



DOI:10.22144/ctu.jvn.2018.128

## KHẢO SÁT KHẢ NĂNG BẢO VỆ GAN CỦA CAO METHANOL LÁ MỜ LEO (*Paederia scandens* L.) TRÊN CHUỘT TỔN THƯƠNG GAN BẰNG CARBON TETRACHLORIDE

Phan Kim Định, Nguyễn Thị Thanh Lan, Nguyễn Trọng Tuân và Đái Thị Xuân Trang\*

Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Đái Thị Xuân Trang (email: dtxtrang@ctu.edu.vn)

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 08/02/2018

Ngày nhận bài sửa: 26/04/2018

Ngày duyệt đăng: 29/10/2018

### Title:

Study on hepatoprotective activity of the methanol leaf extract of skunkvine (*Paederia scandens* L.) on carbon tetrachloride - induced hepatic damage in mice

### Từ khóa:

Bảo vệ gan, carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>), enzyme ALT, enzyme AST, *Paederia scandens* L.

### Keywords:

ALT enzyme, AST enzyme, carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>), hepatoprotection, *Paederia scandens* L.

### ABSTRACT

The hepatoprotective effect of methanol leaf extract of skunkvine (*Paederia scandens* L.) was investigated on carbon tetrachloride - induced hepatic damage in mice. Liver damage in mice was induced by administration of CCl<sub>4</sub> in olive oil with the ratio of 1 to 4 at dose of 2.5 ml/kg per day in 4 consecutive weeks. After one hour taking CCl<sub>4</sub> by oral administration, mice were treated with methanol leaf extract of skunkvine at different concentrations of 100, 200, and 400 mg/kg body weight. Silymarin was used as a positive control. After 4 weeks of treatment, the results indicated that the liver transaminase levels decreased significantly. Specifically, the AST level declined by 94.2%, 98%, 99% and ALT levels declined by 91.6%, 93.5%, 95.2% at three tested concentrations. The hepatoprotective effects of leaf extract of skunkvine were similar to those of silymarin at dose of 16 mg/kg BW. Observation of the microscopic cross section of liver tissue also revealed that the mice treated with leaf extract of skunkvine at dose 200 and 400 mg/kg body weight had significantly improvement in liver tissues compared to the non-treated control group.

### TÓM TẮT

Hiệu quả bảo vệ gan của cao lá Mờ Leo - LML (*Paederia scandens* L.) được khảo sát trên chuột tổn thương gan bằng carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>). Chuột được gây tổn thương gan bằng CCl<sub>4</sub> pha trong dầu olive với tỷ lệ 1:4 với liều uống là 2,5 ml/kg/ngày và uống mỗi ngày trong thời gian 4 tuần. Hiệu quả bảo vệ gan của cao LML được khảo sát bằng cách cho chuột uống cao LML ở các nồng độ 100, 200 và 400 mg/kg trọng lượng chuột sau 1 giờ uống CCl<sub>4</sub>. Silymarin được sử dụng như đối chứng dương. Kết quả thí nghiệm cho thấy, sau 4 tuần thí nghiệm, hàm lượng các enzyme AST giảm lần lượt 94,2%, 98%, 99%, enzyme ALT giảm lần lượt 91,6%, 93,5%, 95,2%. Hiệu quả bảo vệ gan của cao LML có thể so sánh tương đương với silymarin liều 16 mg/kg trọng lượng chuột. Quan sát tiêu bản hiển vi lát cắt ngang gan chuột cho thấy mô gan của nhóm chuột được điều trị bằng cao LML nồng độ 200 và 400 mg/kg cải thiện đáng kể so với nhóm chuột không được điều trị.

Trích dẫn: Phan Kim Định, Nguyễn Thị Thanh Lan, Nguyễn Trọng Tuân và Đái Thị Xuân Trang, 2018. Khảo sát khả năng bảo vệ gan của cao methanol lá Mờ Leo (*Paederia scandens* L.) trên chuột tổn thương gan bằng carbon tetrachloride. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(7A): 94-100.

## 1 GIỚI THIỆU

Gan là cơ quan nội tạng lớn nhất trong cơ thể. Chức năng quan trọng của gan là chuyển hóa carbohydrate, protein và chất béo; tiết mật; giải độc và lưu trữ các vitamin, sắt và glucose hoặc glycogen (Refaey *et al.*, 2015). Nhiều yếu tố bao gồm rượu, các loại thuốc, các chất gây ô nhiễm môi trường, các hóa chất độc hại, chất phóng xạ... có thể gây stress oxy hóa trong gan (Li *et al.*, 2015). Stress oxy hóa có thể dẫn đến các bệnh về gan, làm mất cấu trúc mô học bình thường của gan như giảm khối lượng tế bào và mất sự lưu thông máu, các hoạt động chức năng của gan có thể bị mất (Nema *et al.*, 2011). Sử dụng chất kháng oxy hóa ngoại sinh là một cách hợp lý để phòng ngừa và điều trị các bệnh về gan có liên quan đến stress oxy hóa (Medina *et al.*, 2005). Các hợp chất flavonoids và polyphenol ở nhiều loài thực vật đã được chứng minh có khả năng kháng oxy hóa (Srivastava and Choudhary, 2014). Trong trường hợp chưa có thuốc đủ hiệu quả để phòng ngừa và điều trị các bệnh về gan, nhiều nhà nghiên cứu tập trung vào việc tìm kiếm các hợp chất bảo vệ gan từ các sản phẩm tự nhiên (Levy *et al.*, 2004). Các loại dịch chiết từ thực vật được xem là có hiệu quả và an toàn để phòng ngừa hoặc điều trị các rối loạn chức năng gan (Jaishree and Badami, 2010).

Cây Mơ Leo (*Paederia scandens* L.), thuộc họ Cà phê (Rubiaceae), là cây mọc hoang và được dùng làm thuốc điều trị một số bệnh trong dân gian. Lá Mơ Leo (LML) được dùng để giảm đau, giải độc, chữa nhiều bệnh thường gặp như: ho, các chứng co thắt túi mật và dạ dày ruột, viêm gan vàng da, phong thấp đau nhức gân cốt, viêm da, eczema, lở loét da... (Đỗ Tất Lợi, 2004). Trên thế giới, đã có nhiều nghiên cứu về tác dụng của Mơ Leo với khả năng kháng viêm trên mô hình chuột bị viêm khớp do gout (Ma *et al.*, 2009), điều hòa miễn dịch trên mô hình chuột bị bệnh thận (Zhu *et al.*, 2012), tác dụng giảm đau trên mô hình chuột bị tổn thương thần kinh (Liu *et al.*, 2012), tác dụng chống co giật và an thần (Yang *et al.*, 2013). Tuy nhiên, các nghiên cứu về khả năng bảo vệ gan của Mơ Leo còn hạn chế.

## 2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Phương tiện, thiết bị và vật liệu thí nghiệm

Thiết bị được sử dụng trong thí nghiệm gồm máy cô quay chân không (Heidolph, Đức), máy cắt microtome (RM2125RT, Leica, Đức), kính hiển vi (Olympus, Nhật), cân phân tích (AB104-S, Mettler

Toledo, Thụy Sĩ), tủ sấy (UM 200, Memmert, Đức).

Hóa chất được sử dụng trong thí nghiệm gồm methanol (Trung Quốc), carbon tetrachloride (Trung Quốc), dầu olive (Olivoilà, Ý), tinh chất silymarin (Sigma Aldrich) và một số hóa chất khác.

Vật liệu thí nghiệm là lá Mơ Leo (*Paederia scandens* L.) được thu hái tại Cần Thơ, được định danh dựa vào hình thái cơ quan thực vật theo Phạm Hoàng Hộ (2003).

Đối tượng thí nghiệm là chuột nhắt trắng (*Mus musculus* var *Albino*) khỏe mạnh, trọng lượng từ 20–25 g do Viện Pasteur–Thành phố Hồ Chí Minh cung cấp, được nuôi ở phòng thí nghiệm Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ ở nhiệt độ phòng và chu kỳ sáng tối 12/12 giờ.

### 2.2 Phương pháp

#### Điều chế cao methanol LML

LML sau khi thu về được rửa sạch (2.800 g) và sấy khô ở nhiệt độ từ 40–45°C. Mẫu sau khi sấy khô (440 g) được xay nhuyễn thành mẫu bột nguyên liệu. Bột nguyên liệu được cho vào trong túi vải và ngâm đậm trong methanol. Mẫu được ngâm nhiều lần, mỗi lần ngâm khoảng 24 giờ, dịch chiết từ các lần ngâm được gom lại, cô quay đuổi dung môi. Tiếp tục chiết nhiều lần cho đến khi chiết kiệt các chất trong mẫu ngâm thu được 68,06 g cao methanol LML có dạng đặc sệt, màu xanh đậm (hiệu suất chiết cao đạt 15,47% tính trên trọng lượng khô).

#### Khảo sát khả năng bảo vệ gan của cao LML trên mô hình chuột gây tổn thương gan bằng CCl<sub>4</sub>

Thí nghiệm khảo sát hoạt tính bảo vệ gan của cao LML được tiến hành theo phương pháp của Kang and Koppula (2014) có hiệu chỉnh. Sử dụng CCl<sub>4</sub> liều 2,5 mL/kg trọng lượng chuột (CCl<sub>4</sub> pha trong dầu olive theo tỉ lệ 1:4) gây nhiễm độc gan và tinh chất silymarin liều 16 mg/kg trọng lượng chuột làm thuốc bảo vệ gan đối chứng. Dimethyl sulfoxide (DMSO) 1% được dùng pha cao chiết và silymarin. Cao LML được khảo sát các liều 100, 200, 400 mg/kg trọng lượng chuột. Chuột đực khỏe mạnh được chia ngẫu nhiên thành 7 nhóm thí nghiệm, mỗi nhóm gồm 5 con chuột.

- Nhóm 1: Chuột uống nước cất
- Nhóm 2: Chuột uống 2,5 mL/kg DMSO 1%/ lần/ ngày
- Nhóm 3: Chuột uống 2,5 mL/kg CCl<sub>4</sub>/ lần/ ngày

- Nhóm 4: Chuột uống 2,5 mL/kg CCl<sub>4</sub>/ lần/ ngày, sau 1 giờ uống 16 mg/kg silymarin/ lần/ ngày
- Nhóm 5: Chuột uống 2,5 mL/kg CCl<sub>4</sub>/ lần/ ngày, sau 1 giờ uống 100 mg/kg cao LML / lần/ ngày
- Nhóm 6: Chuột uống 2,5 mL/kg CCl<sub>4</sub>/ lần/ ngày, sau 1 giờ uống 200 mg/kg cao LML / lần/ ngày
- Nhóm 7: Chuột uống 2,5 mL/kg CCl<sub>4</sub>/ lần/ ngày, sau 1 giờ uống 400 mg/kg cao LML / lần/ ngày

Thời gian thí nghiệm kéo dài 4 tuần, kết thúc thí nghiệm chuột được cân trọng lượng, gây mê giải phẫu lấy máu ở tim xét nghiệm sinh hóa, gan được tách lấy định hình trong dung dịch formol 4% để thực hiện tiêu bản mô học.

*Đánh giá sinh hóa*

Tổn thương gan được đánh giá bằng việc xác định hoạt độ của enzyme ALT và AST trong huyết thanh. Máu chuột thí nghiệm được đo hoạt độ enzyme ALT và AST bằng máy xét nghiệm sinh hóa bán tự động Erba CHEM – 7 ở Phòng khám 144, Nguyễn An Ninh, thành phố Cần Thơ. Hiệu suất bảo vệ gan được xác định bằng hiệu suất làm giảm enzyme gan theo công thức của Uddin *et al.* (2011). Hiệu suất làm giảm enzyme gan = ((AST/ALT nhóm uống CCl<sub>4</sub> – AST/ALT nhóm uống cao)/ (AST/ALT nhóm uống CCl<sub>4</sub> – AST/ALT nhóm bình thường))×100.

*Thực hiện tiêu bản mô bệnh học*

Tách lấy một thùy nhỏ của gan chuột thí nghiệm ngâm trong dung dịch formol 4% ít nhất 24 giờ, xử lý và tiến hành tẩm paraffin-xylene, đúc

khôn theo qui trình thực hiện tiêu bản mô học của Saalu *et al.* (2012) có hiệu chỉnh. Mẫu được cắt bằng microtome thành các lát cắt có độ dày 5 μm, khử paraffin, nhuộm với hematoxylin và eosin, quan sát dưới kính hiển vi để đánh giá mô học.

*Thống kê phân tích số liệu*

Các số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Excel, phân tích phương sai và so sánh trung bình bằng chương trình Minitab 16.0.

**3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1 Kết quả khảo sát khả năng bảo vệ gan của cao LML trên mô hình chuột gây tổn thương gan bằng CCl<sub>4</sub>**

Sự gia tăng trọng lượng ở các nhóm chuột thí nghiệm được thể hiện trong Bảng 1. Kết quả cho thấy tất cả các nhóm chuột sau 4 tuần thí nghiệm đều có sự gia tăng trọng lượng. Ở các nhóm đối chứng (nhóm 1, 2, 3 và 4), sự gia tăng trọng lượng chuột khác biệt không có ý nghĩa thống kê, trọng lượng chuột gia tăng nhiều ở các nhóm chuột uống nước cất (7,06±0,84 g) và uống DMSO 1% (6,03±3,97 g) có thể do chuột không chịu tác động từ hóa chất nên chuột phát triển và tăng trọng lượng bình thường. Trong khi ở nhóm chuột uống CCl<sub>4</sub>, giai đoạn đầu do tác động của chất gây độc gan CCl<sub>4</sub> chuột bị lù đù ít hoạt động và ăn ít, nhưng sau một tuần chuột hoạt động bình thường sau mỗi lần uống nên vẫn tăng trọng. Theo nghiên cứu của Das *et al.* (2014), sự gia tăng trọng lượng nhóm chuột uống CCl<sub>4</sub> ít hơn nhóm chuột uống nước cất. Kết quả nghiên cứu cho thấy sự gia tăng trọng lượng nhóm chuột uống CCl<sub>4</sub> (5,71±2,29 g) cũng ít hơn nhóm chuột uống nước cất (7,06±0,84 g).

**Bảng 1: Sự gia tăng trọng lượng (g) ở các nhóm chuột sau thí nghiệm**

Nhóm chuột thí nghiệm	Trọng lượng gia tăng (g)
Nhóm 1 Chuột uống nước cất	7,06±0,84 <sup>a</sup>
Nhóm 2 Chuột uống DMSO 1%	6,03±3,97 <sup>abc</sup>
Nhóm 3 Chuột uống CCl <sub>4</sub>	5,71±2,29 <sup>abc</sup>
Nhóm 4 Chuột uống CCl <sub>4</sub> , silymarin	5,55±4,20 <sup>abc</sup>
Nhóm 5 Chuột uống CCl <sub>4</sub> , cao LML 100 mg/kg	2,38±2,21 <sup>c</sup>
Nhóm 6 Chuột uống CCl <sub>4</sub> , cao LML 200 mg/kg	2,75±1,55 <sup>c</sup>
Nhóm 7 Chuột uống CCl <sub>4</sub> , cao LML 400 mg/kg	3,78±4,93 <sup>abc</sup>

Ghi chú: Các giá trị có mẫu tự theo sau trong cùng một cột giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Đối với các nhóm chuột uống CCl<sub>4</sub> và cao LML, sự gia tăng trọng lượng chuột ở nồng độ 100 mg/kg (nhóm 5) tăng 2,38±2,21 g, tăng 2,75±1,55 g tại nồng độ 200 mg/kg (nhóm 6) và tăng 3,78±4,93 g tại nồng độ 400 mg/kg (nhóm 7). Nhìn chung, sau khi được gây độc bằng CCl<sub>4</sub> và điều trị bằng cao chiết thì chuột ở các nhóm thí nghiệm đều

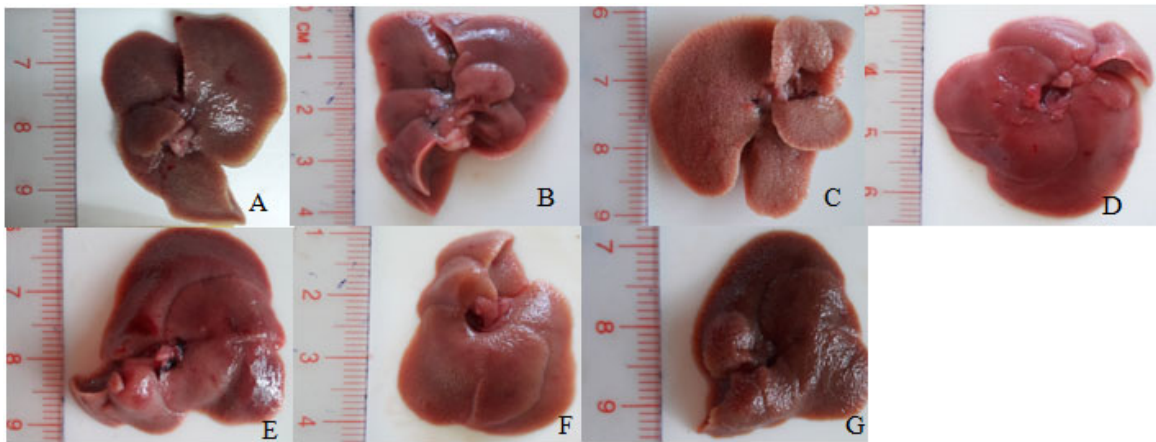
tăng trọng lượng, nhưng sự gia tăng trọng lượng giữa các nhóm khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Hình thái gan chuột giữa các nhóm đối chứng có sự khác biệt rất rõ. Gan chuột uống nước cất (Hình 1A) và gan chuột uống DMSO 1% (Hình

1B) có bề mặt trơn láng, mềm, mịn và có màu đỏ sậm. Trong khi đó, nhóm chuột uống CCl<sub>4</sub> (Hình 1C) gan đã bị tổn thương, kích thước lớn do tế bào gan phình to, bề mặt gan gồ ghề, xơ dai. Các vùng trên gan có màu sắc không đồng nhất, phần lớn bị tái nhạt và đôi khi trên bề mặt xuất hiện các đốm đen bất thường. Riêng nhóm chuột cho uống CCl<sub>4</sub> và điều trị bằng silymarin (Hình 1D), gan chuột có nhiều cải thiện về mặt hình thái. Bề mặt gan chuột điều trị bằng silymarin hơi gồ ghề so với nhóm chuột bình thường nhưng so với nhóm gây bệnh CCl<sub>4</sub> thì mức độ tổn thương đã giảm rõ. Ở nhóm gây bệnh bằng CCl<sub>4</sub> được điều trị bằng cao LML, gan được cải thiện đáng kể so với nhóm uống CCl<sub>4</sub> không được điều trị. Gan của nhóm chuột gây bệnh được điều trị bằng cao LML ở các nồng độ 100 mg/kg, 200 mg/kg và 400 mg/kg so với nhóm chuột bình thường khác biệt không nhiều. Màu sắc gan ở nồng độ 100 mg/kg (Hình 1E) và 200 mg/kg (Hình 1F) tuy nhạt màu hơn nhóm bình thường, nhưng bề mặt gan đã giảm sự gồ ghề và ở nồng độ 400 mg/kg (Hình 1G), màu sắc gan kể cả độ

láng và các đặc điểm hình thái rất giống với nhóm chuột bình thường.

CCl<sub>4</sub> được biết là tác nhân gây độc gan và đặc trưng của sự nhiễm độc gan do CCl<sub>4</sub> là gan nhiễm mỡ, xơ gan và hoại tử (Huo *et al.*, 2011). CCl<sub>4</sub> được biến đổi sinh học sinh ra các gốc tự do phản ứng cao. Các gốc tự do có thể góp phần vào sự khởi phát và làm tiến triển xơ hóa trong gan (Poli, 2000). Mặt khác, các gốc tự do gây ra sự peroxide hóa lipid, làm tổn hại màng tế bào và các bào quan, gây ra sự trương phồng tế bào và hoại tử tế bào gan (Simeonova *et al.*, 2014). Kết quả có thể dẫn đến thay đổi hình thái gan nhóm chuột được gây bệnh bằng CCl<sub>4</sub>. Các nghiên cứu trước đây cho thấy silymarin có khả năng bảo vệ gan khỏi tổn thương do CCl<sub>4</sub> gây ra (Nguyễn Bảo Trân *et al.*, 2011; Refaey *et al.*, 2015). Silymarin có thể bảo vệ được tế bào gan khỏi tổn thương do CCl<sub>4</sub> gây ra nhờ vào hoạt tính kháng oxy hóa (Duong *et al.*, 2016). Cao LML có lẽ cũng sở hữu hoạt tính chống oxy hóa nên có khả năng bảo vệ gan. Do đó, việc điều trị bằng silymarin và cao LML đã cải thiện được hình thái gan chuột thí nghiệm.



**Hình 1: Hình thái bên ngoài của gan chuột thí nghiệm**

(A) Chuột uống nước cất; (B) Chuột uống DMSO 1%; (C) Chuột uống CCl<sub>4</sub>; (D) Chuột uống silymarin; (E) Chuột uống cao LML 100 mg/kg; (F) Chuột uống cao LML 200 mg/kg; (G) Chuột uống cao LML 400 mg/kg

### 3.2 Kết quả khảo sát khả năng làm hạ enzyme gan của cao LML

Sau 4 tuần thử nghiệm, hàm lượng enzyme gan AST và ALT trong huyết thanh chuột được trình bày trong Bảng 2. Kết quả cho thấy nhóm chuột uống DMSO 1%, hàm lượng enzyme ALT và AST khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% so với nghiệm thức chuột bình thường được uống nước cất, chứng tỏ DMSO 1% không gây ảnh hưởng đến hàm lượng enzyme gan ALT và AST trong huyết thanh chuột trong quá trình thử nghiệm.

Nhóm chuột được gây tổn thương gan bằng CCl<sub>4</sub> có hàm lượng enzyme transaminase trong máu cao tương ứng với ALT là 921,2±375 U/L và AST là 1386,4±354,5 U/L, khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với các nhóm còn lại. So với nhóm chuột bình thường, hàm lượng enzyme ALT của nhóm chuột bị tổn thương gan bằng CCl<sub>4</sub> cao hơn 26,8 lần và hàm lượng AST cao hơn 8,2 lần. Như vậy, khi cho chuột uống CCl<sub>4</sub> trong dầu olive (nồng độ CCl<sub>4</sub> 20%) liều 2,5 mL/kg, trọng lượng chuột trong 4 tuần có tác dụng làm tổn thương gan đáp ứng được yêu cầu dùng làm nhóm đối chứng bệnh cho nghiên cứu.

**Bảng 2: Hàm lượng enzyme gan (U/L) và hiệu suất bảo vệ gan chuột (%) sau 4 tuần thí nghiệm**

Nghiệm thức	Hàm lượng men gan trong máu (U/L)		Hiệu suất giảm enzyme gan (%)	
	ALT	AST	ALT	AST
Nước cất	34,4 <sup>c</sup> ±8,9	169 <sup>c</sup> ±12,4	100 <sup>a</sup> ±0,0	100 <sup>a</sup> ±0,0
DMSO	69,8 <sup>c</sup> ±21,3	178,2 <sup>c</sup> ±43	96 <sup>a</sup> ±2,4a	99,2 <sup>a</sup> ±3,5
CCl <sub>4</sub>	921,2 <sup>a</sup> ±375	1386,4 <sup>a</sup> ±354,5	00 <sup>d</sup> ±0,0	00 <sup>c</sup> ±0,0
CCl <sub>4</sub> + silymarin 16mg/kg	113,6 <sup>b</sup> ±26,8	257,6 <sup>bc</sup> ±134,5	91,1 <sup>c</sup> ±3	92,7 <sup>b</sup> ±11,1
CCl <sub>4</sub> + cao LML 100 mg/kg	109,3 <sup>b</sup> ±27,6	239,8 <sup>bc</sup> ±96,1	91,6 <sup>c</sup> ±3,1	94,2 <sup>b</sup> ±7,9
CCl <sub>4</sub> + cao LML 200 mg/kg	92,2 <sup>c</sup> ±38,3	193 <sup>c</sup> ±110,3	93,5 <sup>b</sup> ±4,3	98 <sup>a</sup> ±9,1
CCl <sub>4</sub> + cao LML 400 mg/kg	77,6 <sup>c</sup> ±41,63	181,6 <sup>c</sup> ±68,85	95,2 <sup>b</sup> ±4,1	99 <sup>a</sup> ±5,6

Ghi chú: các chữ cái theo sau trong cùng một cột giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%

Khi chuột được uống CCl<sub>4</sub> và uống thêm silymarin liều 16 mg/kg trọng lượng chuột, hàm lượng các enzyme ALT, AST trong máu giảm so với nhóm đối chứng bệnh lần lượt là 113,6±26,8 U/L và 257,6±134,5 U/L. So với nghiệm thức chuột bình thường, hàm lượng ALT và AST còn cao nhưng đã có hiệu quả làm giảm đáng kể hàm lượng ALT và AST trong huyết thanh so với nhóm đối chứng bệnh, hiệu suất giảm enzyme ALT của silymarin là 91,1% và AST là 92,7 % chứng tỏ silymarin 16 mg/kg trọng lượng chuột có hiệu quả trong việc bảo vệ gan chuột khỏi tổn thương do CCl<sub>4</sub> gây ra.

Các nhóm chuột uống CCl<sub>4</sub> và uống thêm cao LML với liều 100, 200 và 400 mg/kg trọng lượng chuột, hàm lượng enzyme ALT và AST thay đổi và giảm dần khi tăng nồng độ cao chiết (Bảng 2). Khi sử dụng liều 100 mg/kg trọng lượng chuột, cao LML làm giảm hàm lượng ALT và AST đáng kể so với nhóm đối chứng bệnh, hiệu suất giảm ALT là 91,6% và AST là 94,2%, kết quả này tương đương với nhóm chuột uống silymarin. Nhóm chuột uống CCl<sub>4</sub> và uống cao LML liều 200 mg/kg trọng lượng chuột thì hàm lượng enzyme ALT và AST trong máu giảm thấp hơn ở liều 100 mg/kg trọng lượng chuột, hiệu suất giảm ALT và AST lần lượt là 93,5% và 98%. Ở nhóm chuột uống CCl<sub>4</sub> và uống cao LML liều 400 mg/kg trọng lượng chuột có tác dụng làm giảm hàm lượng enzyme ALT và AST hiệu quả nhất, hiệu suất giảm ALT là 95,2% và AST là 99%. So với kết quả nghiên cứu trên cao chiết ethanol Mỡ Leo (*Paederia scandens*) được khảo sát hiệu quả bảo vệ gan trên mô hình chuột được tiêm CCl<sub>4</sub>, ở nồng độ cao chiết 200 mg/kg có hiệu quả làm enzyme AST giảm 64% và đối với enzyme ALT giảm 65% và ở nồng độ 400mg/kg có hiệu quả làm enzyme AST giảm 82% và đối với enzyme ALT giảm 74% (Uddin *et al.*, 2011). Nghiên cứu khả năng bảo vệ gan khỏi tổn hại do D-galactosamin gây ra của cây Cóc mần (*Hedyotis corymbosa*) cho thấy, ở nồng độ 200 mg/kg, cao

chiết methanol cây Cóc mần có thể làm giảm 61% AST và 33% ALT (Gupta *et al.*, 2012). Từ kết quả trên, cao LML có khả năng làm giảm hàm lượng enzyme ALT và AST trong huyết thanh khá tốt, ở liều 400 mg/kg trọng lượng chuột có thể làm giảm hàm lượng enzyme ALT và AST về gần với nhóm chuột bình thường.

### 3.3 Kết quả quan sát mô bệnh học gan chuột thí nghiệm

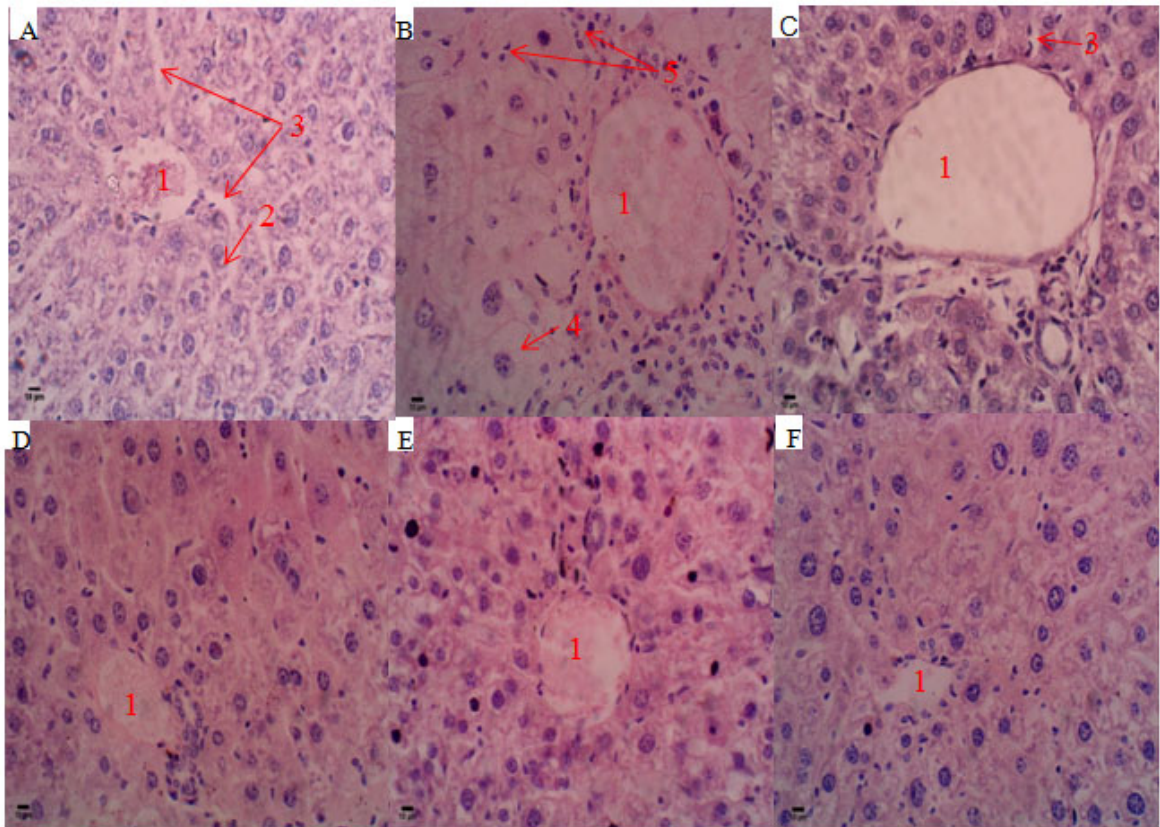
Phân tích mô bệnh học cung cấp bằng chứng bổ sung cho việc điều trị bằng cao chiết đã cải thiện được hình thái mô gan chuột gây độc bởi CCl<sub>4</sub>. Ở lát cắt gan chuột bình thường uống nước cất có các tế bào gan tròn đều xếp khít nhau tạo thành các dãy tế bào gan hướng tĩnh mạch trung tâm, nhìn rõ được xoang gan (Hình 2A).

Ở các lát cắt gan chuột uống CCl<sub>4</sub> (đối chứng bệnh) có sự thay đổi cấu trúc so với gan bình thường (Hình 2B). Nhiều tế bào gan bị tổn thương và mất đi cấu trúc đặc trưng. Tế bào gan tích trữ nhiều giọt lipid, tế bào trở nên trương phồng và nhiễm mỡ, màng của hai tế bào liên kề bị dính lại với nhau, dẫn đến không xác định được vị trí của xoang gan. Nhiều tổ chức thực bào quanh mạch và len lỏi giữa các tế bào. Ngược lại, các nghiệm thức uống CCl<sub>4</sub> và uống thêm silymarin hoặc cao chiết phục hồi được kiến trúc tế bào gan. Nhóm chuột uống CCl<sub>4</sub> và uống silymarin (Hình 2C) có các tế bào gan xếp thành dãy hướng tĩnh mạch, quan sát được xoang gan. Tế bào gan không trương phồng có nhân tròn đều. Các tổ chức thực bào giảm rõ rệt, tập trung chủ yếu quanh các cấu trúc mạch, chứng tỏ hiệu quả bảo vệ gan của silymarin.

Nhóm chuột uống CCl<sub>4</sub> và uống thêm cao LML liều 100, 200 và 400 mg/kg trọng lượng chuột đều có dấu hiệu phục hồi của tế bào gan. Đối với nhóm chuột uống CCl<sub>4</sub> được điều trị bằng cao LML liều 100 mg/kg trọng lượng chuột, trong gan các tế bào không nhân đã giảm cũng như các giọt lipid trong các tế bào đã giảm nhiều nhưng vẫn còn nhiều tổ

chức thực bào (Hình 2D). Ở nhóm chuột uống CCl<sub>4</sub> được điều trị bằng cao LML liều 200 mg/kg trọng lượng chuột, nhân tế bào gan tròn đều, giảm sự tích trữ các giọt lipid trong các tế bào, quan sát được hướng của các dây gan tỏa ra từ tĩnh mạch. Các tổ

chức thực bào đã giảm xuống đáng kể (Hình 2E). Ở nhóm chuột uống CCl<sub>4</sub> được điều trị bằng cao LML liều 400 mg/kg trọng lượng chuột, mô gan được cải thiện tương tự liều 200 mg/kg (Hình 2F).



**Hình 2: Vi phẫu gan ở các nhóm chuột thí nghiệm nhuộm Hematoxylin và Eosin được quan sát dưới kính hiển vi có độ phóng đại 400 lần**

1–Tĩnh mạch; 2–Dây tế bào gan; 3–Xoang gan; 4–Tế bào gan phồng to; 5–Tổ chức thực bào (A) Chuột bình thường; (B) Chuột đối chứng bệnh; (C) Chuột tổn thương gan uống silymarin; (D) Chuột tổn thương gan uống cao LML 100 mg/kg; (E) Chuột tổn thương gan uống cao LML 200 mg/kg; (F) Chuột tổn thương gan uống cao LML 400 mg/kg.

Từ các kết quả về hàm lượng enzyme AST, ALT trong huyết thanh chuột và cấu trúc vi thể mô gan chuột sau 4 tuần thí nghiệm, ở liều 200 và 400 mg/kg trọng lượng chuột, cao LML có khả năng bảo vệ gan chống lại các tổn thương trên gan chuột do CCl<sub>4</sub> gây ra tương đương thuốc bảo vệ gan silymarin liều 16 mg/kg trọng lượng.

#### 4 KẾT LUẬN

Các số liệu trong nghiên cứu này đã chứng minh rằng cao LML có khả năng bảo vệ gan chống lại tổn thương do CCl<sub>4</sub> gây ra khá tốt. Tại các nồng độ được khảo sát, cao LML đều cho thấy có khả năng làm giảm hàm lượng enzyme ALT, AST hiệu quả. Bên cạnh đó, việc sử dụng cao LML cũng giúp cải thiện được cấu trúc mô học gan chuột thí nghiệm.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Das, M., Boerma, M., Goree, J.R., *et al.*, 2014. Pathological changes in pulmonary circulation in carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)-induced cirrhotic mice. *PLOS ONE*. 9(4): e96043.
- Duong, T.P.L., Cao, T.K.H., Nguyen, T.H., Duong, X.C., Phan, T.B.T., and Ha, T.T., 2016. Hepatoprotective effect of silymarin on chronic hepatotoxicity in mice induced by carbon tetrachloride. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 5(5): 262–266.
- Đỗ Tất Lợi, 2004. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y Học Hà Nội.
- Gupta, R.K., Singh, R.K., Swain, S.R., Hussain, T., and Rao, C.V., 2012. Anti-hepatotoxic potential of *Hedyotis corymbosa* against D-galactosamine-induced hepatopathy in experimental rodents.

- Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2(3): 1542–1547.
- Huo, H.Z., Wang, B., Liang, Y.K., Bao, Y.Y., and Gu, Y., 2011. Hepatoprotective and antioxidant effects of licorice extract against CCl<sub>4</sub>-induced oxidative damage in rats. *International Journal of Molecular Sciences*. 12(10): 6529–6543.
- Jaishree, V., and Badami, S., 2010. Antioxidant and hepatoprotective effect of swertiamarin from *Enicostemma axillare* against D-galactosamine induced acute liver damage in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 130(1): 103–106.
- Kang, H., and Koppula, S., 2014. Hepatoprotective effect of *Houttuynia cordata* Thunb extract against carbon tetrachloride-induced hepatic damage in mice. *Indian Journal of Pharmaceutical Science*. 76(4): 267–273.
- Levy, C., Seeff, L.D., and Lindor, K.D., 2004. Use of herbal supplements for chronic liver disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2(11): 947–956.
- Li, S., Tan, H.Y., Wang, N., *et al.*, 2015. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. 16(11): 26087–26124.
- Liu, M., Zhou, L., Chen Z., and Hu, B.C., 2012. Analgesic effect of iridoid glycosides from *Paederia scandens* (Lour.) Merrill (Rubiaceae) on spared nerve injury rat model of neuropathic pain. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 102(3): 465–470.
- Ma, Y., Zhou, L.L., Yan, Y.H., and Liu, M., 2009. Effects of extracts from *Paederia scandens* (Lour.) Merrill (*Rubiaceae*) on MSU crystal-induced rats gouty arthritis. *The American Journal of Chinese Medicine*. 37(4): 669–683.
- Medina, J., Moreno, O., and Drugs, R., 2005. Pathophysiological basis for antioxidant therapy in chronic liver disease. *Drugs*. 65(17): 2445–2461.
- Nema, A.K., Agarwal, A., and Kashaw, V., 2011. Hepatoprotective activity of *Leptadenia reticulata* stems against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Indian Journal of Pharmacology*. 43(3): 254–257.
- Nguyễn Bảo Trân, Trần Quang Vinh, Nguyễn Ngọc Khôi, 2011. Tác dụng chống oxy hóa và bảo vệ gan của lá cây Chùm ngây (*Moringa oleifera* Lam. Moringaceae). *Tạp Chí Dược Học*-5/2011(số 421 năm 51).
- Phạm Hoàng Hộ, 2003. Cây cỏ Việt Nam (QIII). Nhà xuất bản Trẻ.
- Poli, G., 2000. Pathogenesis of liver fibrosis: Role of oxidative stress. *Molecular Aspects of Medicine*. 21: 49–98.
- Refaey, M.S., Mustafa, M.A.H., Mohamed, A.M., and Ali, A.A., 2015. Hepatoprotective and antioxidant activity of *Odontonema cuspidatum* (Nees) Kuntze against CCl<sub>4</sub>-induced hepatic injury in rats. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 4(2): 89-96.
- Saalu, L.C., Ogunlade, B., Ajayi, G.O., Oyewopo, A.O., Akunna, G.G., and Ogunmodede, O.S., 2012. The hepatoprotective potentials of *Moringa oleifera* leaf extract on alcohol-Induced hepatotoxicity in wistar rat. *American Journal of Biotechnology and Molecular Science*. 2(1): 6–14.
- Simeonova, R., Kondeva-Burdina M., Vitcheva V., and Mitcheva M., 2014. Some in vitro/in vivo chemically-induced experimental models of liver oxidative stress in rats. *BioMed Research International*. Volume 2014, Article ID 706302, 6 pages.
- Srivastava, S., and Choudhary, G.P., 2014. Pharmacognostic and pharmacological study of *Fumaria vaillantii* Loisel. A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 3(1): 194–197.
- Uddin, B., Nahar, T., Basunia, M.A., and Hossain, S., 2011. *Paederia foetida* protects liver against hepatotoxin-induced oxidative damage. *Advances in Biological Research*. 5(5): 267–272.
- Yang, T., Kong, B., Gu, W.J., *et al.*, 2013. Anticonvulsant and sedative effects of paederosidic acid isolated from *Paederia scandens* (Lour.) Merrill. in mice and rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 111: 97–101.
- Zhu, W., Pang, M., Dong, L., Huang, X., Wang, S., and Zhou, L., 2012. Anti-Inflammatory and immunomodulatory effects of iridoid glycosides from *Paederia scandens* (Lour.) Merrill (*Rubiaceae*) on uric acid nephropathy rats. *Life Sciences*. 91(11-12): 369–376.