JOURNAL OF 108 - CLINICAL MEDICINE AND PHARMACY The Scientific Conference on Nuclear Medicine Update, 2023
DOI: https://doi.org/10.52389/ydls.v18iYHHN.1938

Nghiên cứu độc tính đơn liều của hạt nano phóng xạ Fe_3O_4@Lapatinib - ^{153}Sm trên động vật thí nghiệm

Studies of single-dose toxicity of radiolabeled nanoparticle Fe_3O_4@Lapatinib - ^{153}Sm in animals

Nguyễn Thị Kim Dung*, Phạm Thành Minh*,**
Phạm Đăng Tùng, Hán Tuấn Ngọc*,**
Mai Hồng Sơn*, Nguyễn Quốc Thắng**

**Bệnh viện Trung ương Quân đội 108,*
***Bệnh viện ĐKQT Vinmec Times city,*
****Viện Nghiên cứu hạt nhân*

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá độc tính đơn liều của hạt nano đánh dấu phóng xạ Fe_3O_4@Lapatinib - ^{153}Sm được sản xuất tại Viện nghiên cứu hạt nhân Đà Lạt trên đối tượng chuột nhắt trắng. *Đối tượng và phương pháp*: Chuột nhắt trắng chủng Swiss được tiêm liều hạt nano phóng xạ Fe_3O_4@Lapatinib - ^{153}Sm lên tới 100 lần liều quy đổi trên người theo phương pháp thử độc tính đơn liều của Cơ quan quản lý Dược phẩm Châu Âu (EMA) và OECD. *Kết quả*: Kết quả thử độc tính đơn liều trên chuột nhắt trắng tại mức liều gấp 20 lần liều sử dụng trên người, tại thời điểm 24 giờ sau tiêm ghi nhận sự ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê ở các chỉ số sinh hóa, huyết học, mô bệnh học ở phổi, gan và thận giữa lô chuột thử và lô chuột chứng. Tại thời điểm 14 ngày sau tiêm, ghi nhận sự hồi phục về mặt chức năng của lô chuột thử được tiêm hạt nano phóng xạ. *Kết luận:* Sản phẩm nano phóng xạ Fe_3O_4@Lapatinib - ^{153}Sm có gây ra ảnh hưởng đến các cơ quan và chuyển hóa sinh lý của chuột tại thời điểm 24 giờ sau tiêm, tuy nhiên, ghi nhận sự phục hồi chức năng về mức bình thường trên chuột sau 14 ngày. Sản phẩm này cần được nghiên cứu cải thiện các đặc tính lý hóa để đảm bảo tính chất dược học phù hợp để tiến hành các pha lâm sàng sâu hơn.

Từ khóa: Hạt nano đánh dấu phóng xạ, Sm-153, độc tính đơn liều.

Summary

Objective: The study was conducted to evaluate single-dose toxicity of radiolabeled nanoparticles Fe_3O_4@Lapatinib - ^{153}Sm produced at DaLat Nuclear Research Institute on Swiss mice. *Subject and method*: Radiolabeled nanoparticles Fe_3O_4@Lapatinib - ^{153}Sm was injected to Swiss mice were injected the doses up to 100 times higher than the equivalent human dose according to the European Medicines Agency (EMA) guidelines for single-dose toxicity testing method for microdoses of active ingredients and OECD guidelines for acute toxicity studies. *Result*: The results of single-dose toxicity in Swiss mice at a dose of 20 times higher than the human dose at 24 hours after injection showed a statistically significant difference between the test group and the control group in term of biochemical, hematological and histopathological parameter. The functional recovery in the testing animals injected with radioactive nanoparticles was observed 14 days post-injection. *Conclusion:* The radiolabeled nanoparticles Fe_3O_4@Lapatinib - ^{153}Sm has caused toxicity to organ and physiological metabolism of

Ngày nhận bài: 25/8/2023, ngày chấp nhận đăng: 14/9/2023
Người phản hồi: Nguyễn Quốc Thắng, Email: thangnguyenquoc1003@gmail.com - Bệnh viện ĐKQT Vinmec Times city

DOI: https://doi.org/10.52389/ydls.v18iYHHN.1938

mice at 24 hours post-injection, however, functional recovery to normal levels was observed after 14 days. The product needs to be further studied to improve its physiochemical properties for preclinical research in the furture.

Keywords: Radiolabeled nanoparticles, Sm-153, single-dose toxicity.

1. Đặt vấn đề

Ung thư vú là bệnh lý ác tính thường gặp hàng đầu ở nữ giới chiếm hơn 1/10 số ca ung thư mắc phải tại Việt Nam theo số liệu GLOBALCAN 2020 [1]. Các thuốc điều trị đích trên bệnh nhân ung thư vú hiện nay như bevacizumab, trastuzumab, hay lapatinib đã mang lại nhiều hiệu quả điều trị cho bệnh nhân bên cạnh các phương pháp điều trị cổ điển như hóa trị hay xạ trị [2]. Sử dụng các hạt nano như là một phương tiện dẫn thuốc cũng như kích thích miễn dịch tiêu diệt khối u đang là một hướng nghiên cứu nhiều tiềm năng trên thế giới [3], [4]. Việc kết hợp thuốc đích với hệ dẫn thuốc hạt nano, phối hợp cùng với hạt nhân phóng xạ điều trị phát tia β hứa hẹn càng làm tăng mạnh hiệu quả điều trị trên khối u.

Tuy nhiên, do sự phức tạp trong cấu trúc của sản phẩm nano cùng với yếu tố phát xạ đi kèm, nên việc đánh giá các đặc tính dược học của sản phẩm là rất cần thiết. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá độc tính đơn liều của sản phẩm hạt nano đánh dấu phóng xạ Fe_3O_4@Lapatinib - ^{153}Sm được sản xuất từ Viện nghiên cứu hạt nhân Đà Lạt nhằm đánh giá ảnh hưởng của sản phẩm trên đối tượng động vật là chuột thí nghiệm với mức liều dự kiến gấp 100 lần liều điều trị của ^{153}Sm trên người, liều điều trị của sản phẩm ^{153}Sm (Quadramed®) là 1mCi/1kg cân nặng [5].

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Nguyên liệu

Sản phẩm hạt nano đánh dấu phóng xạ Fe_3O_4@Lapatinib - ^{153}Sm được sản xuất tại Trung tâm Nghiên cứu và điều chế đồng vị phóng xạ, Viện Nghiên cứu hạt nhân Đà Lạt với các chỉ tiêu hóa - lý, độ tinh khiết phóng xạ, độ tính khiết hóa xạ, độ vô khuẩn và nội độc tố theo tiêu chuẩn cơ sở. Thành phần sản phẩm gồm ^{153}Sm với hoạt độ 10mCi/mL, lapatinib nồng độ 7,94mg/mL. Động vật thí nghiệm là chuột nhắt trắng cả hai giống, chủng Swiss, trưởng thành, cân nặng từ 18-20g do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Động vật được nuôi ổn định trong điều kiện phòng thí nghiệm 5 ngày trước khi tiến hành nghiên cứu, được cho ăn bằng thức ăn tiêu chuẩn do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp, uống nước tự do, chu kỳ sáng tối 12 giờ.

2.2. Phương pháp

Thử nghiệm được tiến hành dựa trên phương pháp thử độc tính đơn liều dành cho các hoạt chất dùng liều rất nhỏ (micro-dosing) theo hướng dẫn của EMA (Cơ quan quản lý Dược phẩm châu Âu) [6] và các nguyên tắc chung trong nghiên cứu độc tính theo hướng dẫn của OECD [7].

Thiết kế thí nghiệm: Chuột nhắt trắng mỗi giống (đực hoặc cái) được chia ngẫu nhiên thành 2 lô, mỗi lô 16 động vật; lô chứng được tiêm tĩnh mạch đuôi với dung dịch nước muối sinh lý 0,1ml/10g chuột; Lô thử nghiệm được tiêm tĩnh mạch đuôi hạt nano đánh dấu phóng xạ Fe_3O_4@Lapatinib - ^{153}Sm với liều dự kiến 100mCi/kg cân nặng. Chuột được nhịn ăn 3 giờ trước khi thí nghiệm, nước uống theo nhu cầu. Mỗi chuột được kiểm tra cân nặng trước khi thử nghiệm. Sau khi được tiêm sản phẩm và nước muối sinh lý, chuột được cho ăn trở lại và được theo dõi tình trạng chung trong 14 ngày. Tại thời điểm 24 giờ sau khi tiêm chất thử, 10 động vật/lô/giống được chọn ngẫu nhiên để lấy máu làm các xét nghiệm thông số sinh hóa (men gan - AST, ALT; chức năng gan - cholesterol toàn phần, protein toàn phần; chức năng thận - creatinin và glucose máu) và thông số huyết học (số lượng bạch cầu - WBC, số lượng hồng cầu - RBC, nồng độ hemoglobin - HGB, tỷ lệ hematocrit - HCT, thể tích trung bình hồng cầu - MCV và số lượng tiểu cầu - PLT), cân khối lượng các cơ quan (tim, não, phổi, dạ dày, gan, lách, thận, ruột, tinh hoàn và buồng trứng), lấy ngẫu nhiên 3 chuột trong mỗi lô

DOI: https://doi.org/10.52389/ydls.v18iYHHN.1938

mổ để quan sát đại thể các cơ quan và làm tiêu bản vi thể gan, thận và phổi. Các động vật còn lại mỗi lô được nuôi thêm 2 tuần để theo dõi sự hồi phục của các cơ quan, chức năng sau thời gian ngừng dùng thuốc. Quy trình tương tự cũng được áp dụng với các động vật còn lại của mỗi lô (6 động vật/lô/giống) vào ngày thứ 14 của thử nghiệm. Thí nghiệm được thực hiện tại các labo của Trường Đại học Y Hà Nội, Khoa Y học hạt nhân, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được lưu trữ và phân tích thống kê bằng phần mềm Microsoft Excel 365 và Minitab Statistical Software 16.0. Kết quả được biểu diễn dưới dạng M ± SD (M: Giá trị trung bình từng lô, SD: độ lệch chuẩn). So sánh giá trị trung bình giữa lô dùng mẫu thử với lô chứng bằng t-test Student. Sự khác biệt giữa các lô được coi là có ý nghĩa thống kê khi $p<0,05$.

3. Kết quả

3.1. Ảnh hưởng của chế phẩm đến tỷ lệ sống chết của chuột nhắt trắng

Khi tiêm với liều dự kiến 100mCi/kg, 100% chuột thử nghiệm tử vong. Tiến hành pha loãng mẫu để tìm liều thử nghiệm độc tính. Chuột được chia thành 6 nhóm (n = 32, 16 chuột mỗi giống), tương ứng với 5 mức liều tiêm của chế phẩm là 100mCi/kg, 80mCi/kg, 40mCi/kg, 30mCi/kg, 20mCi/kg và lô chứng được tiêm nước muối sinh lý 0,9%. Chuột được tiêm chế phẩm theo đường tĩnh mạch đuôi và quan sát tình trạng trong ít nhất 24 giờ. Kết quả được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Tỷ lệ và số lượng chuột chết sau khi tiêm chế phẩm ở các mức liều khác nhau

Lô	Giới tính	Liều dùng (mCi/kg)	Tổng số	Số chuột chết sau 24 giờ	Tỷ lệ tử vong (%)
Thử	Đực	100	16	16	100
		80	16	16	100
		40	16	11	68,75
		30	16	6	37,5
		20	16	0	0
	Cái	100	16	16	100
		80	16	16	100
		40	16	14	87,5
		30	16	9	56,25
		20	16	0	0
Chứng	Đực và cái	-	32	0	0

Kết quả cho thấy, tại thời điểm thử nghiệm, mức liều thấp nhất gây chết toàn bộ chuột là 80mCi/kg cân nặng và mức liều cao nhất không gây chết chuột là 20mCi/kg cân nặng. Mức liều này được lựa chọn để tiến hành thử nghiệm độc tính đơn liều trên chuột nhắt trắng.

3.2. Ảnh hưởng của chế phẩm đến tình trạng toàn thân của chuột nhắt trắng

Trong suốt thời gian nghiên cứu với liều 20mCi/kg cân nặng, chuột ở các lô đều ăn uống, hoạt động bình thường, phản xạ nhanh, mắt sáng, không tiết chất nhày mũi, miệng, lông mượt, đuôi không hoại tử, phân khô, nước tiểu không có biểu hiện bất thường. Các biểu hiện

DOI: https://doi.org/10.52389/ydls.v18iYHHN.1938

hô hấp và tuần hoàn bình thường. Kết quả khối lượng cân được của chuột nhắt lô chứng tiêm nước muối sinh lý (0,9%) và lô thử tiêm liều 20mCi/kg chế phẩm Fe3O4@lapatinib - ^{153}Sm được trình bày ở Bảng 2 và 3.

Bảng 1. Khối lượng chuột nhắt ở các lô tại thời điểm 24 giờ sau khi tiêm

Lô	Nhóm (n = 10)	Khối lượng trước tiêm (g)	Khối lượng sau tiêm 24 giờ (g)
Đực	Nhóm chứng	20,79 ± 0,54	21,15 ± 0,52
	Nhóm thử	20,92 ± 0,49	21,43 ± 0,92
Cái	Nhóm chứng	21,64 ± 0,38	22,91 ± 0,63
	Nhóm thử	21,42 ± 0,30	22,09 ± 0,37

*(Số liệu biểu diễn dưới dạng M ± SE; *p<0,05 khi so sánh lô thử với lô chứng cùng giống).*

Bảng 2. Khối lượng chuột nhắt ở các lô tại thời điểm 14 ngày sau khi tiêm

Lô	Nhóm (n = 6)	Khối lượng trước tiêm (g)	Khối lượng sau tiêm 14 ngày (g)
Đực	Nhóm chứng	19,30 ± 0,39	33,47 ± 1,50
	Nhóm thử	18,53 ± 1,20	26,73 ± 3,70
Cái	Nhóm chứng	20,33 ± 0,98	33,47 ± 1,50
	Nhóm thử	22,30 ± 0,95	26,27 ± 2,10

(Số liệu biểu diễn dưới dạng M ± SE; *p<0,05 khi so sánh lô thử với lô chứng cùng giống)

Kết quả (Bảng 2) cho thấy cân nặng chuột nhắt ở mỗi lô mỗi giống (cái và đực) không thay đổi so với trước khi tiêm chế phẩm, cũng như không có sự khác biệt về cân nặng chuột giữa lô tiêm Fe_3O_4@lapatinib – ^{153}Sm liều 20mCi/kg với lô tiêm chứng tiêm nước muối sinh lý ở cả 2 thời điểm ở mỗi lô (p>0,05). Kết quả sau khi tiêm chế phẩm và theo dõi 14 ngày (Bảng 3), cân nặng chuột nhắt mỗi giống ở cả lô chứng và lô thử đều tăng lên rõ, tuy nhiên không có sự khác biệt về mặt thống kê cân nặng chuột giữa 2 lô mỗi giống tại mỗi thời điểm nghiên cứu (p>0,05).

3.3. Ảnh hưởng của chế phẩm đến các thông số huyết học của chuột nhắt trắng

Ảnh hưởng của chế phẩm Fe_3O_4@lapatinib - ^{153}Sm liều 20mCi/kg trên chức năng tạo máu của chuột nhắt trắng được trình bày ở Bảng 4 và 5.

Bảng 3. Các thông số huyết học của chuột nhắt trắng sau 24 giờ tiêm

Chỉ tiêu	Giống cái (n = 10 mỗi lô)		Giống đực (n = 10 mỗi lô)	
	Lô thử	Lô chứng	Lô thử	Lô chứng
WBC (10^9/L)	1,77 ± 0,27*	5,31 ± 0,59	2,26 ± 0,27*	4,55 ± 0,65
RBC (10^{12}/L)	8,89 ± 0,22*	8,14 ± 0,17	8,46 ± 0,16*	7,60 ± 0,40
HGB (g/dL)	14,14 ± 0,48	13,52 ± 0,33	13,28 ± 0,34	12,53 ± 0,75
HCT (%)	46,24 ± 1,40	45,64 ± 0,72	43,64 ± 1,10	42,38 ± 2,40
MCV (fL)	52,00 ± 0,59*	55,13 ± 0,57	51,63 ± 0,72*	55,87 ± 0,94
PLT (10^9/L)	217 ± 28*	1057 ± 67	213 ± 34*	1082 ± 103

DOI: https://doi.org/10.52389/ydls.v18iYHHN.1938

Bảng 4. Các thông số huyết học của chuột nhắt trắng sau 14 ngày tiêm

Chỉ tiêu	Giống cái (n = 6 mỗi lô)		Giống đực (n = 6 mỗi lô)	
	Lô thử	Lô chứng	Lô thử	Lô chứng
WBC (10^9/L)	3,92 ± 0,75	5,69 ± 0,70	3,08 ± 0,39*	5,21 ± 0,57
RBC (10^{12}/L)	9,56 ± 0,35	8,79 ± 0,38	8,64 ± 0,28	8,78 ± 0,22
HGB (g/dL)	13,97 ± 0,50	12,89 ± 0,93	13,28 ± 0,54	12,55 ± 0,64
HCT (%)	48,35 ± 1,90	47,51 ± 2,60	45,90 ± 1,5	47,38 ± 1,6
MCV (fL)	50,57 ± 0,50	52,49 ± 1,50	53,20 ± 0,88	51,42 ± 1,50
PLT (10^9/L)	638 ± 120*	970 ± 55	644 ± 157*	1180 ± 99

(Số liệu biểu diễn dưới dạng M ± SE; *p<0,05 khi so sánh lô thử với lô chứng cùng giống)

Kết quả cho thấy, tại thời điểm sau tiêm mẫu thử 24 giờ (Bảng 4), không có sự khác biệt của các chỉ tiêu nồng độ hemoglobin (HGB), tỷ lệ hematocrit (HCT) giữa lô thử và lô chứng (p>0,05). Tuy nhiên, các chỉ số bao gồm số lượng bạch cầu (WBC), thể tích trung bình hồng cầu (MCV) và số lượng tiểu cầu (PLT) trên cả chuột đực và chuột cái được tiêm chế phẩm đều thấp hơn rõ rệt so với lô chứng được tiêm nước muối sinh lý (p<0,05). Riêng số lượng hồng cầu (RBC) ở lô thử lại cao hơn rõ rệt so với lô chứng (p<0,05) ở cả hai giống đực và cái. Tại thời điểm sau tiêm mẫu thử 14 ngày, không có sự khác biệt về mặt thống kê của các thông số huyết học giữa lô tiêm chế phẩm thử và lô chứng (p>0,05) ở cả hai giống, bao gồm: số lượng bạch cầu (WBC), số lượng hồng cầu (RBC), nồng độ hemoglobin (HGB), tỷ lệ hematocrit (HCT) và thể tích trung bình hồng cầu (MCV). Tuy nhiên, số lượng tiểu cầu (PLT) ở chuột đực và chuột cái lô thử vẫn thấp hơn đáng kể so với lô chứng (p<0,05).

3.4. Ảnh hưởng của chế phẩm Fe_3O_4@lapatinib- ^{153}Sm đến các thông số sinh hóa của chuột nhắt trắng

Ảnh hưởng của chế phẩm Fe_3O_4@lapatinib – ^{153}Sm lên các thông số sinh hóa của chuột được trình bày ở Bảng 6 và Bảng 7.

Bảng 5. Các thông số sinh hóa của chuột nhắt trắng sau 24 giờ tiêm

Chỉ tiêu	Giống cái (n = 10 mỗi lô)		Giống đực (n = 10 mỗi lô)	
	Lô thử	Lô chứng	Lô thử	Lô chứng
Glucose (mmol/L)	1,050 ± 0,28*	6,44 ± 0,34	2,08 ± 0,32*	7,14 ± 0,36
Creatinin (µmol /L)	13,01 ± 2,10*	29,81 ± 1,80	16,31 ± 2,70*	29,35 ± 1,30
Protein TP (g/L)	61,97 ± 2,00*	47,20 ± 0,64	75,0 ± 8,10*	47,46 ± 0,97
Cholesterol TP (mmol/L)	15,0 ± 5,20*	2,97 ± 0,41	12,27 ± 2,50*	2,836 ± 0,27
AST (SGOT) (U/L)	351 ± 32*	124,60 ± 13	303 ± 21*	122,30 ± 9,20
ALT (SGPT) (U/L)	88,3 ± 8,90*	50,92 ± 2,80	88,3 ± 9,20*	52,94 ± 2,30

DOI: https://doi.org/10.52389/ydls.v18iYHHN.1938

Bảng 6. Các thông số sinh hóa của chuột nhắt trắng sau 14 ngày tiêm

Chỉ tiêu	Giống cái (n = 6 mỗi lô)		Giống đực (n = 6 mỗi lô)	
	Lô thử	Lô chứng	Lô thử	Lô chứng
Glucose (mmol/L)	5,33 ± 0,90	6,53 ± 0,44	5,40 ± 1,40	8,12 ± 0,68
Creatinin (µmol /L)	26,83 ± 3,20	33,82 ± 1,70	35,42 ± 2,40	29,80 ± 2,50
Protein TP (g/L)	55,68 ± 0,43	52,76 ± 1,40	58,22 ± 3,00	51,95 ± 1,60
Cholesterol TP (mmol/L)	2,97 ± 0,32	3,05 ± 0,18	4,26 ± 0,94	3,49 ± 0,32
AST (SGOT) (U/L)	185,3 ± 15	151,2 ± 17	226 ± 36	142 ± 24
ALT (SGPT) (U/L)	71,3 ± 8,8	66,9 ± 5,9	68,1 ± 11	63,9 ± 5,1

(Số liệu biểu diễn dưới dạng M ± SE; *p<0,05 khi so sánh lô thử với lô chứng cùng giống).

Kết quả sau khi tiêm chế phẩm thử Fe_3O_4@lapatinib – ^{153}Sm sau 24 giờ (Bảng 6), các thông số sinh hóa bao gồm glucose máu và creatinin máu của lô thử thấp hơn rõ rệt (p<0,05) so với lô chứng ở cả giống đực và giống cái, Trong khi đó, các thông số còn lại bao gồm protein máu, cholesterol máu, men gan AST (SGOT) và ALT (SGPT) của lô thử lại cao hơn đáng kể (p<0,05) so với lô chứng, Kết quả tại thời điểm 14 ngày sau khi tiêm thuốc (Bảng 7), các thông số sinh hóa không có sự khác biệt giữa các lô tiêm chế phẩm Fe_3O_4@lapatinib – ^{153}Sm liều 20mCi/kg so với lô chứng tiêm nước muối sinh lý (p>0,05) ở mỗi giống.

3.5. Thay đổi về mô bệnh học trên chuột nhắt trắng

Ảnh hưởng của chế phẩm Fe_3O_4@lapatinib - ^{153}Sm liều 20mCi/kg lên sự thay đổi tỷ lệ khối lượng các cơ quan so với khối lượng cơ thể được trình bày ở Bảng 8 và 9.

Bảng 7. Tỷ lệ khối lượng cơ quan so với khối lượng cơ thể của chuột tiêm sau 24 giờ

Tỷ lệ khối lượng cơ quan so với khối lượng cơ thể (%)	Giống cái		Giống đực	
	Lô thử (n = 10)	Lô chứng (n = 10)	Lô thử (n = 10)	Lô chứng (n = 10)
Tim	0,51 ± 0,011	0,53 ± 0,013	0,54 ± 0,02	0,59 ± 0,04
Não	1,66 ± 0,067	1,59 ± 0,033	1,63 ± 0,06	1,71 ± 0,04
Gan	5,06 ± 0,19*	4,00 ± 0,81	5,19 ± 0,18	4,50 ± 0,28
Thận	1,05 ± 0,033	1,15 ± 0,053	1,10 ± 0,03	1,15 ± 0,05
Phổi	0,98 ± 0,052*	0,81 ± 0,051	0,99 ± 0,08*	0,71 ± 0,04
Lách	0,30 ± 0,022	0,30 ± 0,038	0,37 ± 0,029	0,34 ± 0,013
Ruột	14,68 ± 0,40	14,97 ± 0,56	14,31 ± 0,54	14,47 ± 0,43
Dạ dày	1,93 ± 0,25	2,35 ± 0,20	1,71 ± 0,14	1,52 ± 0,17
Tử cung	0,096 ± 0,011	0,98 ± 0,012		
Tinh hoàn			0,63 ± 0,028*	0,51 ± 0,036

DOI: https://doi.org/10.52389/ydls.v18iYHHN.1938

Bảng 8. Tỷ lệ khối lượng cơ quan so với khối lượng cơ thể chuột tiêm sau 14 ngày

Tỷ lệ khối lượng cơ quan so với khối lượng cơ thể (%)	Giống cái		Giống đực	
	Lô thử (n = 6)	Lô chứng (n = 6)	Lô thử (n = 6)	Lô chứng (n= 6)
Tim	0,50 ± 0,028	0,50 ± 0,022	0,50 ± 0,013	0,47 ± 0,017
Não	1,42 ± 0,09	1,15 ± 0,10	1,39 ± 0,13	1,19 ± 0,05
Gan	4,73 ± 0,20	4,73 ± 0,22	5,00 ± 0,16	5,41 ± 0,29
Thận	1,01 ± 0,024	0,98 ± 0,046	1,30 ± 0,07	1,16 ± 0,06
Phổi	1,41 ± 0,28*	0,67 ± 0,02	1,33 ± 0,25*	0,65 ± 0,015
Lách	0,40 ± 0,079	0,51 ± 0,037	0,48 ± 0,051	0,48 ± 0,039
Ruột	3,44 ± 0,47	11,91 ± 0,54	11,93 ± 0,65	14,05 ± 0,83
Dạ dày	2,16 ± 0,25	1,37 ± 0,13	1,58 ± 0,18	1,22 ± 0,05
Tử cung	0,10 ± 0,01	0,08 ± 0,008		
Tinh hoàn			0,77 ± 0,10	0,53 ± 0,03

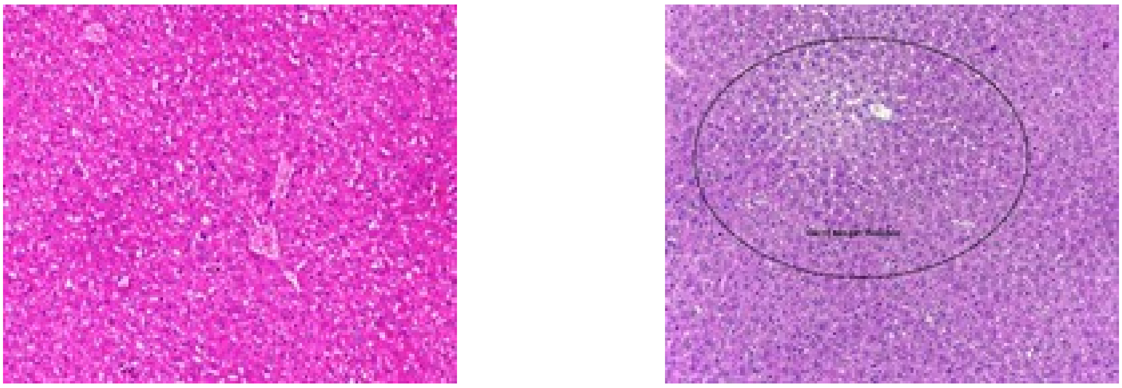
(Số liệu biểu diễn dưới dạng M ± SE; *p<0,05 khi so sánh lô thử với lô chứng cùng giống)

Kết quả (Bảng 8) cho thấy, ở giống chuột cái, tại thời điểm 24 giờ sau khi tiêm chế phẩm thử, tỷ lệ khối lượng của các cơ quan so với với khối lượng cơ thể của phần lớn các mẫu bao gồm tim, não, thận, lách, ruột, dạ dày, tử cung ở lô thử và lô chứng nhìn chung không có sự khác biệt về mặt thống kê (p>0,05), riêng tỷ lệ khối lượng của mẫu gan và phổi là cao hơn đáng kể so với lô chứng (p<0,05). Ở giống chuột đực, ngoại trừ tỷ lệ khối lượng mẫu phổi và mẫu tinh hoàn của lô thử cao hơn đáng kể về mặt thống kê so với với lô chứng (p<0,05). Các mẫu cơ quan còn lại không có sự khác biệt về mặt thống kê giữa hai lô (p<0,05). Tại thời điểm 14 ngày sau khi tiêm thuốc, trên cả chuột đực và chuột cái, duy nhất tỷ lệ khối lượng phổi của lô thử là cao hơn rõ rệt so với lô chứng (p<0,05), tỷ lệ các cơ quan còn lại gồm tim, não, gan, lách, thận, ruột, dạ dày, tử cung (giống cái), và tinh hoàn (giống đực) giữa lô thử và lô chứng nhìn chung không có sự khác biệt (p>0,05).

Hình ảnh vi thể tại thời điểm 24 giờ sau khi tiêm (Hình 1) cho thấy mẫu gan chuột lô thử có hiện tượng viêm trong tiểu thùy, viêm ngoài khoang cửa và thoái hóa từ mức độ nhẹ cho tới trung bình. Thời điểm 14 ngày sau tiêm, các mẫu gan vẫn còn hiện tượng viêm nhẹ hoặc viêm mạn tính, trong khi đó, các mẫu gan của lô chứng không ghi nhận tổn thương đáng kể nào. Các mẫu vi thể thận của lô chuột thử cũng có hiện tượng thoái hóa ống lượn xa và ống lượn gần (Hình 2) tại thời điểm 24 giờ sau tiêm. Tuy nhiên, đến thời điểm 14 ngày, không ghi nhận tổn thương vi thể trên các mẫu thận của cả hai lô. Hình ảnh vi thể phổi của các lô thử sau tiêm 24 giờ đều cho thấy hiện tượng sung huyết hoặc viêm (Hình 3). Hình ảnh viêm mạn tính vẫn quan sát thấy ở các mẫu phổi lô chứng tại thời điểm 14 ngày sau tiêm. Không ghi nhận bất thường ở các mẫu phổi của lô chuột thử tiêm nước muối sinh lý.

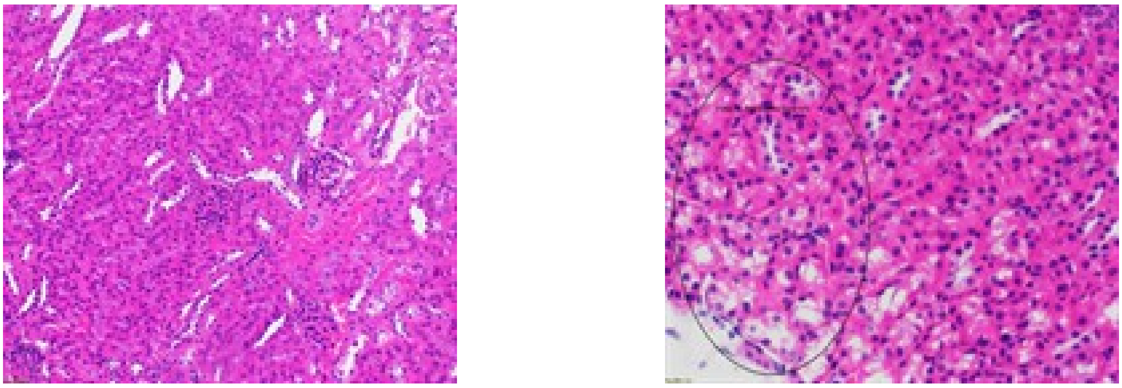
DOI: https://doi.org/10.52389/ydls.v18iYHHN.1938

Lô chứng Lô thử



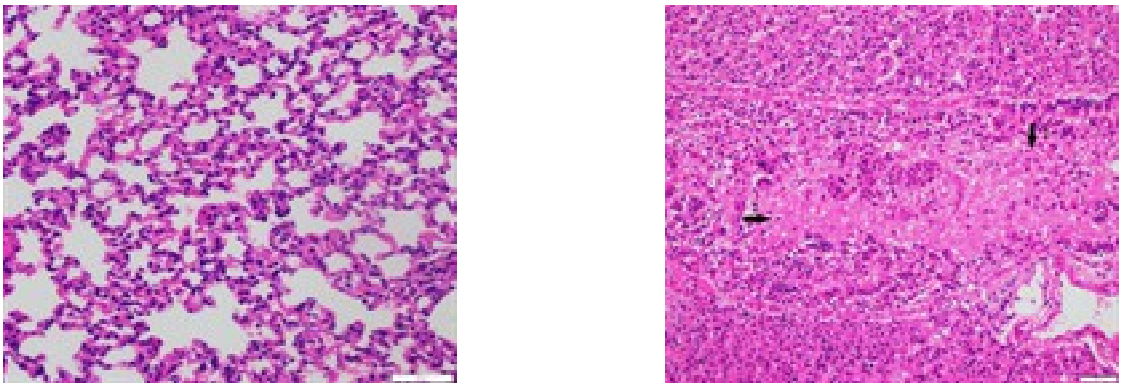
Hình 1. Hình ảnh mô bệnh học gan của lô chuột chứng và thử tại thời điểm 24 giờ sau tiêm (nhuộm HE x 200).

Lô chứng Lô thử



Hình 2. Hình ảnh mô bệnh học thận của lô chuột chứng và thử tại thời điểm 24 giờ sau tiêm (nhuộm HE x 200).

Lô chứng Lô thử



Hình 3. Hình ảnh mô bệnh học phổi của lô chuột chứng và thử tại thời điểm 24 giờ sau tiêm (nhuộm HE x 200).

DOI: https://doi.org/10.52389/ydls.v18iYHHN.1938

4. Bàn luận

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tập trung đánh giá độc tính theo chỉ tiêu hoạt độ phóng xạ, hàm lượng lapatinib pha chế được thử nghiệm dưới mức liều gây độc trên động vật (mức liều tối đa trong các thử nghiệm của riêng lapatinib lên đến 2000mg/kg cân nặng) [8]. Tại mức liều dự kiến thử nghiệm ban đầu là 100 lần liều ^{153}Sm trên người tương đương 100mCi/kg cân nặng, toàn bộ số chuột thử nghiệm bị chết, nguyên nhân có thể do số lượng hạt nano trong dung dịch chế phẩm thử quá nhiều dẫn đến tắc mạch gây tử vong, Khi pha loãng chế phẩm xuống các nồng độ thấp hơn, nhận thấy liều thấp nhất gây chết toàn bộ chuột là 80mCi/kg cân nặng (tương ứng 1,6mCi/20g chuột) và mức liều cao nhất không gây chết chuột là 20mCi/kg cân nặng (tương ứng 0,4mCi/20g chuột). Với chỉ tiêu cân nặng, ở mức liều 20mCi/kg, không ghi nhận sự khác biệt về mặt thống kê giữa khối lượng của hai lô chứng và lô thử tại cùng thời điểm, tuy nhiên, trong khi chuột ở lô chứng tăng rõ rệt về trọng lượng sau 14 ngày thì chuột lô thử khối lượng sau 14 ngày gần như không thay đổi so với ban đầu (p<0,05), chứng tỏ rằng có sự ảnh hưởng của chế phẩm đến sự tăng cân bình thường của chuột. Điều này có thể do số lượng chuột thử nghiệm tại thời điểm 14 ngày không đủ nhiều cho thống kê (n = 6).

Các chỉ số huyết học bao gồm WBC, MCV, PLT giảm mạnh ở cả hai giống lô thử khi xét nghiệm so sánh với lô chứng (p<0,05). Kết quả này cho thấy các cơ quan tạo máu của chuột có bị ảnh hưởng bởi sản phẩm Fe_3O_4@lapatinib - ^{153}Sm. Các chỉ số sinh hóa cũng ghi nhận sự khác biệt lớn giữa hai lô chuột ở cả hai giống, chỉ số glucose giảm rõ rệt trong khi các chỉ số creatinin, protein, cholesterol và men gan tăng mạnh, biểu hiện sự rối loạn về mặt chuyển hóa trên các cơ quan của chuột thí nghiệm. Quan sát này cũng phù hợp với hình ảnh đại thể và vi thể ghi nhận được, các mẫu gan, thận và phổi của lô chuột tiêm chế phẩm phóng xạ bị phì đại, sung huyết và viêm từ nhẹ đến trung bình (như mô tả ở các hình ảnh giải phẫu). Các độc tính này có thể do ảnh hưởng từ sự phát xạ tia β điều trị của đồng vị ^{153}Sm, bên cạnh đó cũng chưa loại trừ do sự bít tắc mạch của các hạt nano gây nên sự tập trung quá mức phóng xạ tại các cơ quan như phổi, thận và gan. Dữ liệu độc tính của dược chất phóng xạ chứa ^{153}Sm là Quadramet® đã ghi nhận mức giới hạn đơn liều thử trên động vật (chó) là 30mCi/kg cân nặng [9].

Đánh giá sự phục hồi của các cơ quan tại thời điểm 14 ngày sau tiêm, các chỉ số sinh hóa và huyết học đều có sự thay đổi về ngưỡng bình thường, không ghi nhận khác biệt rõ rệt giữa hai lô chuột tại thời điểm này, chứng tỏ rằng các cơ quan đã trở về trạng thái sinh lý bình thường. Tương tự như vậy, hình ảnh vi thể trên các mẫu gan, thận và phổi ghi nhận không còn tình trạng xung huyết nặng, tuy nhiên vẫn có một số mẫu còn hình ảnh viêm mạn tính.

Chế phẩm hạt nano đánh dấu phóng xạ Fe_3O_4@lapatinib - ^{153}Sm hiện chưa có sản phẩm tương tự nào được nghiên cứu trên thế giới, do đó, việc nghiên cứu độc tính và tính hiệu quả của sản phẩm là rất cần thiết. Trong quy mô của đề tài, chúng tôi tiến hành đánh giá độc tính theo nguyên tắc đơn liều dựa trên hoạt độ của đồng vị phóng xạ, tuy nhiên, vẫn còn cần thêm những đánh giá khác do sản phẩm là sự kết hợp của nhiều thành phần có tác dụng điều trị như lapatinib hay hạt nano Fe_3O_4. Nhìn chung, chế phẩm Fe_3O_4@lapatinib - ^{153}Sm liều 20mCi/kg không gây chết chuột và có gây độc tính trên các cơ quan của chuột thí nghiệm chuột.

5. Kết luận

Chế phẩm nano phóng xạ Fe3O4@Lapatinib - ^{153}Sm dự tính được thử nghiệm tại mức liều 100 lần liều điều trị quy đổi trên người, tuy nhiên động vật thí nghiệm bị chết tại mức liều này. Liều thử nghiệm cao nhất không gây chết là 20 lần liều quy đổi trên người có gây ra ảnh hưởng đến các cơ quan và chuyển hóa sinh lý của chuột tại thời điểm 24 giờ sau tiêm, tuy nhiên, ghi nhận sự phục hồi chức năng về mức bình thường trên chuột sau 14 ngày. Sản phẩm này cần được nghiên cứu cải thiện các đặc tính lý hóa để đảm bảo tính chất dược học phù hợp để tiến hành các pha lâm sàng sâu hơn.

Tài liệu tham khảo

1. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, Bray F (2021) *Cancer statistics for the year 2020: An overview.* International journal of cancer 149(4): 778-789.

DOI: https://doi.org/10.52389/ydls.v18iYHHN.1938

2. Opdam FL, Guchelaar HJ, Beijnen JH, Schellens JH (2012) *Lapatinib for advanced or metastatic breast cancer*. The oncologist 17(4): 536-542.
3. Bahreyni A, Mohamud Y, Luo H (2020) *Emerging nanomedicines for effective breast cancer immunotherapy*. Journal of nanobiotechnology 18 (1): 1-14.
4. Ganesan K, Wang Y, Gao F, Liu Q, Zhang C, Li P, Zhang J, Chen J (2021) *Targeting engineered nanoparticles for breast cancer therapy*. Pharmaceutics 13(11): 1829.
5. Organisation for Economic Co-operation and Development (2008) *Test No, 425: Acute oral toxicity: Ip-and-down procedure*. OECD publishing.
6 European Medicines Agency (2008) *ICH topic M3 (R2) non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals*. European Medicines Agency London, United Kingdom.
7. Organisation for Economic Co-operation and Development (2002) *Test no, 423: acute oral toxicity-acute toxic class method*. OECD publishing.
8. Agency, European Medicines (2008) *Human medicine European public assessment report (EPAR): Tyverb*.
9. Agency, European Medicines (1998) *Human medicine European public assessment report (EPAR): Quadramet*.