

# NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CỦA 3-MONOCHLOROPROPAN-1,2-DIOL (3-MCPD) TRÊN HÌNH THÁI HỒNG CẦU VÀ SỰ TẠO VI NHÂN

Ngô Kiến Đức\*, Trần Mạnh Hùng\*

## TÓM TẮT

**Mở đầu:** 3-MCPD là một dư phẩm được tạo ra trong quá trình thủy phân protein thực vật dưới sự xúc tác của acid. Đã có nhiều nghiên cứu chứng minh độc tính của 3-MCPD trên thận, cơ quan sinh dục và tiềm năng gây ung thư. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành theo dõi độc tính của 3-MCPD trên hình thái hồng cầu và sự tạo vi nhân.

**Mục tiêu:** Nghiên cứu này bao gồm 2 mục tiêu sau: 1) Nghiên cứu độc tính của 3-MCPD trên hình thái của hồng cầu, và 2) Nghiên cứu độc tính của 3-MCPD trên nhiễm sắc thể qua phương pháp quan sát sự hình thành vi nhân.

**Phương pháp:** Chuột nhắt trắng được cho uống 3-MCPD trong 6 tháng ở các liều 1 mg/kg, 10 mg/kg và 20 mg/kg. Ở thời điểm kết thúc khảo sát (sau 6 tháng), máu chuột thí nghiệm được thu thập và khảo sát hình thái hồng cầu và sự tạo vi nhân dựa trên phương pháp nhuộm màu bằng Giemsa.

**Kết quả:** 3-MCPD gây thay đổi rõ rệt hình thái hồng cầu: gây giảm thể tích hồng cầu, tăng sắc tố và chuyển sang dạng hồng cầu gai. Bên cạnh đó, sử dụng kéo dài 3-MCPD cũng gây sự gia tăng hình thành các vi nhân trên hồng cầu (một biểu hiện của tổn thương nhiễm sắc thể). Những tác động này của 3-MCPD tăng rõ hơn khi sử dụng kèm theo ethanol.

**Kết luận:** 3-MCPD ở các liều 1 mg/kg, 10 mg/kg và 20 mg/kg sử dụng trong 6 tháng gây thay đổi hình thái hồng cầu và gây tổn thương nhiễm sắc thể, vì thế có thể tác động đến chức năng hồng cầu và nguy cơ gây ung thư.

**Từ khóa:** 3-MCPD, hồng cầu gai, vi nhân, độc tính mạn tính

## ABSTRACT

### 3-MONOCHLOROPROPAN-1,2-DIOL (3-MCPD) AFFECTED ERYTHROCYTE MORPHOLOGY AND NEUTROPHIL COUNT ON EXPERIMENTAL MICE

Ngo Kien Duc, Tran Manh Hung \* Y Hoc TP.Ho Chi Minh \* Vol. 14 - Supplement of No 1 -2010: 47-51

**Background:** 3-MCPD is a toxic chemical produced by acid-hydrolyzed protein processes. There are bodies of evidence showing toxic effects of 3-MCPD on kidney, reproductive organs and carcinogenic property. In this study, we investigated the subchronic toxicity of 3-MCPD on erythrocyte morphology and blood cell count.

**Method:** mice were orally administered 3-MCPD at doses of 1 mg/kg, 10 mg/kg or 20 mg/kg for 6 months. At the end of the study, blood was collected and erythrocyte morphology was examined. The micronucleus test was also performed on erythrocyte to investigate the ability of 3-MCPD to induce numerical or structural chromosomal damage.

**Results:** 3-MCPD induced changes in erythrocyte morphology, including decrease of size, increase of pigment and transforming to crenated cells. The micronucleus formation in erythrocyte was also increased in 3-MCPD treated groups. These toxic effects of 3-MCPD appeared to be potentiated by the presence of ethanol.

\* Khoa Dược - Đại học Y Dược Tp. HCM  
Địa chỉ liên hệ: DS. Ngô Kiến Đức

ĐT: 0903 055 357

Email: [ngokienduc@gmail.com](mailto:ngokienduc@gmail.com)

**Conclusion:** 3-MCPD at doses of 1, 10, or 20 mg/kg, administered in 6 months induced significant changes in erythrocyte morphology and genotoxicity, which may affect the function of erythrocytes in circulation.

**Keywords:** 3-MCPD, crenated erythrocyte, micronucleus, chronic toxicity

## **ĐẶT VẤN ĐỀ**

3-Monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) là một sản phẩm phụ trong quá trình sản xuất nhiều loại thực phẩm. 3-MCPD được hình thành từ phản ứng giữa chất béo và ion Cl<sup>-</sup> (ví dụ NaCl) ở nhiệt độ cao (Food Standards Agency 2001). Ngoài ra, 3-MCPD cũng được tạo ra trong quá trình thủy phân protein thực vật bằng acid hydrochloric (HCl) (Collier 1991). 3-MCPD thường hiện diện ở hàm lượng rất thấp (<1 mg/kg) nhưng một vài loại sản phẩm có thể chứa với hàm lượng cao (lên đến hàng trăm mg/kg).

Các nghiên cứu trên thú vật cho thấy, 3-MCPD là chất có tiềm năng gây ung thư trên nhiều cơ quan khác nhau ở chuột cống chủng F344 (Sunahara 1993, Lynch 1998). Nghiên cứu in vitro cũng cho thấy 3-MCPD cho kết quả dương tính trên thử nghiệm gây đột biến gen (Silhankova 1982, Zeiger 1988; Lynch 1998). Mặc dù đã có rất nhiều nghiên cứu về độc tính của 3-MCPD, tuy nhiên các dữ liệu về độc tính của 3-MCPD trên máu vẫn chưa được đầy đủ. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đặt mục tiêu khảo sát độc tính của 3-MCPD trên chuột nhắt sau khi cho uống 3-MCPD trong 6 tháng liên tục với các chỉ tiêu đánh giá là hình thái hồng cầu và sự tạo vi nhân.

## **PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **Thú vật thử nghiệm**

Thú vật thử nghiệm là chuột nhắt trắng, chủng Swiss albino, giống đực, có trọng lượng từ 18-20 g, được phân bố ngẫu nhiên thành nhiều lô khác nhau, mỗi lô từ 6-20 con. Chuột được nuôi trong môi trường tiến hành thực nghiệm từ 3-5 ngày để thích nghi với môi trường. Hàng tuần, chuột được theo dõi thể trọng và lượng nước tiêu thụ để điều chỉnh lượng 3-MCPD thích hợp. Kết thúc giai đoạn thí nghiệm, chuột được lấy máu để phân tích.

### **Chuột thí nghiệm được chia thành các nhóm sau**

- Nhóm chứng: uống nước sinh hoạt trong 6 tháng, n = 18
- Nhóm 1: uống 3-MCPD 1 mg/kg/ngày pha trong nước uống sinh hoạt trong 6 tháng, n=18
- Nhóm 2: uống 3-MCPD 10 mg/kg/ngày pha trong nước uống sinh hoạt trong 6 tháng, n=11
- Nhóm 3: uống 3-MCPD 20 mg/kg/ngày pha trong nước uống sinh hoạt trong 6 tháng, n=14
- Nhóm 4: uống ethanol 1% pha trong nước uống sinh hoạt trong 6 tháng, n = 6
- Nhóm 5: uống ethanol 5% pha trong nước uống sinh hoạt trong 6 tháng, n = 7
- Nhóm 6: uống ethanol 1% + 3-MCPD 1 mg/kg/ngày trong 6 tháng, n = 6
- Nhóm 7: uống ethanol 5% + 3-MCPD 1 mg/kg/ngày trong 6 tháng, n = 6
- Nhóm 8: uống ethanol 1% + 3-MCPD 10 mg/kg/ngày trong 6 tháng, n = 8
- Nhóm 9: uống ethanol 5% + 3-MCPD 10 mg/kg/ngày trong 6 tháng, n = 7

### **Phân tích hình thái hồng cầu**

Để phân tích hình thái hồng cầu, máu được phết trên lam kính, cố định bằng methanol, để khô, rồi sau đó nhuộm màu bằng thuốc thử Giemsa.

### **Quan sát sự hình thành vi nhân**

Thử nghiệm này được thiết kế nhằm đánh giá các hóa chất có khả năng gây tổn thương nhiễm sắc thể. "Vi nhân" là một nhân nhỏ hình thành và xuất hiện bên cạnh nhân bình thường. Trong quá trình phân bào, nhiễm sắc thể sẽ nhân đôi và sau đó phân chia vào 2 tế bào con. Nếu tiến trình này bị gián đoạn, hoặc nhiễm sắc thể bị phá vỡ bởi hóa chất hay bức xạ thì sự phân bố

nhiễm sắc thể vào 2 tế bào con bị ảnh hưởng và một vi nhân sẽ hình thành do không được tích hợp vào nhân chung. Hiện tượng này có thể được quan sát dưới kính hiển vi sau khi nhuộm màu nhân bằng thuốc thử thích hợp (Witt 2008).

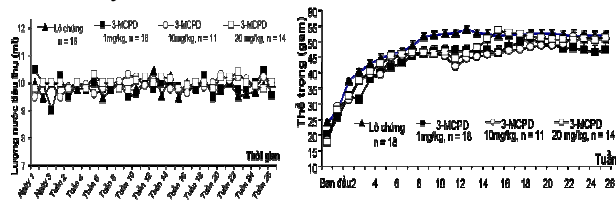
### Phân tích thống kê

Sử dụng phép phân tích mẫu Bartlett về tính phân bố của dữ liệu. Nếu dữ liệu phân bố bình thường, sử dụng phép kiểm ANOVA, nếu dữ liệu phân bố bất thường, sử dụng phép kiểm Kruskal–Wallis. So sánh sự khác biệt giữa 2 nhóm được xem là có ý nghĩa thống kê khi  $P < 0,05$ .

## KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

### Lượng nước tiêu thụ ở nhóm chứng và nhóm uống 3-MCPD

Trong suốt quá trình thử nghiệm, chúng tôi theo dõi thể trọng và lượng nước uống trung bình của chuột (trong những nhóm nhỏ từ 4-6 chuột) theo từng ngày và từng tuần để có thể điều chỉnh lượng 3-MCPD đúng theo liều lượng thiết kế nghiên cứu. Kết quả được trình bày ở hình 1.

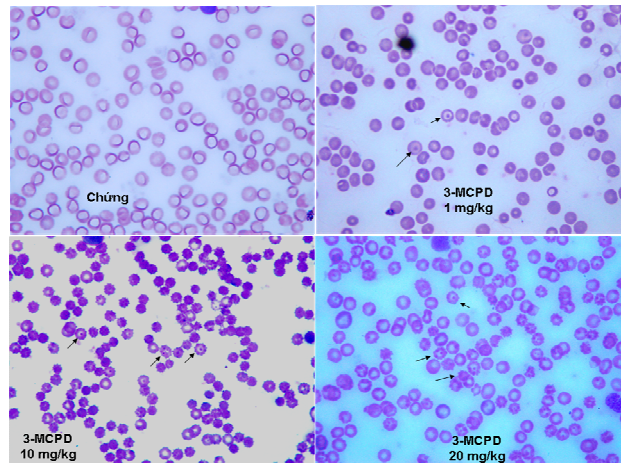


**Hình 1.** Lượng nước tiêu thụ và thể trọng của chuột ở các lô thí nghiệm

### Hình thái hồng cầu ở nhóm chứng và nhóm uống 3-MCPD

Sau 6 tháng sử dụng 3-MCPD, hình thái hồng cầu ở các lô sử dụng 3-MCPD có những thay đổi đáng kể. Ở nhóm chứng, hình thái hồng cầu hoàn toàn bình thường với dạng hình đĩa, sắc tố bình thường. Trong khi ở nhóm sử dụng 3-MCPD 1 mg/kg, hồng cầu mất đi dạng hình đĩa và gia tăng sắc tố. Ở nhóm sử dụng 3-MCPD 10 mg/kg và 20 mg/kg, chúng tôi nhận thấy hồng cầu chuyển

sang dạng hình cầu gai và bắt màu rất đậm (hình 2).



**Hình 2.** Hình thái hồng cầu ở nhóm chứng và nhóm uống 3-MCPD (x 1000)

### Sự hình thành vi nhân ở các nhóm uống 3-MCPD

Ở hình 2, chúng tôi quan sát thấy có sự hình thành vi nhân ở các nhóm uống 3-MCPD (mũi tên) trong khi ở nhóm chứng, hầu như rất hiếm gặp hồng cầu có vi nhân. Số lượng vi nhân tăng cao theo nồng độ 3-MCPD sử dụng, giữa liều 1 mg/kg và liều 10 mg/kg. Sự hình thành vi nhân chứng tỏ 3-MCPD gây tổn thương nhiễm sắc thể trên các hồng cầu lưới. Kết quả được trình bày trong bảng 1.

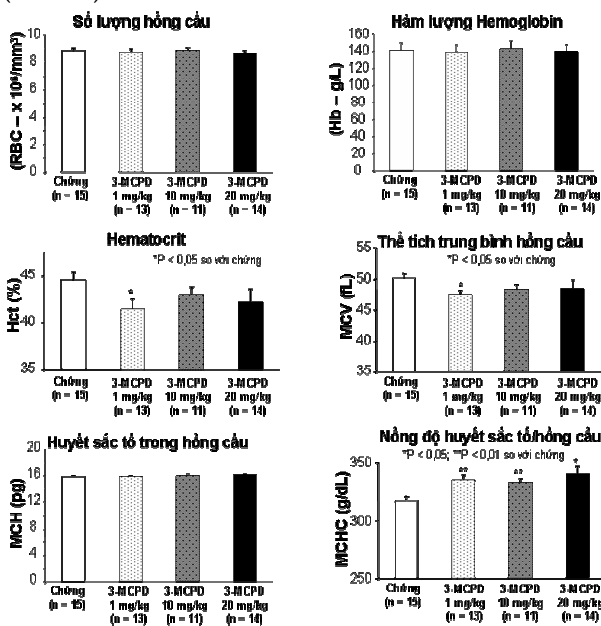
**Bảng 1.** Số lượng vi nhân hình thành trên 1 thị trường quan sát (x 1000 lần)

Nhóm	Chứng (n = 6)	3-MCPD 1 mg/kg (n = 6)	3-MCPD 10 mg/kg (n = 6)	3-MCPD 20 mg/kg (n = 6)
Số hồng cầu có vi nhân/tổng số hồng cầu	0/176	3/114	126/136	176/230
hồng cầu quan sát trong 1 thị trường	1/254	15/177	213/216	134/192
	0/127	7/124	131/233	36/105
	0/163	13/111	86/113	49/102
	0/181	5/119	100/207	85/110
	1/205	20/244	110/140	74/102
% hồng cầu chứa vi nhân	0,18 ± 0,01	6,81 ± 1,35**	73,30 ± 2,26***	63,32 ± 7,01***

\*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001 so với nhóm chứng

## Số lượng hồng cầu và các chỉ số liên quan ở nhóm chứng và các nhóm sử dụng 3-MCPD

Mặc dù 3-MCPD gây những thay đổi đáng kể trên hình thái hồng cầu và sự tạo vi nhân, tuy nhiên khi xác định tổng lượng hồng cầu (RBC) giữa nhóm chứng và nhóm sử dụng 3-MCPD, chúng tôi nhận thấy 3-MCPD không ảnh hưởng đến tổng lượng hồng cầu và hàm lượng hemoglobin (Hb). Ở nhóm sử dụng 3-MCPD 1 mg/kg, có sự giảm nhẹ hàm lượng hematocrit (Hct) và thể tích trung bình của hồng cầu (MCV) nhưng điều này không xảy ra trên các nhóm sử dụng 3-MCPD 10 mg/kg hay 20 mg/kg (hình 3). Trên chỉ số MCHC (nồng độ huyết sắc tố trong hồng cầu), các nhóm sử dụng 3-MCPD đều tăng so với nhóm chứng (hình 4).



Hình 3. Số lượng hồng cầu và các chỉ số liên quan của các lô thí nghiệm

## Hình thái hồng cầu và sự tạo vi nhân ở chuột được cho uống đồng thời 3-MCPD và ethanol

Do 3-MCPD được khử độc bằng phản ứng liên hợp với glutathion để tạo thành S-(2,3-dihydroxypropyl)cystein và N-acetyl-S-(2,3-dihydroxypropyl)cystein (Jones 1975). Ngoài ra, khi sử dụng ethanol kéo dài có thể gây suy

giảm hàm lượng glutathion, vì thế chúng tôi nghiên cứu trong điều kiện có sự hiện diện của 1 yếu tố nguy cơ (ethanol), liệu độc tính của 3-MCPD có gia tăng hay không.

Về mặt hình thái, việc sử dụng đồng thời 3-MCPD (10 mg/kg) và ethanol (1% hay 5%) cũng gây hiện tượng hồng cầu gai rõ rệt, trong khi nhóm chứng và nhóm sử dụng ethanol có hình thái hồng cầu bình thường. Về sự tạo vi nhân, sử dụng kết hợp 3-MCPD 10 mg/kg + ethanol 5% làm tăng tỷ lệ hồng cầu có vi nhân lên đến khoảng 90% (bảng 2).

Bảng 2. Hình thái hồng cầu và tỷ lệ tạo vi nhân ở các nhóm thí nghiệm

Nhóm	Hình thái	% hồng cầu có vi nhân
Chứng (n=15)	Bình thường	0,18 ± 0,01
Ethanol 1% (n = 6)	Bình thường	0,67 ± 0,31
Ethanol 5% (n = 7)	Bình thường	3,39 ± 2,94
Ethanol 1%+3-MCPD 1 mg/kg (n= 6)	Hồng cầu tăng sắc	8,29 ± 7,9
Ethanol 5%+3-MCPD 1 mg/kg (n= 7)	Hồng cầu tăng sắc	7,29 ± 3,89
Ethanol 1% + 3-MCPD 10 mg/kg (n=8)	Hồng cầu gai	41,72 ± 19,87**
Ethanol 5% + 3-MCPD 10 mg/kg (n= 7)	Hồng cầu gai	86,99 ± 4,45***

\*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001 so với nhóm chứng

## KẾT LUẬN

Cho đến nay, đã có một số nghiên cứu về độc tính của 3-MCPD trên máu đã công bố, và những nghiên cứu này sử dụng 3-MCPD ở liều thấp nhất là 30 mg/kg trong 4-14 tuần. Các kết quả cho thấy 3-MCPD gây thiếu máu, suy tủy và giảm bạch cầu (Kirton 1970, Marchesini 1989, Cho 2008). Trong nghiên cứu của chúng tôi, 3-MCPD không gây thiếu máu nhưng gây giảm nhẹ thể tích hồng cầu và gia tăng nồng độ huyết sắc tố. Điều này cho thấy sự thay đổi hình thái hồng cầu quan sát được không liên quan đến tình trạng tán huyết và sự tạo hồng cầu.

Hồng cầu gai quan sát được trong nghiên cứu của chúng tôi, mặc dù chưa xác định được ý nghĩa bệnh học thật sự của hiện tượng này,

nhưng điều này có thể làm thay đổi chức năng của hồng cầu và có thể gây những biến chứng bất lợi về huyết động.

Ngoài ra, 3-MCPD ở liều 1 mg/kg đã gây hiện tượng tạo vi nhân rõ rệt so với nhóm chứng. Bình thường, hồng cầu trưởng thành và lưu thông trong máu ngoại vi là những tế bào không nhân. Sự tạo vi nhân trên hồng cầu của 3-MCPD cho thấy hóa chất này tác động lên nhiễm sắc thể của những tế bào tiền hồng cầu và có thể gồm cả hồng cầu lưới.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cho W-S, Han BS, Lee H, Kim C, Nam KT, Park KD, Choi M, Kim SJ, Kim SH, Jeong J, Jang DD (2008) Subchronic toxicity study of 3-monochloropropane-1,2-diol administered by drinking water to B6C3F1 mice. *Food & Chem. Toxicol.* 46: 1666–1673
2. Collier PD, Cromiue DDO, & Davies AP (1991) Mechanisms of formation of chloropropanols present in protein hydrolysates. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 785–790.
3. Food Standards Agency (2001). Survey of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in soy sauce and related products. No: 14/01, Food Standards Agency.
4. Jones AR (1975) The metabolism of 3-chloro-, 3-bromo- and 3-iodopropan-1,2-diol in rats and mice. *Xenobiotica*, 5, 155–165.
5. Jones AR, Milton DH & Murcott C (1978) The oxidative metabolism of alpha-chlorohydrin in the male rat and the formation of spermatocoele. *Xenobiotica*, 8, 573–582.
6. Lynch BS, Bryant DB, Hook GJ, Nestmann ER & Munro IC (1998) Carcinogenicity of monochloro-1,2-propanediol (alpha-chlorohydrin, 3-MCPD). *Int. J. Toxicol.*, 17, 47–76.
7. Marchesini M & Stalder R (1983) Toxicity of 3-chloro-1,2-propanediol in a 4 weeks gavage study on rats. Part I. Unpublished report No. LA 70/1082 from the Société d'Assistance Technique Pour Produits Nestlé SA, Switzerland.
8. Marchesini M, Stalder R & Perrin I (1989) Subchronic toxicity of 3-chloro-1,2-propanediol, 90 days administration in drinking water of Fischer F344 rats. Unpublished report No. 1264 from Nestec Ltd Research Centre, Nestlé, Switzerland.
9. Silhanková L, Smid F, Cernà M, Davidek J & Velisek J (1982) Mutagenicity of glycerol chlorohydrines and of their esters with higher fatty acids present in protein hydrolysate. *Mutat. Res.*, 103, 77–81.
10. Sunahara G, Perrin I & Marchesini M. (1993) Carcinogenicity study on 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) administered in drinking water to Fischer 344 rats. Unpublished report No. RE-SR93003 submitted to WHO by Nestec Ltd, Research & Development, Switzerland.
11. Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T & Mortelmans K (1988) Salmonella mutagenicity tests: IV. Results from the testing of 300 chemicals. *Environ. Mol. Mutag.*, 11 (Suppl. 12), 1–158.
12. Witt KL, Livanos E, Kissling GE, Torous DK, Caspary W, Tice RR, Recio L. (2008) Comparison of flow cytometry- and microscopy-based methods for measuring micronucleated reticulocyte frequencies in rodents treated with nongenotoxic and genotoxic chemicals. *Mutat Res.* 649(1-2):101-13.

---

