

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC

BÁO CÁO TÓM TẮT
ĐỀ TÀI KHOA HỌC CÔNG NGHỆ CẤP ĐẠI HỌC

Tên đề tài:

Nghiên cứu tác dụng bảo vệ và phục hồi
tổn thương gan của quả Dứa dại
(*Pandanus odoratissimus* L.f) trên thực nghiệm

Mã số: ĐH2015-TN05-02

Chủ nhiệm đề tài: ThS Hoàng Thái Hoa Cương

Thái Nguyên, tháng 6 năm 2019

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC

BÁO CÁO TÓM TẮT
ĐỀ TÀI KHOA HỌC CÔNG NGHỆ CẤP ĐẠI HỌC

Tên đề tài:

**Nghiên cứu tác dụng bảo vệ và phục hồi
tổn thương gan của quả Dứa dại
(*Pandanus odoratissimus L.f*) trên thực nghiệm**

Mã số: ĐH2015-TN05-02

Xác nhận của tổ chức chủ trì
(ký, họ tên, đóng dấu)

Chủ nhiệm đề tài

ThS Hoàng Thái Hoa Cương

DANH SÁCH NHỮNG THÀNH VIÊN THAM GIA
NGHIÊN CỨU ĐỀ TÀI VÀ ĐƠN VỊ PHỐI HỢP CHÍNH

1. Các thành viên tham gia

| ST T | Họ và tên | Đơn vị công tác và lĩnh vực chuyên môn | Nhiệm vụ được giao |
|-----------------|---------------------------|--|-------------------------------|
| 1 | ThS. Hoàng Thái Hoa Cương | Bộ môn Dược lâm sàng, Trường ĐH Y Dược, ĐHTN | Chủ nhiệm kiêm thư ký |
| 2 | PGS. TS Vũ Thị Ngọc Thanh | Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội | Nghiên cứu viên |
| 3 | PGS.TS Phạm Thị Vân Anh | Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội | Nghiên cứu viên |

2. Đơn vị phối hợp chính

Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội.

MỤC LỤC

| | |
|--|------|
| Danh mục bảng biểu | iii |
| Danh mục các hình vẽ | iv |
| Danh mục các chữ viết tắt | v |
| Thông tin kết quả nghiên cứu | vi |
| Information on research results | viii |
| I. MỞ ĐẦU | 1 |
| 1. Tính cấp thiết của vấn đề nghiên cứu | 1 |
| 2. Mục tiêu nghiên cứu | 2 |
| II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU | 2 |
| 2.1. Đối tượng nghiên cứu | 2 |
| 2.1.1. Thuốc nghiên cứu | 2 |
| 2.1.2. Động vật thực nghiệm | 2 |
| 2.1.3. Thuốc, hóa chất và máy móc phục vụ nghiên cứu | 2 |
| 2.2. Phương pháp nghiên cứu: | 3 |
| 2.2.1. Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan | 3 |
| 2.2.2. Nghiên cứu tác dụng làm tăng phục hồi tổn thương gan: | 3 |
| 2.3. Xử lý số liệu | 4 |
| III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU | 4 |
| 3.1. Tác dụng bảo vệ gan | 4 |
| 3.2. Tác dụng làm tăng phục hồi tổn thương gan | 6 |
| 3.2.1. Sau gây độc bằng PAR 2 ngày | 6 |
| 3.2.2. Sau gây độc bằng PAR 4 ngày | 8 |
| IV. BÀN LUẬN | 10 |
| 4.1. Tác dụng bảo vệ gan: | 10 |
| 4.2. Tác dụng làm tăng phục hồi tổn thương gan | 11 |
| V. KẾT LUẬN | 13 |

DANH MỤC CÁC BẢNG BIỂU

| | |
|---|----|
| Bảng 1. Ảnh hưởng của CTP và PĐE lên hoạt độ AST, ALT trong huyết thanh chuột bị gây độc bằng PAR | 33 |
| Bảng 2. Ảnh hưởng của CTP và PĐE lên hình ảnh mô bệnh học của gan chuột | 35 |
| Bảng 3. Ảnh hưởng của CTP và PĐE lên hoạt độ AST và ALT trong huyết thanh chuột sau gây độc bằng PAR 2 ngày | 36 |
| Bảng 4. Ảnh hưởng của CTP và PĐE lên hình ảnh mô bệnh học của gan chuột sau gây độc bằng PAR 2 ngày | 37 |
| Bảng 5. Ảnh hưởng của CTP và PĐE lên hoạt độ AST và ALT trong huyết thanh chuột sau gây độc bằng PAR 4 ngày | 43 |
| Bảng 6. Ảnh hưởng của CTP và PĐE lên hình ảnh mô bệnh học của gan chuột sau gây độc bằng PAR 4 ngày | 44 |

DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ

| | |
|--|----|
| Hình 1. Sơ đồ nghiên cứu | 30 |
| Hình 2: Đại thể gan chuột Lô 1 (chứng sinh học)..... | 38 |
| Hình 3: Đại thể gan chuột Lô 2 (Mô hình – Gây độc nhưng không dùng thuốc) | 39 |
| Hình 4: Đại thể gan chuột Lô 3 (Silymarin) | 39 |
| Hình 5: Đại thể gan chuột Lô 4 (CTP)..... | 40 |
| Hình 6: Đại thể gan chuột Lô 5 (PĐE)..... | 40 |
| Hình 7: Hình ảnh vi thể gan chuột số 1 lô chứng sinh học (Gan thoái hóa nhẹ, bào tương tế bào gan có ít hốc sáng nhỏ)..... | 41 |
| Hình 8: Hình ảnh vi thể gan chuột số 15 lô mô hình (Gan có thoái hóa nặng kèm theo hoại tử tế bào gan, xen kẽ có các vùng hoại tử chảy máu, có xâm nhập viêm) | 41 |
| Hình 9: Hình ảnh vi thể gan chuột số 29 lô 3 (Có hình ảnh gan thoái hóa vừa, bào tương tế bào gan có nhiều hốc sáng nhỏ, nhân tế bào không đều) | 42 |
| Hình 10: Hình ảnh vi thể gan chuột số 44 lô 4 (Bào tương tế bào gan có ít hốc sáng nhỏ, gan thoái hóa nhẹ)..... | 42 |
| Hình 11: Hình ảnh vi thể gan chuột số 46 lô 5 (Bào tương tế bào gan có ít hốc sáng nhỏ, gan thoái hóa nhẹ)..... | 43 |

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

| | |
|-------|-----------------------------|
| AST | Aspartat aminotransferase |
| ALT | Alanin aminotransferase |
| CTP | Cao toàn phần |
| PDE | Phân đoạn ethyl acetat |
| PAR | Paracetamol |
| CYP | Cytochrom P450 |
| NAPQI | N-acetyl-p-benzoquinoneimin |

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC

THÔNG TIN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Thông tin chung:

- Tên đề tài: Nghiên cứu tác dụng bảo vệ và phục hồi tổn thương gan của quả Dứa dại (*Pandanus odoratissimus L.f*) trên thực nghiệm.
- Mã số: ĐH2015-TN05-02
- Chủ nhiệm đề tài: ThS. Hoàng Thái Hoa Cương
- Tổ chức chủ trì: Trường Đại học Y Dược – Đại học Thái Nguyên
- Thời gian thực hiện: **24 tháng** (Từ tháng 1/2015 đến tháng 12/2016)

2. Mục tiêu:

- Đánh giá tác dụng bảo vệ tổn thương gan gây ra bởi paracetamol trên chuột nhất trắng của quả Dứa dại.
- Đánh giá tác dụng phục hồi tổn thương gan gây ra bởi paracetamol trên chuột nhất trắng của quả Dứa dại.

3. Tính mới và sáng tạo:

Đề tài tập trung vào nghiên cứu phát triển chế phẩm mới từ thảo dược, tăng cơ hội lựa chọn cho người bệnh, giảm chi phí trong điều trị, giảm các ảnh hưởng bất lợi từ những phương pháp điều trị theo y học hiện đại.

4. Kết quả nghiên cứu:

CTP và PĐE chiết xuất từ quả dứa dại với hai liều tương đương 7,2g dược liệu/kg và 14,4g dược liệu/kg có tác dụng bảo vệ gan và làm tăng phục hồi tổn thương gan trên mô hình gây tổn thương gan bằng PAR ở chuột nhất trắng.

5. Sản phẩm:

- a, Sản phẩm khoa học:** 2 bài báo đăng trên tạp chí khoa học

- Hoàng Thái Hoa Cương, Vũ Thị Ngọc Thanh, Nguyễn Duy Thuận, (2016), “Tác dụng bảo vệ và phục hồi tổn thương gan của quả dứa dại trên thực nghiệm”, *Tạp chí Y học thực hành*, (1005), tr. 709 - 714.

- Hoàng Thái Hoa Cương, Vũ Thị Ngọc Thanh, Nguyễn Duy Thuận, (2017), “Tác dụng bảo vệ gan của quả dứa dại trên thực nghiệm”, *Tạp chí Y học thực hành*, (1062), tr.60.

b, Sản phẩm đào tạo: 02 chuyên đề trong luận án tiến sĩ của chủ nhiệm đề tài:

- Chuyên đề 1: *Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan của quả dứa dại trên động vật thực nghiệm*, Quyết định số 1859/QĐ-ĐHYD ngày 05/10/2016 của Trường Đại học Y Dược về việc thành lập Hội đồng nghiệm thu chuyên đề số 1 thuộc đề tài cấp Đại học, Biên bản họp Hội đồng đánh giá nghiệm thu ngày 10/10/2016;

- Chuyên đề 2: *Nghiên cứu tác dụng phục hồi tổn thương gan của quả dứa dại trên động vật thực nghiệm*, Quyết định số 1860/QĐ-ĐHYD ngày 05/10/2016 của Trường Đại học Y Dược về việc thành lập Hội đồng nghiệm thu chuyên đề số 2 thuộc đề tài cấp Đại học, Biên bản họp Hội đồng đánh giá nghiệm thu ngày 10/10/2016;

6. Phương thức chuyển giao, địa chỉ ứng dụng, tác động và lợi ích mang lại của kết quả nghiên cứu:

- Hỗ trợ số liệu cho luận án nghiên cứu sinh.

- Chứng minh tác dụng bảo vệ tế bào gan và làm tăng phục hồi tổn thương gan trên thực nghiệm của quả Dứa dại. Làm tiền đề cho các nghiên cứu ở các pha tiếp theo, tiến tới sản xuất thuốc có tác dụng điều trị các bệnh gan sử dụng cho bệnh nhân.

Ngày 20 tháng 6 năm 2019

Tổ chức chủ trì

(ký, họ và tên, đóng dấu)

Chủ nhiệm đề tài

ThS. Hoàng Thái Hoa Cương

INFORMATION ON RESEARCH RESULTS

1. General information:

- Project title: Research hepatoprotective and recovery liver injury effects of *Pandanus odoratissimus* L.f. fruit in experimental animal
- Code number: ĐH2015-TN05-02
- Coordinator: MS. Hoang Thai Hoa Cuong
- Implementing institution: Thai Nguyen university of medicine and pharmacy
- Duration: from 1/2015 to 12/2016

2. Objectives:

- Evaluating the hepatoprotective effect of *Pandanus odoratissimus* L.f. fruit in the liver damage induced by PAR in mice experiment.
- Evaluating the recovery liver injury effects of *Pandanus odoratissimus* L.f. fruit in the liver damage induced by PAR in mice experiment.

3. Creativeness and innovativeness:

The research focuses on the development of new preparation from herbal, increasing the choice of patients, reducing the cost of treatment, and reducing the adverse effects of modern medical treatments.

4. Research results:

TE and EAE of *Pandanus odoratissimus* L.f. fruit with doses 7.2 and 14.4 g/kg have been shown to have hepatoprotective effect and accelerated the recovery of liver injury in the acute liver injury model induced by paracetamol in mice.

5. Products:

- a, Scientific products): 2 articles published in scientific journals
- Hoàng Thái Hoa Cường, Vũ Thị Ngọc Thanh, Nguyễn Duy Thuần (2016): "Hepatoprotective and recovery liver injury effects of *Pandanus*

odoratissimusL.f. in experimental animal”, Journal of practical medicine, (1005) , pp. 709 - 714.

- Hoàng Thái Hoa Cương, Vũ Thị Ngọc Thanh, Nguyễn Duy Thuần (2017): “Hepatoprotective effects of Pandanus odoratissimusL.f. in experimental animal”, Journal of practical medicine?, (1062), pp. 60.

b, Training products: 02 topics in the doctoral thesis of the project manager:

- Topic 1: “*Hepatoprotective effects of Pandanus odoratissimusL.f. in experimental animal*”, Decision No. 1859 / QD-DHYD dated October 5, 2016 of the University of Medicine and Pharmacy on the establishment of the Acceptance Council Thematic No. 1 of the University level project, Minutes of the Evaluation Council meeting on October 10, 2016;

- Topic 2: “*Study on the effect of restoring liver damage of Pandanus odoratissimusL.f. in experimental animals*”, Decision No. 1860 / QD-DHYD dated October 5, 2016 of the University of Medicine and Pharmacy on the establishment of the Council acceptance of subject No. 2 of the University-level subject, Minutes of the Evaluation Council meeting on October 10, 2016;

6. Transfer alternatives, application institutions, impacts and benefits of research results:

- Support for training 01 doctoral students

- Proving the effect of protecting liver cells and increasing the recovery of liver damage of Pandanus odoratissimusL.f. As a premise for studies in the next phase, proceed to produce drugs that can treat liver diseases used for patients.

I. MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của vấn đề nghiên cứu

Ở Việt Nam, bệnh gan mật, trong đó có viêm gan là một trong những bệnh phổ biến, hay gặp nhất là viêm gan do virus. Viêm gan do nhiễm độc thuốc hoặc hoá chất cũng thường gặp, đặc biệt viêm gan do dùng thuốc chống lao và paracetamol có xu hướng ngày càng gia tăng. Tình trạng viêm gan kéo dài không được điều trị sẽ dẫn đến viêm gan mạn tính, xơ gan....

Một số thuốc bảo vệ tế bào gan được sử dụng nhiều trên lâm sàng như silymarin (Legalon), biphenyl dimethyl dicarboxylat (Fortex)... chủ yếu là các sản phẩm nhập ngoại, giá thành cao, không phù hợp với điều kiện kinh tế của đa số người bệnh khi phải điều trị lâu dài.

Trong dân gian có rất nhiều các vị thuốc có tác dụng nhuận gan, lợi mật đã được sử dụng từ lâu. Chính vì vậy, việc sưu tầm, tìm kiếm, nghiên cứu các vị thuốc từ nguồn dược liệu sẵn có trong nước, có tác dụng bảo vệ và phục hồi tổn thương gan nhưng an toàn, giá thành phù hợp luôn là vấn đề cần thiết hiện nay.

Dứa dại là cây mọc hoang ở nhiều nơi. Trong dân gian thường dùng lá, hoa, quả và rễ dứa dại làm thuốc chữa một số bệnh như đái tháo đường, tiểu tiện không thông, chảy máu chân răng, sỏi, nhọt độc, bệnh trĩ... Riêng quả dứa dại có thể dùng riêng hoặc kết hợp với một số thảo dược khác để điều trị viêm gan.

Hiện nay trên thị trường quả dứa dại được bán và dùng khá phổ biến. Theo kinh nghiệm dân gian, quả dứa dại thái phơi khô, mỗi ngày 20 – 30 gam sắc nước uống để điều trị các bệnh về gan. Trên thế giới đã có một số nghiên cứu về dứa dại, nhưng ở trong nước cho đến nay chưa có nghiên cứu nào đánh giá về tác dụng điều trị bệnh gan của quả dứa dại trồng ở Việt Nam. Vì vậy chúng tôi tiến hành nghiên cứu này để chứng minh cơ sở khoa học của sử dụng quả dứa dại trong điều trị các bệnh về gan theo kinh nghiệm dân gian. Bên cạnh đánh giá tác dụng của dạng *cao toàn phần*, phân đoạn ethyl acetat - *phân đoạn hoạt chất chính* trong quả dứa dại cũng được chiết xuất và đánh giá tác dụng, để hướng tới khả năng có thể sử dụng dạng thuốc chứa hoạt chất tinh khiết hơn, sử dụng thuận tiện hơn để điều trị bệnh viêm gan từ nguồn dược liệu sẵn có, rẻ tiền trong nước.

2. Mục tiêu nghiên cứu

Đề tài được tiến hành với 2 mục tiêu sau:

a. *Đánh giá tác dụng bảo vệ tổn thương gan gây ra bởi paracetamol trên chuột nhắt trắng của quả Dứa dại.*

b. *Đánh giá tác dụng phục hồi tổn thương gan gây ra bởi paracetamol trên chuột nhắt trắng của quả Dứa dại.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Thuốc nghiên cứu

Cao toàn phần (CTP) và phân đoạn ethyl acetat (PĐE) chiết xuất từ quả dứa dại (*Pandanus odoratissimus* L.f) do PGS.TS Nguyễn Duy Thuận –Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam cung cấp.

Vì CTP và PĐE không tan hoàn toàn trong nước, nên phải pha CTP và PĐE trong dầu olive cho tan hoàn toàn để cho chuột uống.

2.1.2. Động vật thực nghiệm

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, cả 2 giống, khoẻ mạnh, trọng lượng $25,0 \pm 2,0$ gam, do Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương cung cấp.

2.1.3. Thuốc, hóa chất và máy móc phục vụ nghiên cứu

- Paracetamol (Biệt dược Efferalgan) dạng viên sủi, hàm lượng 500 mg của hãng BRISTOL-MYERS SQUIBB.

- Silymarin (biệt dược Legalon) dạng viên nén, hàm lượng 70mg của hãng Madaus (Korea).

- Kít định lượng ALT, AST của hãng Hospitex Diagnostics (Italy).

- Các hóa chất làm tiêu bản mô bệnh học đạt tiêu chuẩn thí nghiệm do Trung tâm nghiên cứu phát hiện sớm Ung thư – Liên hiệp các Hội khoa học và kỹ thuật Việt Nam cung cấp.

- Máy xét nghiệm sinh hóa máu XC-55 Chemistry Analyzer của hãng Meikang medical (Trung quốc).

2.2. Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm có đối chứng.

2.2.1. Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 7 lô, mỗi lô 10 con:

Lô 1 (chứng sinh học): uống dầu olive

Lô 2 (mô hình viêm gan): uống dầu olive + uống PAR

Lô 3 (chứng dương): uống silymarin (70 mg/kg/ngày) + uống PAR

Lô 4 (CTP liều 1): uống CTP liều tương đương 7,2g dược liệu khô/kg/ngày + uống PAR
(*Liều có tác dụng tương đương trên người, tính theo hệ số 12*)

Lô 5 (CTP liều 2): uống CTP liều tương đương 14,4g dược liệu khô/kg/ngày+ uống PAR

Lô 6 (PĐE liều 1): uống PĐE liều tương đương 7,2g dược liệu khô/kg/ngày+ uống PAR

Lô 7(PĐE liều 2): uống PĐE liều tương đương 14,4g dược liệu khô/kg/ngày+uống PAR

Chuột được uống dầu olive hoặc các thuốc thử liên tục trong 8 ngày. Ngày thứ 8, sau uống thuốc 1 giờ, chuột được nhịn đói 16 - 18 giờ trước đó, gây tổn thương gan ở các lô từ lô 2 đến lô 7 bằng uống PAR liều 400mg/kg, với thể tích 0,2ml/10g. 48 giờ sau gây độc bằng paracetamol, lấy máu động mạch cảnh của chuột để xác định hoạt độ AST, ALT, đồng thời lấy gan để quan sát đại thể và làm tiêu bản mô bệnh học.

2.2.2. Nghiên cứu tác dụng làm tăng phục hồi tổn thương gan:

Chuột nhắt trắng được chia thành 9 lô, mỗi lô 10 con. Gây tổn thương gan chuột bằng uống PAR liều 400mg/kg, với thể tích 0,2ml/10g. Sau khi uống PAR 1 giờ, cho chuột uống dầu olive hoặc thuốc thử tương ứng với từng lô như sau:

Lô 1 (chứng sinh học): uống dầu olive

Lô 2 (mô hình viêm gan): uống PAR + uống dầu olive

Lô 3 (chứng dương): uống PAR + uống silymarin 70 mg/kg/ngày

Lô 4 (CTP): uống PAR + CTP liều tương đương với 7,2g dược liệu khô/kg/ngày.

Lô 5 (PĐE): uống PAR + PĐEliều tương đương với 7,2g dược liệu khô/kg/ngày.

Lô 6 (mô hình viêm gan): uống PAR + uống dầu olive

Lô 7 (chứng dương): uống PAR + uống silymarin 70 mg/kg/ngày

Lô 8 (CTP): uống PAR + CTP liều tương đương với 7,2g dược liệu khô/kg/ngày.

Lô 9 (PĐE): uống PAR + PĐEliều tương đương với 7,2g dược liệu khô/kg/ngày.

Chuột ở các lô 1 (5 con), 2,3,4 và 5 được uống dầu olive hoặc thuốc thử trong 2 ngày.
Chuột ở các lô 1 (5 con), 6,7,8 và 9 được uống dầu olive hoặc thuốc thử trong 4 ngày.

Sau 2 hoặc 4 ngày uống thuốc, giết chuột, lấy máu động mạch cảnh để xác định hoạt độ AST, ALT, lấy gan để quan sát đại thể và làm tiêu bản mô bệnh học.

2.3. Xử lý số liệu

Các số liệu nghiên cứu được xử lý thống kê theo phương pháp t - test Student. Sự khác biệt có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tác dụng bảo vệ gan

Bảng 1: Ảnh hưởng của CTP và PDE lên hoạt độ AST, ALT trong huyết thanh chuột bị gây độc bằng PAR

| Lô thí nghiệm | n | AST (UI/L) | | ALT (UI/L) | |
|--------------------------|----|----------------------|---|----------------------|--|
| | | ($\bar{X} \pm SD$) | p | ($\bar{X} \pm SD$) | p |
| Lô 1 (chứng sinh học) | 10 | 206,0 ± 14,2 | | 58,4 ± 8,0 | |
| Lô 2 (mô hình) | 10 | 328,4 ± 31,8 | p₂₋₁ < 0,001 | 240,5 ± 68,0 | p₂₋₁ < 0,001 |
| Lô 3 (silymarin) | 10 | 225,1 ± 27,3 | p ₃₋₁ > 0,05 p₃₋₂ < 0,001 | 116,9 ± 30,3 | p₃₋₁ < 0,001 p₃₋₂ < 0,001 |
| Lô 4 (CTP liều 1) | 10 | 235,1 ± 22,9 | p₄₋₁ < 0,01 p₄₋₂ < 0,001 p ₄₋₃ > 0,05 | 95,9 ± 24,2 | p₄₋₁ < 0,001 p₄₋₂ < 0,001 p ₄₋₃ > 0,05 |
| Lô 5 (CTP liều 2) | 10 | 232,8 ± 36,7 | p₅₋₁ < 0,05 p₅₋₂ < 0,001 p ₅₋₃ > 0,05 p ₅₋₄ > 0,05 | 106,6 ± 21,6 | p₅₋₁ < 0,001 p₅₋₂ < 0,001 p ₅₋₃ > 0,05 p ₅₋₄ > 0,05 |

| | | | | | |
|--------------------------------|----|---------------------|---|---------------------|--|
| Lô 6 (PĐE liều 1) | 10 | 208,4 ± 33,4 | $p_{6-1} > 0,05$ $p_{6-2} < 0,001$ $p_{6-3} > 0,05$ $p_{6-4} > 0,05$ | 93,1 ± 20,9 | $p_{6-1} < 0,001$ $p_{6-2} < 0,001$ $p_{6-3} > 0,05$ $p_{6-4} > 0,05$ |
| Lô 7 (PĐE liều 2) | 10 | 216,6 ± 33,1 | $p_{7-1} > 0,05$ $p_{7-2} < 0,001$ $p_{7-3} > 0,05$ $p_{7-5} > 0,05$ $p_{7-6} > 0,05$ | 100,8 ± 29,4 | $p_{7-1} < 0,001$ $p_{7-2} < 0,001$ $p_{7-3} > 0,05$ $p_{7-5} > 0,05$ $p_{7-6} > 0,05$ |

Kết quả ở bảng 1 cho thấy:

- Hoạt độ AST và ALT ở lô mô hình gây độc bằng PAR tăng cao rõ rệt so với lô chứng sinh học ($p_{2-1} < 0,001$).

- Uống CTP, PĐE hoặc silymarin 8 ngày trước khi gây độc bằng PAR đã làm giảm rõ rệt hoạt độ AST và ALT so với lô 2 (lô gây độc nhưng không dùng thuốc) ($p < 0,001$).

- Tác dụng của 2 liều CTP và PĐE đã dùng tương đương nhau và tương đương với thuốc silymarin ($p > 0,05$).

- Với liều dùng bằng nhau, CTP và PĐE có tác dụng tương đương nhau ($p_{6-4} > 0,05$; $p_{7-5} > 0,05$).

Bảng 2: Ảnh hưởng của CTP và PĐE lên hình ảnh mô bệnh học của gan chuột.

| Lô thí nghiệm | Đại thể | Vi thể |
|------------------------------|--|--|
| Lô 1 (chứng sinh học) | Gan màu đỏ, mặt nhẵn, mật độ mềm, không phù nề, không sung huyết | 2/3 mẫu bệnh phẩm cấu trúc vi thể gan bình thường , 1/3 mẫu bệnh phẩm gan thoái hóa nhẹ , bào tương tế bào gan có ít hốc sáng nhỏ. |
| Lô 2 (mô hình) | Gan phù nề, sung huyết, nhạt màu, bề mặt gan | Các mẫu bệnh phẩm có hình ảnh gan thoái hóa nặng , bào tương tế bào gan có |

| | | |
|-----------------------------|---|---|
| | không nhăn, có nhiều chấm xuất huyết. | nhiều hốc sáng lớn và nhỏ. Một số tế bào mất nhân. |
| Lô 3 (silymarin) | Gan màu đỏ, sung huyết nhẹ, rải rác có vài điểm tổn thương. | Các mẫu bệnh phẩm có hình ảnh gan thoái hóa vừa , bào tương tế bào gan có các hốc sáng nhỏ . |
| Lô 4 (CTP liều 1) | Gan màu đỏ, sung huyết nhẹ, rải rác có vài điểm tổn thương. | Các mẫu bệnh phẩm có hình ảnh gan thoái hóa mức độ vừa . |
| Lô 5 (CTP liều 2) | Gan màu đỏ, sung huyết nhẹ, rải rác có vài điểm tổn thương. | Các mẫu bệnh phẩm có hình ảnh gan thoái hóa mức độ vừa . |
| Lô 6 (PĐE liều 1) | Gan màu đỏ, sung huyết nhẹ, không thấy rõ tổn thương trên bề mặt. | 1/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh gan thoái hóa nặng , 1/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh gan thoái hóa vừa , 1/3 mẫu bệnh phẩm gan thoái hóa nhẹ . |
| Lô 7 (PĐE liều 2) | Gan màu đỏ, sung huyết nhẹ, không thấy rõ tổn thương trên bề mặt. | 2/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh gan thoái hóa vừa , 1/3 mẫu bệnh phẩm gan thoái hóa nhẹ . |

3.2. Tác dụng làm tăng phục hồi tổn thương gan

3.2.1. Sau gây độc bằng PAR 2 ngày

Bảng 3: Ảnh hưởng của CTP và PĐE lên hoạt độ AST và ALT trong huyết thanh chuột sau gây độc bằng PAR 2 ngày

| Lô thí nghiệm | n | AST (UI/L) | | ALT (UI/L) | |
|---------------------------------|---|----------------------|---|----------------------|---|
| | | ($\bar{X} \pm SD$) | p | ($\bar{X} \pm SD$) | p |
| Lô 1 (chứng sinh học) | 5 | 108,0 ± 14,6 | | 48,4 ± 6,4 | |

| | | | | | |
|----------------------------|----|----------------------|--|---------------------|---|
| Lô 2 (mô hình) | 10 | 442,0 ± 143,0 | p₂₋₁ < 0,001 | 286,3 ± 90,2 | p₂₋₁ < 0,001 |
| Lô 3 (silymarin) | 10 | 221,1 ± 40,7 | p₃₋₁ < 0,001 p₃₋₂ < 0,001 | 117,3 ± 35,8 | p₃₋₁ < 0,01 p₃₋₂ < 0,001 |
| Lô 4 (CTP) | 10 | 238,4 ± 74,3 | p₄₋₁ < 0,01 p₄₋₂ < 0,001 p ₄₋₃ > 0,05 | 120,4 ± 40,7 | p₄₋₁ < 0,01 p₄₋₂ < 0,001 p ₄₋₃ > 0,05 |
| Lô 5 (PĐE) | 10 | 205,9 ± 33,4 | p₅₋₁ < 0,001 p₅₋₂ < 0,001 p ₅₋₃ > 0,05 p ₅₋₄ > 0,05 | 94,1 ± 30,0 | p₅₋₁ < 0,01 p₅₋₂ < 0,001 p ₅₋₃ > 0,05 p ₅₋₄ > 0,05 |

Kết quả ở bảng 3 cho thấy:

- Sau 2 ngày gây độc bằng PAR, hoạt độ AST và ALT ở lô mô hình gây độc bằng PAR tăng cao rõ rệt so với lô chứng sinh học (p₂₋₁ < 0,001).

- Các lô uống CTP, PĐE và silymarin có tác dụng làm giảm rõ rệt hoạt độ AST và ALT so với lô 2 (p < 0,001) nhưng vẫn tăng cao so với lô chứng sinh học (p < 0,01).

- Tác dụng làm giảm hoạt độ AST và ALT của các lô uống thuốc thử và uống silymarin tương đương nhau, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

Bảng 4: Ảnh hưởng của CTP và PĐE lên hình ảnh mô bệnh học của gan chuột sau gây độc bằng PAR 2 ngày

| Lô thí nghiệm | Đại thể | Vi thể |
|---------------------------------|---|--|
| Lô 1 (chứng sinh học) | Gan màu đỏ, mặt nhẵn, mật độ mềm, không phù nề, không sung huyết. | 2/3 mẫu bệnh phẩm cấu trúc vi thể gan bình thường, 1/3 mẫu bệnh phẩm gan thoái hóa nhẹ , bào tương tế bào gan có ít hóc sáng nhỏ. |
| Lô 2 | Gan phù nề, sung huyết, | 2/3 mẫu bệnh phẩm có thoái hóa nặng kèm |

| | | |
|----------------------------|---|--|
| (mô hình) | nhạt màu, bề mặt gan không nhẵn, có nhiều ổ hoại tử, các chấm xuất huyết. | theo hoại tử tế bào gan, xen kẽ có các vùng hoại tử chảy máu, có xâm nhập viêm. 1/3 mẫu bệnh phẩm gan thoái hóa vừa , bào tương tế bào gan có khá nhiều hóc sáng nhỏ. |
| Lô 3 (silymarin) | Gan phù nề, sung huyết nhẹ, bề mặt gan có một vài chấm xuất huyết. | Các mẫu bệnh phẩm có hình ảnh gan thoái hóa vừa , bào tương tế bào gan có nhiều hóc sáng nhỏ. Nhân tế bào không đều, có xâm nhập viêm ở khoảng cửa. |
| Lô 4 (CTP) | Gan màu đỏ, sung huyết nhẹ, rải rác có một số điểm tổn thương. | 1/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh gan thoái hóa nặng , 1/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh gan thoái hóa vừa , 1/3 mẫu bệnh phẩm gan thoái hóa nhẹ . |
| Lô 5 (PĐE) | Gan màu đỏ, sung huyết nhẹ, không thấy rõ tổn thương trên bề mặt. | 1/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh gan thoái hóa mức độ vừa , 2/3 mẫu bệnh phẩm gan thoái hóa nhẹ . |

3.2.2. Sau gây độc bằng PAR 4 ngày

Bảng 5: Ảnh hưởng của CTP và PĐE lên hoạt độ AST và ALT trong huyết thanh chuột sau gây độc bằng PAR 4 ngày.

| Lô thí nghiệm | n | AST (UI/L) | | ALT (UI/L) | |
|---------------------------------|----|----------------------|--|----------------------|--|
| | | ($\bar{X} \pm SD$) | p | ($\bar{X} \pm SD$) | p |
| Lô 1 (chúng sinh học) | 5 | 111,0 ± 12,5 | | 49,6 ± 2,7 | |
| Lô 2 (mô hình) | 10 | 197,3 ± 24,7 | p₂₋₁ < 0,001 | 108,2 ± 17,1 | p₂₋₁ < 0,001 |
| Lô 3 (silymarin) | 10 | 132,0 ± 35,7 | p ₃₋₁ > 0,05 p₃₋₂ < 0,001 | 54,3 ± 6,7 | p ₃₋₁ > 0,05 p₃₋₂ < 0,001 |

| | | | | | |
|----------------------|----|---------------------|--|-------------------|---|
| 67mg/kg) | | | | | |
| Lô 4 (CTP) | 10 | 144,2 ± 28,0 | p₄₋₁ < 0,05 p₄₋₂ < 0,001 p ₄₋₃ > 0,05 | 56,7 ± 7,4 | p ₄₋₁ > 0,05 p₄₋₂ < 0,001 p ₄₋₃ > 0,05 |
| Lô 5 (PĐE) | 10 | 130,6 ± 22,5 | p ₅₋₁ > 0,05 p₅₋₂ < 0,001 p ₅₋₃ > 0,05 p ₅₋₄ > 0,05 | 53,7 ± 4,6 | p ₅₋₁ > 0,05 p₅₋₂ < 0,001 p ₅₋₃ > 0,05; p ₅₋₄ > 0,05 |

Kết quả ở bảng 5 cho thấy:

- Sau gây độc bằng PAR 4 ngày, hoạt độ AST và ALT ở lô mô hình gây độc bằng PAR (lô 2) vẫn tăng cao rõ rệt so với lô chứng sinh học ($p < 0,001$).

- Các lô uống thuốc thử CTP, PĐE và silymarin có tác dụng làm giảm rõ rệt hoạt độ AST và ALT so với lô 2 ($p < 0,001$), trở về giá trị tương đương với lô chứng sinh học ($p > 0,05$).

- Tác dụng làm giảm hoạt độ AST và ALT của các lô uống thuốc thử CTP, PĐE và silymarin tương đương nhau, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 6: Ảnh hưởng của CTP và PĐE lên hình ảnh mô bệnh học của gan chuột sau gây độc bằng PAR 4 ngày

| Lô thí nghiệm | Đại thể | Vi thể |
|---------------------------------|---|--|
| Lô 1 (chứng sinh học) | Gan màu đỏ, mặt nhẵn, mật độ mềm, không phù nề, không sung huyết. | 2/3 mẫu bệnh phẩm cấu trúc vi thể gan bình thường, 1/3 mẫu bệnh phẩm gan thoái hóa nhẹ , bào tương tế bào gan có ít hốc sáng nhỏ. |
| Lô 2 (mô hình) | Gan phù nề, sung huyết nhẹ, bề mặt gan có một số chấm xuất huyết. | 2/3 mẫu bệnh phẩm có thoái hóa vừa , bào tương tế bào gan có khá nhiều hốc sáng nhỏ. 1/3 mẫu bệnh phẩm gan thoái hóa nhẹ |

| | | |
|----------------------------|---|---|
| Lô 3 (silymarin) | Gan màu đỏ, không thấy rõ tổn thương trên bề mặt. | 2/3 mẫu bệnh phẩm cấu trúc vi thể gan bình thường , 1/3 mẫu bệnh phẩm gan thoái hóa nhẹ . |
| Lô 4 (CTP) | Gan màu đỏ, không thấy rõ tổn thương trên bề mặt. | 1/3 mẫu bệnh phẩm cấu trúc vi thể gan bình thường , 2/3 mẫu bệnh phẩm gan thoái hóa nhẹ . |
| Lô 5 (PĐE) | Gan màu đỏ, không thấy rõ tổn thương trên bề mặt. | Các mẫu bệnh phẩm có hình ảnh gan thoái hóa nhẹ . |

IV. BÀN LUẬN

Quả dứa dại từ lâu đã được sử dụng theo kinh nghiệm dân gian để chữa các bệnh về gan với liều khoảng 30g quả phơi khô/ngày sắc nước uống. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng 2 dạng thuốc thử chiết xuất từ quả dứa dại là *cao toàn phần* (CTP) và phân đoạn ethyl acetate (PĐE) - *phân đoạn hoạt chất chính* trong quả dứa dại, với hy vọng nếu nhóm hoạt chất này là thành phần chủ yếu có tác dụng điều trị viêm gan trong quả dứa dại thì có thể dùng thành phần này để sản xuất thuốc, sẽ tạo được dạng thuốc tinh khiết hơn, dễ kiểm soát chất lượng, liều dùng chính xác và thuận tiện khi sử dụng.

Paracetamol là thuốc hạ sốt, giảm đau thông thường, được sử dụng rất rộng rãi mà không cần kê đơn. Với liều điều trị thông thường, PAR không gây độc cho gan nhưng khi sử dụng liều cao sẽ có biểu hiện độc với gan thông qua chất chuyển hóa có hoạt tính N-acetyl-p-benzoquinoneimin (NAPQI). Vì vậy, trong nghiên cứu này chúng tôi chọn mô hình gây tổn thương gan cấp bằng PAR để đánh giá tác dụng bảo vệ và phục hồi tổn thương gan của CTP và PĐE chiết xuất từ quả dứa dại. Đây là mô hình đã được nhiều tác giả trên thế giới và trong nước sử dụng.

4.1. Tác dụng bảo vệ gan:

Trong nghiên cứu này, ở lô mô hình (gây độc nhưng không dùng thuốc), PAR với liều 400mg/kg dùng đường uống trên chuột nhắt trắng đã làm tăng hoạt độ AST 59,4%, ALT 311,8% so với nhóm chứng. Điều này chứng tỏ PAR đã gây tổn thương tế bào gan, làm giải phóng các enzym vào máu.

Dùng CTP và PĐE 8 ngày trước khi gây độc có tác dụng làm giảm rõ rệt hoạt độ AST và ALT so với lô mô hình ($p < 0,001$). Với CTP liều 1 (*liều có tác dụng tương đương trên người*), hoạt độ AST giảm 28,4%, ALT giảm 60,1% so với lô mô hình. Với CTP liều 2 (*cao gấp 2 lần liều 1*) hoạt độ AST giảm 29,1%, ALT giảm 55,7%. PĐE liều 1 đã làm giảm hoạt độ AST 36,5%, ALT 61,3%; PĐE liều 2 đã làm giảm hoạt độ AST 34,0%, ALT 58,1% so với lô mô hình. Lô điều trị bằng silymarin làm giảm hoạt độ AST 31,5%, ALT giảm 51,4% so với lô mô hình.

Quan sát mô bệnh học cho thấy kết quả tương ứng với sự biến đổi enzym gan. Ở lô gây độc nhưng không dùng thuốc, quan sát đại thể thấy gan phù nề, sung huyết, nhạt màu, bề mặt gan không nhẵn, có nhiều chấm xuất huyết. Hình ảnh vi thể gan thấy có thoái hóa nặng, bào tương tế bào gan có nhiều hốc sáng lớn và nhỏ, một số tế bào mất nhân. Ở các lô dùng thuốc CTP, PĐE hoặc silymarin, hình ảnh đại thể và vi thể của gan có biến đổi nhưng mức độ tổn thương giảm rõ rệt so với lô mô hình, chủ yếu thoái hóa gan ở mức độ vừa hoặc nhẹ.

Như vậy, CTP và PĐE có tác dụng bảo vệ gan khi gây độc bằng PAR, tác dụng của 2 liều CTP và PĐE đã dùng tương đương nhau và tương đương với silymarin – loại thuốc thường được sử dụng làm thuốc chống đương trong các nghiên cứu về gan.

4.2. Tác dụng làm tăng phục hồi tổn thương gan.

Các thuốc bảo vệ gan có tác dụng khi dùng thuốc *trước* khi gây độc, nhưng trên thực tế, thuốc thường được dùng với mục đích điều trị, tức là khi bệnh nhân xuất hiện các triệu chứng bệnh mới dùng thuốc. Trong trường hợp đó, liệu thuốc có hiệu quả như khi dùng dự phòng hay không? Để trả lời câu hỏi này, chúng tôi tiếp tục nghiên cứu tác dụng làm tăng phục hồi tổn thương gan (uống thuốc *sau* khi gây độc) của CTP và PĐE chiết xuất từ quả Dứa dại.

Trong nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan, chúng tôi thấy tác dụng của CTP và PĐE ở liều tương đương 7,2g dược liệu/ kg (liều 1) và 14,4g dược liệu/ kg (liều 2) có tác dụng tương đương nhau. Như vậy, tác dụng của CTP và PĐE không tỉ lệ thuận với liều dùng. Vì vậy, trong nghiên cứu này chúng tôi chọn CTP và PĐE liều thấp hơn (liều tương đương 7,2g dược liệu/ kg) để đánh giá tác dụng làm tăng phục hồi tổn thương gan.

- **Sau 2 ngày** gây độc bằng PAR, hoạt độ AST và ALT ở lô mô hình tăng cao rõ rệt so với lô chứng sinh học: AST tăng 309,3%, ALT tăng 491,5% ($p < 0,001$). Trong khi đó ở lô uống CTP và PĐE, hoạt độ AST và ALT đã giảm đáng kể so với lô mô

hình - theo thứ tự AST giảm 46,1% và 53,4%; ALT giảm 57,9% và 67,1%, nhưng vẫn còn tăng cao so với lô chứng sinh học. Hoạt độ 2 enzym này ở lô dùng silymarin tương đương với lô dùng CTP và PDE.

Quan sát mô bệnh học cho thấy lô mô hình có tổn thương gan khá nặng. Ở các lô uống CTP, PDE và silymarin, gan vẫn có tổn thương, tuy nhiên mức độ có nhẹ hơn so với lô mô hình.

- **Sau 4 ngày** gây độc, hoạt độ AST và ALT ở lô mô hình đã giảm so với thời điểm 2 ngày: AST chỉ tăng 77,7% và ALT chỉ tăng 118,1% so với lô chứng sinh học. Điều này chứng tỏ tổn thương gan ở lô mô hình đã tự phục hồi một phần. Theo Đào Văn Phan, trong trường hợp tổn thương gan không nặng thì chức phận gan có thể trở về bình thường sau 5 ngày.

Sau 4 ngày gây độc, hoạt độ AST và ALT trong máu chuột ở tất cả các lô uống CTP, PDE và silymarin đã giảm rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,001$), trở về mức tương đương lô chứng sinh học ($p > 0,05$), trừ hoạt độ AST ở lô uống CTP còn tăng nhẹ so với lô chứng sinh học ($p < 0,05$).

Quan sát mô bệnh học cho thấy kết quả tương ứng với sự biến đổi enzym gan. Trong khi ở lô mô hình, 2/3 mẫu bệnh phẩm vẫn tổn thương thoái hóa tế bào gan ở mức độ vừa, thì ở các lô uống thuốc thử CTP và PDE cũng như lô uống thuốc tham chiếu silymarin, tổn thương gan chỉ còn ở mức độ nhẹ hoặc đã trở về bình thường.

Như vậy, CTP và PDE với liều tương đương 7,2g dược liệu/kg có tác dụng làm tăng phục hồi tổn thương gan khi gây độc bằng PAR trên chuột nhắt trắng.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả của tác giả nước ngoài về tác dụng chống oxy hóa, bảo vệ gan của dịch chiết từ quả dứa dại trên động vật bị gây tổn thương gan bằng CCl_4 .

Kết quả nghiên cứu đã cho thấy CTP và PDE chiết xuất từ quả dứa dại với 2 liều tương đương 7,2g dược liệu/kg (liều 1) và 14,4g dược liệu/kg (liều 2) có tác dụng tương đương nhau và tương đương với silymarin. Điều này gợi ý chỉ cần dùng liều thấp (liều 1) là đủ có tác dụng, không cần dùng liều cao hơn.

Trong cả 2 mô hình nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan và tác dụng làm tăng phục hồi tổn thương gan, PDE đều có tác dụng tương đương CTP. Điều này cho thấy PDE là hoạt chất chính có tác dụng trong quả dứa dại.

V. KẾT LUẬN

1. CTP và PĐE chiết xuất từ quả dứa dại với liều tương đương 7,2g dược liệu/kg và 14,4g dược liệu/kg có tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây tổn thương gan cấp bằng PAR trên chuột nhắt trắng.

2. CTP và PĐE của chiết xuất từ quả dứa dại với liều tương đương 7,2 g dược liệu/kg có tác dụng làm tăng phục hồi tổn thương gan trên mô hình gây tổn thương gan bằng PAR trên chuột nhắt trắng.