots at the time of before and after research of 1, 2 and 4 weeks and get mice tail blood to quantify blood lipid values: Total cholesterol (TC), triglyceride (TG), HDL cholesterol (HDL-C) and non - HDL cholesterol index.

2.4.2.2. *To evaluate the effect of clinical Lipids*

* **Research Methodology:** open clinical trials with a comparison of before and after treatment.

* **Research Implementation:** Select 90 patients with low phlegm spleen damage (group A) and spleen damage (group B).

- Patients were examined 2 different times

- Making patient profile: Patients were examined clinically, preclinical testing in 2 times before treatment (D0) and after 42 days of treatment (D42).

*** The use of drugs (capsules Lipidan)**

- Capsule Lipidan 0,54g/1 tablet.
- Usage: daily use 9 tablets/day, divided into 3 times, every 3 tablets/ once, take 30 minutes after eating, and take medication for 42 days continuously.

*** Equipment and chemicals for research**

- Tools and machinery: syringes, pipettes, test tubes, blood pressure gauge, weight, automatic hematology, semiautomatic biochemistry machine.

- Chemicals, test kit.

*** The research index**

- Index of body, weight, height, pulse, and blood pressure.
- Index of hematological and biochemical blood: blood formula, cholesterol index, triglycerides, HDL-C, LDL-C, ALT, AST, urea, creatinine, glucose ...

2.4.3. Criteria for evaluation of results

2.4.3.1. Assessment according to YHHD basing on subclinical one.

Divided into four categories based on clinical research standards of the Ministry of Health of China.

- Good:

- + CT decreases $> 20\%$
- + TG decreases $> 40\%$
- + HLD-C increases ≥ 0.259 mmol
- + LDL-C decreases < 3.90 mmol/l

- Quite good:

- + CT decreases by 10% - 20%.
- + TG decreases of 20% - 40%.
- + HLD- C increases from 0,120- 0.258 mmol/l.
- + LDL-C decreases 3.900 to 4.90 mmol/l.

- Ineffective: no change of criteria or a little change (below the criteria of type: Quite Good).

- Bad:

- + CT increases > 10%
- + TG increases > 10%
- + HLD-C decreases > 0,120 mmol/l

2.4.3.2. *Clinical assessment by traditional*

- Good:

- Quite good: the clinical symptoms decreases but is not over.
- Ineffective: clinical symptoms unchanged.

- Bad: the symptoms do not change, but increase.

2.5. Data processing

Data are entered by using the software Excel 2007 - Microsoft and processed with SPSS 16.0 software. Check the difference of values by test t - Student and test "before-after". The differences are statistically significant at $p < 0.05$. The data obtained in the study are processed by the method of biomedicine statistical probability. Using the algorithm:

- Calculate the ratio%, calculate the average (X)
- Calculate the standard deviation (SD).
- All data collected are processed by SPSS and STATA.

2.6. Research Ethics

- The study is passed by the Council of research draft remark of Hanoi Medical University.

- With the agreement of the Council for Science and ethics of YHCT Hospital – Ministry of Police, Hanoi.

CHAPTER 3 RESEACH RESULTS

3.1. Experimental section

3.1.1. *Results of acute toxicity studies*

- White house mice drink an ascending dose Lipidan from 17.3 g/kg/day to 43.2g/kg/day (36.0 times more than equivalent doses of therapeutic doses to humans).The amount of 0.25 ml /10g weight, 3 times/24 hours, every 2 hours. There is no symptom of acute toxicity.

3.1.2. Semi-chronic toxicity

3.1.2.1 General conditions and body weight changes of rabbit

Time	Control group (n=12)		treatment group 1 (n=12)		treatment group 2 (n=12)		p
	Weight (kg)	% ↑ weight	Weight (kg)	% ↑ weight	Weight (kg)	% ↑ weight	
Before (1)	2,06 ± 0,17		2,05 ± 0,19		2,03 ± 0,19		> 0,05
After 3 weeks (2)	2,28 ± 0,19	10,35 ± 3,96	2,27 ± 0,13	11,08 ± 4,71	2,25 ± 0,16	11,14 ± 5,17	> 0,05
p (1-2)	< 0,05		< 0,05		< 0,05		
After 6 weeks (3)	2,45 ± 0,19	18,95 ± 6,28	2,47 ± 0,12	21,08 ± 8,07	2,43 ± 0,12	20,34 ± 8,61	> 0,05
p (1-3)	< 0,05		< 0,05		< 0,05		

Table 3.1 shows that, after 3 weeks, 6 weeks of medication, weight of rabbit between different lots no significant difference, $p > 0.05$.

3.1.2.2. Assessment of hematopoietic function.

Table 3.2. Effects of Lipidan on the number of red blood cells in rabbit's blood.

Medicine-taking time	The number of red blood cells (T/l)			p
	Control group (n=12)	treatment group 1 (n=12)	treatment group 2 (n=12)	
Before (1)	5,12 ± 0,13	5,31 ± 0,15	5,26 ± 0,23	> 0,05
After 3 weeks (2)	5,09 ± 0,64	5,28 ± 0,31	5,33 ± 0,17	> 0,05
p (1,2)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
After 6 weeks (3)	5,26 ± 0,72	5,32 ± 0,19	5,21 ± 0,32	> 0,05
p (1,3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Table 3.3. Effects of Lipidan on quantity of HST in rabbit's blood.

Medicine-taking time	Hemoglobin quantity (g/dl)			p
	Control group (n=12)	treatment group 1 (n=12)	treatment group 2 (n=12)	
Before (1)	10,12± 0,91	10,72± 0,55	10,2 ± 0,63	> 0,05
After 3 weeks (2)	10,24± 0,63	10,82± 0,44	10,25± 0,63	> 0,05
p (1,2)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
After 6 weeks (3)	10,43± 0,75	10,54± 0,53	10,52± 0,64	> 0,05
p (1,3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Table 3.4. Effects of Lipidan on hematocrit in rabbit's blood.

Medicine-taking time	Hematocrit (%)			p
	Control group (n=12)	treatment group 1 (n=12)	treatment group 2 (n=12)	
Before (1)	0,30 ± 0,03	0,32 ± 0,07	0,31 ± 0,14	> 0,05
After 3 weeks (2)	0,31 ± 0,02	0,31 ± 0,03	0,31 ± 0,23	> 0,05
p (1,2)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
After 6 weeks (3)	0,31 ± 0,12	0,32 ± 0,01	0,32 ± 0,15	> 0,05
p (1,3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Table 3.7. Effects of Lipidan on SLTC in rabbit's blood.

Medicine-taking time	The number of platelet (G/l)			p
	Control group (n=12)	treatment group 1 (n=12)	treatment group 2 (n=12)	
Before (1)	301,13±62,56	302,98±75,12	309,13±63,29	> 0,05
After 3 weeks (2)	303,26±67,11	307,06 ± 74,27	305,45±66,47	> 0,05
p (1,2)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
After 6 weeks (3)	303,19±65,53	305,16± 72,17	307,71±64,57	> 0,05
p (1,3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Results from table 3.2 to 3.7 shows that after 3 weeks and 6 weeks of taking Lipidan, all test results of blood formula and blood biochemistry at Lot 1, Lot 2 shows lots of much difference without statistic significance, $p > 0.05$.

3.1.2.3. Evaluation of hepatotoxicity

Table 3.8. Effects of Lipidan on AST activity in rabbit's medicine

Medicin-taking time	AST activity (UI/l)			p
	Control group (n=12)	treatment group 1 (n=12)	treatment group 2 (n=12)	
Before (1)	40,78 ± 7,15	40,23 ± 5,98	41,43 ± 6,58	> 0,05
After 3 weeks (2)	41,08 ± 6,37	40,91 ± 6,72	40,22 ± 7,13	> 0,05
p (1,2)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
After 6 weeks (3)	41,21 ± 7,09	41,56 ± 6,23	40,57 ± 7,23	> 0,05
p (1,3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Table 3.9. Effects of Lipidan on ALT activity in rabbit's blood.

Medicine-taking time	ALT activity (UI/l)			p
	Control group (n=12)	treatment group 1 (n=12)	treatment group 2 (n=12)	
Before (1)	39,92 ± 4,98	40,50 ± 5,03	37,07 ± 6,01	> 0,05
After 3 weeks (2)	40,08 ± 5,01	40,77 ± 5,70	38,21 ± 5,76	> 0,05
p (1, 2)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
After 6 weeks (3)	41,39 ± 5,55	42,01 ± 6,03	37,14 ± 5,12	> 0,05
p (1,3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Table 3.8 and 3.9 show that, after 3 weeks and 6 weeks of taking Lipidan, the tests to assess liver toxicity in the rabbit blood in Lot 1 and Lot 2 of treatment had no significant difference compared to between the time before and after the test medication ($p > 0.05$).

3.1.2.4. Effects of Lipidan on kidney function

Table 3.10. Effects of Lipidan on the concentration of ure in rabbit's blood

Medicine-taking time	Ure (mmol/l)			p
	Control group (n=12)	treatment group 1 (n=12)	treatment group 2 (n=12)	
Before (1)	5,29 ± 0,22	5,12 ± 0,91	4,92 ± 0,89	> 0,05
After 3 weeks (2)	5,31 ± 0,38	5,12 ± 0,75	5,01 ± 0,87	> 0,05
p (1,2)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
After 6 weeks (3)	5,27 ± 0,25	5,11 ± 0,98	4,96 ± 0,74	> 0,05
p (1,3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Table 3.11. Effects of Lipidan on the concentration of creatinin in rabbit's blood.

Medicine-taking time	Creatinin ($\mu\text{mol/l}$)			p
	Control group (n=12)	treatment group 1 (n=12)	treatment group 2 (n=12)	
Before (1)	60,32 \pm 9,85	61,36 \pm 7,67	60,27 \pm 8,51	> 0,05
After 3 weeks (2)	61,05 \pm 7,94	61,53 \pm 7,89	60,74 \pm 8,37	> 0,05
p (1,2)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
After 6 weeks (3)	60,58 \pm 8,01	62,57 \pm 8,12	61,43 \pm 8,75	> 0,05
p (1,3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Table 3.10 and 3.11 show that after 3 weeks and 6 weeks of taking Lipidan, the concentration of ure and creatinin in both Lot 1 and Lot 2, in rabbit's blood had no significant difference in statistic. Comparing the concentration of ure and creatinin between the time of the test medication see no significant difference ($p > 0.05$).

3.2. Function of Lipidan capsule in experimental process.

3.2.1. Effects of Lipidan in the RLLM model of endogenous mechanism.

Table 3.14. Effects of Lipidan on lipid index in mice's blood after a 24-hour injection of P-407

Lot	n	Blood lipid index ($\bar{X} \pm \text{SE}$, mmol/L)			
		TG	TC	HDL-C	non-HDL-C
(Phần trăm thay đổi so với lô mô hình)					
Lot 2: model	10	7,79 \pm 084 ^{***}	6,45 \pm 0,22 ^{***}	4,37 \pm 0,13 ^{***}	2,68 \pm 0,23
Lot 3: Atorvastatin 100 mg/kg	10	13,9 \pm 0,97 ⁺⁺⁺ (\uparrow 79,0%)	4,70 \pm 0,15 ⁺ ₊₊ (\downarrow 27,1%)	3,58 \pm 0,08 ⁺ ₊₊ (\downarrow 18,3%)	1,12 \pm 0,17 ⁺ (\downarrow 46,2%)
Lot 4: Lipidan 6,0 g/kg	10	7,79 \pm 0,77 (\downarrow 0,0%)	5,54 \pm 0,25 ⁺ (\downarrow 14,4%)	4,04 \pm 0,22 ⁺ (\downarrow 7,6%)	1,50 \pm 0,17 ⁺⁺⁺ (\downarrow 27,0%)
Lot 5: Lipidan 12,0 g/kg	10	5,70 \pm 0,30 ⁺⁺ (\downarrow 26,8%)	4,80 \pm 0,15 ⁺ ₊₊ (\downarrow 25,6%)	3,31 \pm 0,16 ⁺⁺ (\downarrow 8,2%)	1,49 \pm 0,12 ⁺⁺ (\downarrow 28,0%)

Note: Difference compared to Control group: ***: $p < 0,001$

Difference from model: +: $p < 0,05$; ++: $p < 0,01$; +++: $p < 0,001$

Data from Table 3:14 shows that Lipidan dose 6.0 g/kg to be reduced means statistical indicators to TC and non- HDL - C, but does not alter the quantity of TG compared to Lot model. The difference is not valuable, $p > 0.05$. Lipidan dose of 12.0g/kg can not only reduce statistic significance TC and non-HDL-C but also lower TG clearly in comparison with model Lot.

3.2.2. Lipidan effects of RLLLM exogenous model

Table 3.18. The concentration of blood lipid indexes after 4 weeks from the date of research.

Lot NC	n	Nồng độ các chỉ số lipid máu			
		TG	TC	HDL - C	Non-HDL-C
Chứng trắng (1)	10	0,77 ±0,02	2,29 ±0,07	0,81 ±0,03	1,48 ±0,08
Model (2)	10	0,93 ±0,04	4,29 ±0,22	1,76 ±0,05	2,58 ±0,23
p (2,1)		< 0,01	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Atorvastatin (3)	10	0,85 ±0,04	3,33 ±0,18	1,58 ±0,09	1,75 ±0,18
p (3,2)		> 0,05	< 0,01	> 0,05	< 0,05
Lipidan 0,7g/kg (4)	10	0,93 ±0,03	3,20 ±0,20	1,66 ±0,04	1,62 ±0,18
p (4,2)		> 0,05	< 0,01	> 0,05	< 0,01
p (4,3)		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Lipidan 1,4g/kg (5)	10	0,95 ±0,03	3,58 ±0,17	1,62 ±0,06	1,97 ±0,17
p (5,2)		> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05
p (5,3)		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
p (5,4)		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Results from Table 3:18 shows:

- Atorvastatin 10 mg/kg clearly demonstrated effects of adjustments to RLLPM through significant reduction of TC, Non -

HDL – C indicators, TG decreased compared to model lot, no significant difference, $p > 0.05$.

- Lipidan both 2 doses 0,7g/kg and 1,4g /kg reduced the concentration of TC and Non - HDL - C, but did not reduce TG compared to model lot.

3.3. Advantages of Lipidan capsule in treatment of RLLPM syndrome in humans through clinical and subclinical indicators.

3.3.3. Effective treatment of Lipidan through CLS index

3.3.3.1. The change some blood lipid components after 42 days of treatment

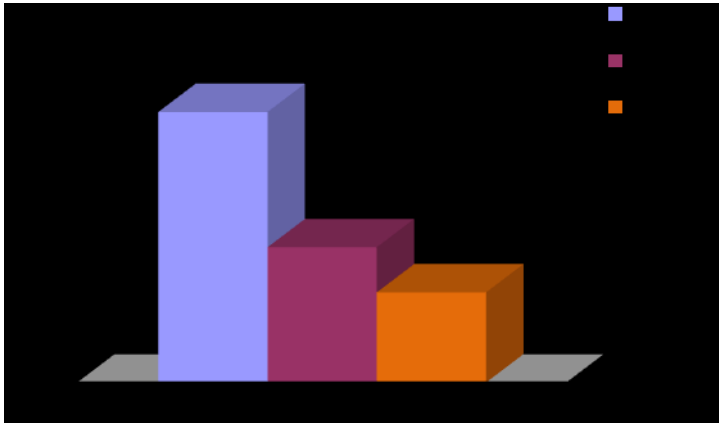


Chart 3.8. Reduction rate of cholesterol index

Chart 3.8 shows that the Lipidan with dose: 0,54g/1 capsule, dose 9 capsules/24 hours after 42 days of treatment significantly reduced blood cholesterol index than previous treatment with $p < 0.001$.

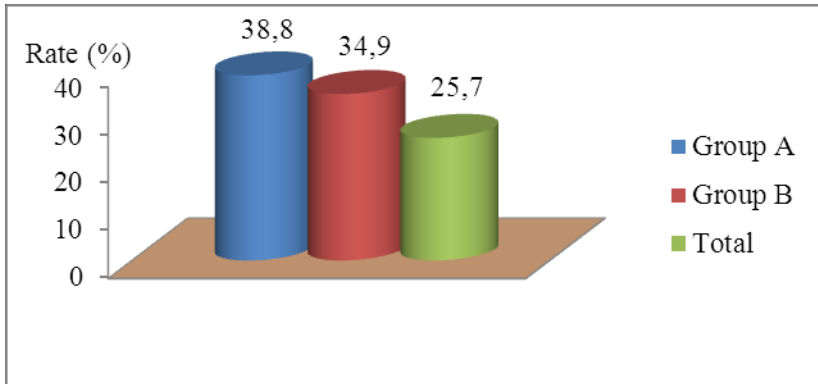


Chart 3.9. Reduction rate of triglyceride index

Chart 3.9 shows that the average blood triglycerid levels after 42 days of Lipidan use considerably decreased compared to the previous study, $p < 0.001$

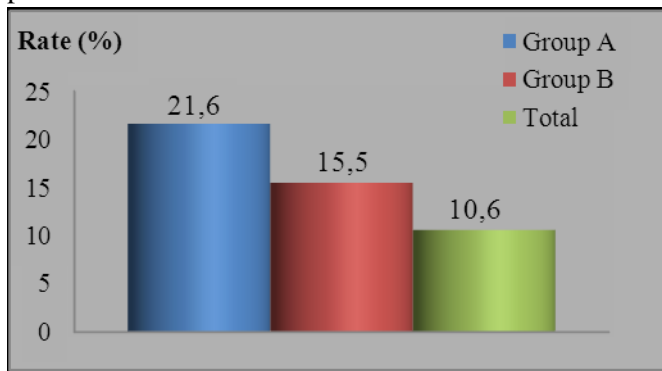


Chart 3.10. Reduction rate of HDL-C index

Chart 3:10 shows that of HDL - C average blood index of two groups after 42 days of treatment, was higher than before treatment, $p < 0.001$.

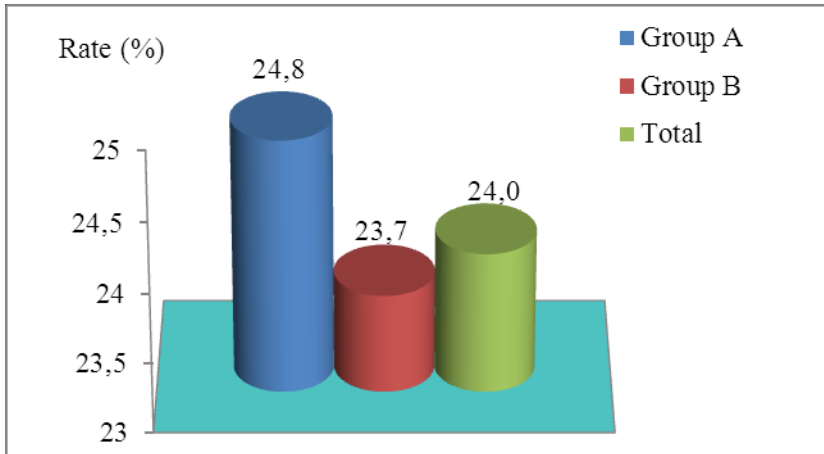


Chart 3.11. Reduction rate of LDL-C index

Chart 3.11 shows that only the LDL - C index of group A and group B after 42 days of treatment decreased considerably compared with before treatment, $p < 0.001$

3.3.3.2. Treatment results in accordance with proposed standards

Table 3:38. Effective treatment as modern medicine standard

Results \ Group	Group A		Group B		Total		p
	N	%	n	%	n	%	
Good	29	64,5	25	55,6	54	60,0	>0,05
Quite good	15	33,3	18	40,0	33	36,7	>0,05
Ineffective	1	2,2	2	4,4	3	3,3	>0,05
Bad	0	0,0	0	0,0	0,0	0,0	
p	>0,05						

Results Table 3:38 shows that the total number of patients with a good and quite good result accounted for 95.6%. Only 3 patients with ineffective treatment was about 3.3%.

Table 3:39. Effective treatment as traditional medicine standard

Results \ Group	Group A		Group B		Total		p
	N	%	n	%	n	%	
Good	24	53,3	22	48,9	46	51,1	>0,05
Quite good	20	44,5	21	46,7	41	45,6	>0,05
Ineffective	1	2,2	2	4,4	3	3,3	>0,05
Bad	0	0,0	0	0,0	0	0,0	
p	>0,05						

Results of table 3:39 shows that after 42 days of treatment, the proportion of patients achieved a good and quite good result accounted for 96.7%.

3.4. No undesirable effects were seen in clinical practice

CHAPTER 4 DISCUSSION

4.1. Acute toxicity LD50

4.1.1. Acute toxicity

Research shows that ascending Lipid dose for mice 17.3 g/kg/day to 43.2 g/kg/day (the largest dose was possible for white mice - 36.0 times higher doses and equivalent therapeutic doses in humans, in ratio of 12) the result was that no mice died and did not see any unusual signals in mice. These results demonstrate the low toxicity of Lipidan. From the above results show that the scope of Lipidan safety is very wide. This reflects that the combination of medicines in all five researches is very reasonable. Thus, capsules Lipidan have not seen toxicity and identified LD50.

4.1.2. Semi-chronic toxicity

Studies of chronic toxicity were carried out by taking medicine to mice everyday orally for a certain time. According to WHO, time for toxicity study to a kind of herbal medicines depends on the expected time to humans. It is estimated that Lipidan will be used for 6 weeks in humans, toxicity was assessed in rabbits with two doses: 0.3 g

dose/kg/day which had equivalent effects to people (in coefficient³) and a 5-fold higher dose (1.5 g/kg/day), drinking continuously for 6 weeks. Over the study period, it did not affect the development of the rabbit, no index of changes to haematology, blood biochemistry and macroscopic images, histopathology of liver, kidney rabbit were seen. This result shows Lipidan safety is quite high.

4.3. Advantages of Lipidan capsules in the treatment of dyslipidemia in humans through some clinical and subclinical indicators

4.3.2.2. Effective treatment of Lipidan in blood lipid components

Results of chart 3.8 shows that, the average total cholesterol index of patients before treatment with group A và group B 6.02 ± 0.84 (mmol/l). After 42 days of using the Lipidan capsules, the average cholesterol rate was of $0.50 \text{ mmol} \pm 4.68/1$, down to 22.13%. Cholesterol index before and after 42 days of different treatment was statistically significant with $p < 0.001$.

Blood triglycerides is an important indicator to probe the lipid balance of the body and contribute to reflect the risk of atherosclerosis. Results of chart 3.9 shows, only after 42 days of treatment, triglyceride index was (1.90 ± 0.39 mmol/l), decreased 25.7%. The difference was statistically significant compared with before treatment ($3,19 \pm 2,3$ mmol/l), $p < 0.001$.

Results of 3:10 chart shows average indicators of HDL-C HDL-C prior to treatment was 0.33 ± 1.04 (mmol/l) and after 42 days of treatment, HDL-C average indicator was 1.22 ± 0.24 . Thus, HDL-C average index increased compared to pre-treatment was 10.6%, the difference was statistically significant with $p < 0.001$.

The result chart shows the index 3.11 average LDL-C before the treatment is 4.0 ± 0.86 (mmol/l). After 42 days of medication, LDL-C was 3.04 ± 0.49 average, down 24.0% compared to before treatment and the difference was statistically significant with $p < 0.001$...

To explain for lowering cholesterol of Lipidan capsules, we noticed that Lipidan medicine includes Son tra, Tran bi, Ban ha, Bach lich, Moc huong nam, Hau phac, Ngu gia bi, Sinh khuong, Xa tien, In

particular, Son tra is the most popular herb used to treat lipid disorders and cholesterol rise and it has been found in over 50% of all traditional drugs. Many studies have shown that water from Son tra with dose 3,6g/day in 3 months have proved a decrease in cholesterol, triglycerides, and LDL-C for 45 volunteer patients with hyperlipidemia. Tran bi has reduced the amount of triglyceride, LDL-C and CT and experimental animals with high cholesterol diets have been used as a tea to drink for obesity. Ban ha with β - sitosterol - the main component is effective to reduce blood cholesterol, inhibit the absorption of cholesterol from the gut. According to a group of Korean authors (2006), extraction of water was from roots of Ban ha and helped to reduce weight. Water extraction to Hau phac nam will be useful to reduce triglycerides and cholesterol in the liver mice which were fed a high-fat diet for 6 weeks. Hau phac nam and other herbs was useful to decrease the weight of rats. Sinh khuong is a kind of herbal medicine but also a frequently-used spice. Products extracted from Sinh khuong have reduced triglycerides and cholesterol in rats fed with high fat diet after 6 weeks. In addition, this product also increases the sensitivity of cells to insulin. In a clinical experiment in Iran, after using water from Birth khuong daily for 10 weeks, obese patients have decreased body weight, triglyceride and cholesterol than those not used ginger water everyday. Xa tien increases diuretic, try increasing renal excretion of the components involving in the metabolism such as urea, uric acids, salt [100]. Combined with the above, there are Moc huong. Therefore, in our view, the effect of Also, the presence of Ngu gia bi is useful to treatment of rheumatism, girdle muscles, kidney which reduce blood lipid components as well as the clinical symptoms related to dyslipidemia of Lipidan capsules.

4.3.2.3. Advantages of Lipidan treatment in accordance with modern medicine và traditional medicine

Results of table 3:38, 3:39 shows the effectiveness of Lipidan capsule to modern medicine. 54 patients accounting for 60.0% achieved good therapeutic effect, 33 patients accounting for 36.7%

achieved quite good therapeutic effect. Thus, the total number of patients achieved good and quite good was 96.7%. Only 3 patients (3.3%) did not achieve the results and no patient with bad result. Our result was higher than Truong Viet Binh when using more Giao Co Lam but had equivalent result of Tang Thi Bich Thuy (2007) with 93.3% of patients treated effectively, including better efficiency 30% when using research HCT1 and Pham Thi Bach Yen author with 96.8% of patients achieved good and quite efficient when used pink mushroom GMT dose 4g/24h and 97% of patients use Ham chi mushroom, pink mushroom GMT dose 15g/24h.

Thus, basing on YHCT standard, both two groups had 87 patients who gained good and very good result accounting for 96.7%, not effective for 0.3%.

4.2.3.4. The effectiveness of the proposed standard Lipidan

- Group A good effect 53, 3%, enough 45,5%, inoperative 2,2%, ineffective bad.

- Group B good effect 48,7%, enough 46,7%, inoperative 4,4%, ineffective bad.

- General effect: good effect and enough 96,7%, inoperative 3,3%, ineffective bad.

4.3.3. No adverse effects were seen in patients

CONCLUSION

1. The acute toxicity, chronic toxicity sale of capsules Lipidan:

- Lipidan maximum dose tolerable is 43,2g/kg/24 hours (36.0 times more than the equivalent dose of the human therapeutic dose) did not show acute toxicity, should not calculate the LD50.

- Lipidan dose of 0,3g/kg/hour (equivalent effective dose in humans) and 5-fold higher dose (1.5g/kg/hour), continuous drinking for 6 weeks did not see a change in status Overall, about the division of liver biochemistry, kidney and hematopoietic function unit.

2. Effect of Lipidan on up model experimental dyslipidemia.

- Lipidan dose of 6,0g/kg and 12.0/kg orally for 7 days had significantly reduced the effect of TC (14.1% and 25.6%) and lower non - HDL (27.9% and 28, 4%); dose of 12,0g/kg also significantly reduced TG (26.8%) compared with batch model.

- Lipidan dose of 0,7g/kg and 1,4g/kg drink in 2 weeks have significantly reduced the effect of TC (3.1% and 25.3%) and non - HDL (42.5% and 35.9%). After 4 weeks of dose Lipidan 0,7g/kg reduces TC 31.2% and non - HDL 46.4%; TC 1,4g dose reduced 23.0% and non - HDL by 31.8% compared to batch model.

3. The effect of adjusting blood lipid capsules Lipidan on people:

Lipidan dose of 4,86g/24 hours continuously for 42 days showed the following results:

- Lipidan reduced: cholestrerol 22.13%, triglycerides by 25.7%, 24.0% and LDL-C HDL-C increased 10.6% difference was statistically significant at $p < 0.05$.

- According to standard modern medicine: good results and 96.7% fairly.

- According to traditional criteria: low phlegm can damage the spleen and kidney yang and spleen damage the good results was 96.7% and fairly.

- Lipidan not affect the function of the liver biochemistry department, and on the division of kidney and hematopoietic. There were no adverse effects on clinically.

RECOMMENDATIONS

Research presented in the thesis part is just the beginning of research on the therapeutic effect of Lipidan. To assert is effective in reducing blood lipid components of the treatment Lipidan capsules, should have follow-up study. Therefore, subject to the study confirms.

- Mechanism of action of drugs in reducing blood lipid Lipidan

- Further research on the effects of drugs in the treatment Lipidan dyslipidemia with larger sample sizes and longer study period.

- Complete the process of the Ministry of Health to produce Lipidan widely circulated in the community.