

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC

**BÁO CÁO TỔNG KẾT**  
**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 TỔNG KẾT**  
**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**  
*(ký, họ tên)*

**ThS Hoàng Thái Hoa Cường**

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

**1. Các thành viên tham gia**

<b>STT</b>	<b>Họ và tên</b>	<b>Đơn vị công tác và lĩnh vực chuyên môn</b>	<b>Nhiệm vụ được giao</b>
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

<b>MỞ ĐẦU .....</b>	<b>1</b>
1. Tính cấp thiết của vấn đề nghiên cứu .....	1
2. Mục tiêu nghiên cứu:.....	2
<b>Chương I. TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....</b>	<b>3</b>
<b>1.1. Cấu trúc và chức năng của gan.....</b>	<b>3</b>
1.1.1. Giải phẫu và mô học gan. ....	3
1.1.2. Chức năng sinh lý và sinh hoá của gan.....	4
<i>1.1.2.1. Chức năng bài tiết mật.....</i>	<i>4</i>
<i>1.1.2.2. Chức năng chuyển hoá các chất.....</i>	<i>4</i>
<i>1.1.2.3. Chức năng khử độc và tác dụng bảo vệ của gan:.....</i>	<i>5</i>
<i>1.1.2.4. Chức năng tạo và phá huỷ hồng cầu.....</i>	<i>6</i>
<b>1.2. Bệnh viêm gan.....</b>	<b>7</b>
1.2.1. Viêm gan cấp .....	7
1.2.2. Viêm gan mạn .....	8
<b>1.3. Một số xét nghiệm thường dùng để đánh giá tổn thương gan .....</b>	<b>10</b>
<b>1.4. Các phương pháp điều trị gan mật.....</b>	<b>11</b>
<b>1.5. Một số thuốc và bài thuốc y học cổ truyền đã được nghiên cứu điều trị bệnh gan mật.....</b>	<b>12</b>
<b>1.6. Tổng quan về cây dứa dại.....</b>	<b>15</b>
1.6.1. Phân loại thực vật và phân bố của cây dứa dại .....	15
1.6.2. Trữ lượng loài Dứa dại ở Việt Nam.....	19
1.6.3. Nghiên cứu về tác dụng sinh học của dứa dại .....	20
<b>Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>23</b>

<b>2.1. Đối tượng nghiên cứu.....</b>	<b>23</b>
2.1.1. Thuộc nghiên cứu.....	23
2.1.2. Động vật thực nghiệm.....	23
2.1.3. Thuốc, hóa chất và máy móc phục vụ nghiên cứu.....	23
<b>2.2. Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm có đối chứng. ....</b>	<b>23</b>
2.2.1. Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan:.....	24
2.2.2. Nghiên cứu tác dụng làm tăng phục hồi tổn thương gan:.....	25
<b>2.3. Xử lý số liệu.....</b>	<b>26</b>
<b>Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>27</b>
<b>3.1. Tác dụng bảo vệ gan .....</b>	<b>27</b>
<b>3.2. Tác dụng làm tăng phục hồi tổn thương gan .....</b>	<b>29</b>
3.2.1. Sau gây độc bằng PAR 2 ngày.....	29
3.2.2. Sau gây độc bằng PAR 4 ngày.....	36
<b>Chương 4. BÀN LUẬN .....</b>	<b>41</b>
<b>Chương 5. KẾT LUẬN VÀ KHUYẾN NGHỊ.....</b>	<b>44</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO .....</b>	<b>45</b>

**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 nhắt trắng của quả Dứa dại.
- Đánh giá tác dụng phục hồi tổn thương gan gây ra bởi paracetamol trên chuột nhắt 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 nhắt 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 Thuần, (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 Thuần, (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 2 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: DH2015-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 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 scientific journals

- Hoàng Thái Hoa Cương, Vũ Thị Ngọc Thanh, Nguyễn Duy Thuần (2016):

“Hepatoprotective and recovery liver injury effects of *Pandanus odoratissimus* L.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 odoratissimus* L.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 odoratissimus*L.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 odoratissimus*L.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 odoratissimus* L.f. As a premise for studies in the next phase, proceed to produce drugs that can treat liver diseases used for patients.

## MỞ ĐẦU

### 1. Tính cấp thiết của vấn đề nghiên cứu

Gan là tạng lớn của cơ thể, đảm nhiệm nhiều chức năng quan trọng và phức tạp, đóng vai trò quan trọng trong quá trình khử độc và chuyển hoá các chất. Gan là cơ quan chính biến đổi các chất độc nội hoặc ngoại sinh thành các chất không độc để đào thải ra ngoài [36]. Vì vậy khi gan bị tổn thương, bệnh lý của gan thường nặng và ảnh hưởng đến hoạt động chức năng của nhiều cơ quan trong cơ thể [5].

Gan đứng ở vị trí cửa ngõ của đường tiêu hoá, nối liền ống tiêu hoá với toàn bộ cơ thể nên dễ bị các yếu tố gây bệnh xâm nhập. Các loại vi khuẩn, virus, kí sinh trùng, rượu, thuốc hoặc hoá chất độc xâm nhập vào gan có thể gây viêm gan cấp, viêm gan mạn, có thể tiến triển tới xơ gan hoặc ung thư gan [19].

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 [1]. 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 [2]. 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....[3]. Riêng quả dứa dại có thể dùng riêng hoặc kết hợp với một số thảo dược khác để điều trị viêm gan [3].

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 phân*, 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.*

## Chương I

### TỔNG QUAN TÀI LIỆU

#### 1.1. Cấu trúc và chức năng của gan

##### 1.1.1. Giải phẫu và mô học gan

Gan là tạng lớn nhất của cơ thể, trọng lượng khoảng 1.500 gam, chiếm từ 2 % đến 5% trọng lượng cơ thể. 80% dòng máu nuôi gan được lấy từ tĩnh mạch cửa, 20% từ động mạch gan, là một nhánh của động mạch thân tạng. Gan được chia làm 4 thùy: thùy trái, thùy phải, thùy đuôi và thùy vuông. Mỗi thùy được cấu tạo bởi những tiểu thùy, một tiểu thùy là đơn vị cấu trúc và chức năng của gan [4].

➤ *Tiểu thùy gan cổ điển*: Theo Kiernan mô tả là một khối nhu mô gan có từ 5 – 6 góc. Mỗi góc có một khoảng cửa (hay mô liên kết). Mỗi khoảng cửa bao gồm một nhánh tĩnh mạch cửa, một động mạch gan và một ống dẫn mật.

Tiểu thùy gan được sử dụng để miêu tả vị trí tổn thương. Những tổn thương tế bào gan xảy ra ở vùng gần tĩnh mạch trung tâm được gọi là hoại tử trung tâm tiểu thùy, trong khi những hoại tử ở gần tĩnh mạch cửa gọi là hoại tử xung quanh tĩnh mạch cửa [5].

##### ➤ *Nang gan*:

Theo Rappaport và cộng sự, tiểu thùy gan được phân chia theo kiểu khác, và gọi mỗi đơn vị này là nang gan.

Nang gan là đơn vị chức năng của gan. Mỗi nang gan là một khối tế bào gan khi cắt ngang có hình thoi, được xác định bởi hai đường chéo:

- + Đường chéo ngắn: là đường nối hai khoảng cửa.
- + Đường chéo dài: được xác định bởi hai tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy.

Người ta chia nang gan thành 3 vùng, phản ánh hoạt động chuyển hoá và chức năng của gan [4], [64]:

- + Vùng 1: Các tế bào gan nằm gần các nhánh mạch máu, nhận máu có chất lượng tốt nhất (nhiều chất dinh dưỡng, nhiều O<sub>2</sub>).

- + Vùng 2: Nhận máu có chất lượng vừa phải nhưng kém hơn chất lượng máu ở vùng 1.

+ Vùng 3: Gần tĩnh mạch trung tâm, máu tới đây có chất lượng kém nhất.

Nang gan được coi là một đơn vị chức năng của gan. Khái niệm này giúp cho người ta hiểu vì sao các chất độc, các chất dinh dưỡng có mặt trong các vùng khác nhau của gan lại khác nhau. Khi bị tổn thương, cấu trúc của gan thay đổi tùy mức độ và giai đoạn tổn thương [4].

➤ *Tế bào mô gan:* Có rất nhiều ty thể, trong ty thể chứa hệ thống enzym phosphoryl và oxy hoá khử hoàn chỉnh. Trong tế bào gan còn có các thành phần: lysosom, nhân, màng nhân, những thành phần này giữ vai trò nhất định đối với chức năng sinh lý, sinh hoá của tế bào gan. Khi tế bào gan bị tổn thương, những thành phần này cũng bị biến đổi hoặc làm mất chức năng của tế bào gan [4].

### **1.1.2. Chức năng sinh lý và sinh hoá của gan**

#### *1.1.2.1. Chức năng bài tiết mật*

Mật được tiết từ những tế bào gan đưa xuống túi mật qua ống dẫn mật.

Tác dụng chính của mật là nhũ tương hoá lipid của thức ăn. Khi bài xuất mật xuống ruột, mật kéo theo rất nhiều những chất độc được gan giữ lại và đào thải qua đường mật xuống ruột theo phân. Nếu gan bị tổn thương sẽ ảnh hưởng đến quá trình tạo mật và bài xuất mật, ảnh hưởng đến tiêu hoá, hấp thu lipid, các vitamin tan trong dầu và đào thải một số chất độc qua đường mật [3].

#### *1.1.2.2. Chức năng chuyển hoá các chất*

- *Chuyển hoá glucid:*

Gan đóng vai trò quan trọng trong chuyển hoá glucid. Chức phận chuyển hoá glucid của gan thông qua hai mặt: sinh tổng hợp glycogen và phân ly glycogen thành glucose cung cấp cho máu để đưa đến các cơ quan khác sử dụng. Nhờ chức phận sinh tổng hợp glycogen mà gan tham gia tích cực vào quá trình điều hoà đường máu và các yếu tố thần kinh thể dịch khác. Gan còn chuyển glucose thành acid glucuronic để tham gia trong chức năng khử độc của gan [3], [7].

- *Chuyển hoá lipid:*

+ Gan là nơi duy nhất sản xuất muối mật để nhũ tương hoá lipid, tạo điều kiện thuận lợi cho việc tiêu hoá và hấp thu lipid qua thức ăn một cách dễ dàng, quá



trình ôxy hoá acid béo xảy ra mạnh mẽ hình thành acetyl CoA để tổ chức sử dụng, đặc biệt là thận, não,...

+ Là nơi tổng hợp phospholipid nhằm vận chuyển mỡ khỏi gan, tránh ứ mỡ trong gan. Nếu chức năng gan giảm dẫn đến giảm lipid huyết thanh và ứ mỡ ở gan [3].

+ Tổng hợp cholesterol từ acetyl CoA. Nếu gan tổn thương, lượng cholesterol giảm và tỷ lệ cholesterol este hoá/cholesterol toàn phần giảm [25],[36].

- *Chuyển hoá acid amin - protein:*

Gan tổng hợp protein cho gan và máu. Gan tổng hợp toàn bộ albumin và một phần globulin cho huyết thanh, ngoài ra còn tham gia vào quá trình tổng hợp các yếu tố đông máu: fibrinogen và prothrombin. Vì vậy, nếu chức năng gan giảm sẽ làm nồng độ protein toàn phần trong huyết thanh, đặc biệt là albumin và tỷ số albumin/ globulin giảm. Gan chứa nhiều acid glutamic và các enzym trao đổi amin như aspartat aminotransferase (AST) và alanin aminotransferase (ALT), do vậy quá trình trao đổi và khử amin xảy ra rất mạnh ở gan. Khi gan bị tổn thương, các enzym này tăng cao trong huyết thanh, nên định lượng hai enzym ở huyết thanh là chỉ số quan trọng để đánh giá tổn thương tế bào gan [3].

*1.1.2.3. Chức năng khử độc và tác dụng bảo vệ của gan:*

Khử độc là một trong những chức năng chính của gan. Trong cơ thể thường xuyên có những chất độc nội sinh ( sản phẩm của quá trình chuyển hoá) hoặc là những chất độc ngoại sinh từ bên ngoài đưa vào qua đường ăn uống, hơi thở, da...( như rượu, các loại thuốc hoặc hoá chất).Chức phận khử độc của gan thực hiện theo hai cơ chế khác nhau: cơ chế hoá học và cơ chế cố định thải trừ [3], [64].

**Cơ chế hoá học:**

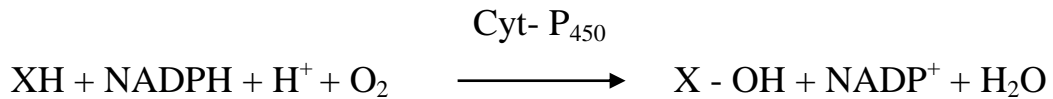
Đây là cơ chế khử độc quan trọng nhất. Các chất độc bị gan giữ lại, chịu sự biến đổi hoá học rồi nhanh chóng được đào thải ra ngoài.

Các chất độc có thể là nội sinh hoặc ngoại sinh được gan khử độc theo cơ chế hoá học diễn ra qua hai pha:

*Pha I:* Những phản ứng giáng hoá:

Quan trọng nhất trong pha này phải kể đến phản ứng ôxy hoá xảy ra ở microsom gan thông qua họ enzym cytochrom P<sub>450</sub> (Cyt -P<sub>450</sub>, CYP). Chúng là các protein màng có chứa hem, khu trú ở lưới nội bào nhẵn của tế bào gan và vài mô

khác. Họ enzym này được chia làm nhiều dưới nhóm như CYP1A2, CYP3A4, CYP2B6, CYP2C9, CYP2E1,... mà mỗi thuốc hoặc chất độc được chuyển hóa nhờ các dưới nhóm khác nhau. Đặc tính quan trọng của họ enzym này là có thể bị cảm ứng hoặc bị ức chế bởi một số thuốc hoặc chất độc. Trong đa số các trường hợp, các chất gây cảm ứng Cyt-P<sub>450</sub> sẽ làm giảm tác dụng hoặc giảm độc tính của các thuốc hoặc chất độc chuyển hóa qua gan và ngược lại. Trong một số trường hợp đặc biệt, thuốc hoặc chất độc phải chuyển hóa qua gan mới có tác dụng hoặc tạo thành chất độc. Cyt-P<sub>450</sub> tham gia chuyển hoá các chất độc và chất lạ được biểu diễn tóm tắt theo phản ứng hoá học sau:



Cơ chế tác dụng của hệ Cyt-P<sub>450</sub> là làm phơi bày những nhóm chức của các chất lạ hoặc chất độc để chúng phân cực hơn và nhạy cảm hơn đối với các enzym khử độc. Thuốc hoặc chất độc chuyển hóa qua pha I sẽ dễ tan trong nước hơn, giảm độc tính và tạo ra các nhóm chức phân cần thiết cho các phản ứng ở pha II [2], [64].

*Pha II:* Những phản ứng liên hợp:

Sau khi giáng hóa, chất chuyển hoá vừa tạo thành có thể liên hợp với acid acetic, acid sulfuric, acid mercapturic, acid glucuronic hoặc liên hợp với glycol, glutathion trong cơ thể để tạo thành các sản phẩm tan trong nước, có tính phân cực mạnh, từ đó dễ đào thải qua thận hoặc mật [2].

**Cơ chế cố định thải trừ:**

Theo cơ chế này, các chất độc được gan giữ lại rồi đào thải nguyên vẹn qua đường mật mà không bị biến đổi về hoá học. Các chất độc được gan khử độc theo cơ chế này thường là các muối kim loại nặng (muối Cu, Pb,...), các chất màu (các dẫn xuất phtalein) [3].

*1.1.2.4. Chức năng tạo và phá huỷ hồng cầu*

Gan trong thời kỳ bào thai có khả năng tạo máu. Gan là nơi sản xuất protein, cần thiết cho việc cấu tạo nên hồng cầu, là nơi dự trữ sắt lớn nhất trong cơ thể. Ngoài ra, gan còn dự trữ vitamin B12, vitamin K và các yếu tố chống chảy máu A, B, C. Tổ chức võng nội mô của gan và lách là nơi phân huỷ hồng cầu già [7].

## 1.2. Bệnh viêm gan

Viêm gan là bệnh lý thường gặp trong các bệnh về gan mật. Dựa vào tiến triển của bệnh, viêm gan được chia làm hai loại: viêm gan cấp và viêm gan mạn [6].

- Viêm gan cấp: khi có bất thường về gan dưới 6 tháng. Hoặc dựa vào các tổn thương giải phẫu bệnh lý: có các hoại tử ở trung tâm tiểu thùy.

- Viêm gan mạn: Khi đã có những bất thường ở gan trên 6 tháng. Giải phẫu bệnh lý: có những tổn thương hoại tử ở xung quanh tiểu thùy, có thể kèm theo xơ hoá.

Tuy nhiên không phải lúc nào sự phân loại về mặt giải phẫu và thời gian cũng trùng nhau. Nếu hình ảnh giải phẫu giống bệnh viêm gan cấp, nhưng thời gian tiến triển của bệnh trên 6 tháng vẫn được xếp là viêm gan mạn. Hoặc nếu thời gian tiến triển của bệnh dưới 6 tháng nhưng hình ảnh giải phẫu giống viêm gan mạn, thì vẫn được xếp là viêm gan mạn.

### 1.2.1. Viêm gan cấp

Ba nguyên nhân gây viêm gan cấp hay gặp nhất là do virus, do thuốc hoặc do nhiễm độc.

#### ➤ Viêm gan cấp do thuốc:

Gan là nơi chuyển hóa rất nhiều loại thuốc, phần lớn các thuốc sau khi chuyển hóa sẽ tạo thành những sản phẩm ít độc, tan trong nước, có tính phân cực cao và được đào thải ra ngoài [2], [5], [23]. Tuy nhiên, cũng có những thuốc sau khi được chuyển hóa tại gan sẽ tạo ra những sản phẩm có độc tính cao, tấn công trực tiếp vào tế bào gan, gây viêm gan, hủy hoại tế bào gan như: paracetamol, erythromycin estolat, isoniazid, halothan....

Paracetamol là một thuốc hạ sốt, giảm đau được sử dụng phổ biến trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Với liều điều trị thông thường, PAR rất ít gây độc cho gan, nhưng khi dùng liều lượng quá cao sẽ sinh ra nhiều N – acetyl - p - benzoquinoneimin( NAPQI ), đó là các chất gây tổn thương tế bào gan [2], [21], [34], [69].

Theo thống kê tại Mỹ, ngộ độc do PAR chiếm khoảng 39% các trường hợp viêm gan cấp do thuốc . Ở Anh, ngộ độc PAR chiếm khoảng 45% ca ngộ độc do thuốc [83]. Ở Việt Nam, theo thống kê của Đặng Thị Thanh Xuân tại Trung tâm

chống độc bệnh viện Bạch Mai trong năm 1998 – 2000, ngộ độc thuốc hạ sốt- giảm đau chiếm 6,34% [51]. Trong hai năm sau ( 2002 - 2003) Ngô Hữu Hà thống kê thấy tỷ lệ này tăng lên 12,2% và đứng thứ 3 trong các loại ngộ độc thuốc [21]. Như vậy, tỷ lệ bệnh nhân bị ngộ độc các thuốc hạ sốt, giảm đau ngày càng gia tăng. Sự gia tăng này một phần do việc mua bán các thuốc hạ sốt, giảm đau quá dễ dàng, người bệnh dùng thuốc điều trị không theo chỉ dẫn của bác sĩ, dùng không đúng liều lượng [21]. Viêm gan cấp do một số thuốc khác, đặc biệt do dùng thuốc chống lao isoniazid phối hợp với rifampicin cũng thường gặp [9].

➤ *Viêm gan cấp do nhiễm độc:*

Thường gặp nhiễm độc thuốc trừ sâu, các hợp chất hydrocarbua đa vòng, các phẩm nhuộm...

Carbon tetraclohid ( $\text{CCl}_4$ )- một chất lỏng không màu, dễ bay hơi, được dùng làm dung môi trong công nghiệp, là một chất gây huỷ hoại tế bào gan điển hình.  $\text{CCl}_4$  làm hình thành các gốc tự do trong quá trình chuyển hóa, gây tổn thương tế bào gan.  $\text{CCl}_4$  đã được dùng làm mô hình gây tổn thương gan để nghiên cứu về các thuốc có tác dụng bảo vệ gan (trích dẫn từ [29])

➤ *Viêm gan cấp do virus:*

Viêm gan virus (VGVR) là bệnh phổ biến với sự lưu hành của các loại virus gây viêm gan A, B, C, D và E. Viêm gan virus A và E thường gây thành dịch nhưng lành tính, ngược lại VRVG B,C và D tiến triển âm ỉ, dễ gây tình trạng mạn tính dẫn tới viêm gan mạn, xơ gan, ung thư gan với tỷ lệ cao [6], [19], [35], [55]. Mỗi năm trên thế giới có khoảng 2 triệu người chết bởi hậu quả của suy gan cấp, xơ gan và ung thư gan do virus viêm gan B gây nên. Bệnh gặp nhiều nhất ở các nước đang phát triển như Việt Nam, Ấn Độ... Mặc dù các virus này khác nhau về cấu trúc phân tử, tính kháng nguyên, dịch tễ học nhưng dấu hiệu lâm sàng gần giống nhau. Các virus tập trung ở gan, gây tổn thương viêm và hoại tử tế bào gan, các cơ quan khác không bị ảnh hưởng [56], [72].

**1.2.2. Viêm gan mạn**

➤ *Viêm gan mạn do virus:*

Có nhiều loại virus khác nhau gây viêm gan mạn: B, C, D, [6], [19], [20]. Trên thế giới có khoảng 2 tỷ người bị nhiễm virus viêm gan B và khoảng 400 triệu người đang bị bệnh viêm gan B mạn tính [13], [35].

VGVR B là nguyên nhân dẫn đến viêm gan mạn, xơ gan, ung thư gan gây tử vong với tỷ lệ cao [6], [19], [63]. Việt Nam là một trong những nước có tỷ lệ viêm gan cao nhất trên thế giới. Theo thống kê ,tỷ lệ người mang bệnh là 17%, mặc dù trong những năm qua đã có tiêm phòng viêm gan B nhưng tỷ lệ mang bệnh vẫn cao [13]

VGVR C chiếm khoảng 2% trong các trường hợp VGVR, 55 – 85% bệnh nhân viêm gan C nếu không được chữa trị sẽ chuyển thành viêm gan mạn, nghiêm trọng hơn 15% trong số này sẽ trở thành ung thư gan [6]

Cơ chế bệnh sinh của viêm gan virus liên quan đến quá trình đáp ứng miễn dịch, trong đó chủ yếu là đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào và sự tăng sinh của gốc tự do đã tạo ra các phản ứng oxy hoá dẫn đến tổn thương viêm và gây hoại tử tế bào gan [55], [62].

➤ *Viêm gan mạn do thuốc và hoá chất:*

Nguyên nhân thường gặp là do dùng một hay nhiều loại thuốc độc với gan trong thời gian dài như trong điều trị lao, sốt rét,... hoặc nhiễm độc nghề nghiệp, do tiếp xúc với hóa chất độc hại. Sử dụng hóa chất bảo vệ thực vật không đúng phương pháp cũng gây nhiều tác hại đến sức khỏe con người, đặc biệt tế bào gan.

Theo Trung tâm ADR quốc gia (2006), ADR do thuốc chống lao đứng thứ 2 chỉ sau ADR do kháng sinh, trong đó gặp nhiều trường hợp viêm gan do dùng phối hợp isoniazid với rifampicin [9].

➤ *Viêm gan do rượu:*

Khi dùng rượu kéo dài sẽ gây viêm, hoại tử tế bào gan, gan nhiễm mỡ, cuối cùng dẫn đến xơ gan, đặc biệt rõ trên bệnh nhân nghiện rượu. Rượu chuyển hoá ở gan tạo các gốc tự do, các gốc tự do được hình thành sẽ tấn công vào quá trình peroxy hoá lipid dẫn tới màng lipid bị phá huỷ, ảnh hưởng tới tính toàn vẹn của màng tế bào. Bên cạnh đó, nó còn làm giảm GSH nội bào thông qua hàng loạt cơ chế khác nhau. Tóm lại tổn thương gan do rượu là do tăng quá trình peroxy hoá lipid và làm giảm các chất chống oxy hoá [6], [56].

➤ *Viêm gan mạn tính tự miễn:*

Là tình trạng mất hoặc giảm khả năng thích ứng miễn dịch của gan với chính các tổn thương của gan. Nguyên nhân và cơ chế chưa rõ, nhưng viêm gan tự miễn

luôn có mặt của các tự kháng thể (kháng thể nhân, kháng thể kháng cơ trơn) và tăng gamma globulin máu [6].

➤ *Viêm gan tiềm tàng:*

Một số trường hợp có biểu hiện tình trạng viêm gan mạn tính nhưng không tìm thấy bất kỳ nguyên nhân nào. Nhưng với phương pháp chẩn đoán miễn dịch học và sinh học phân tử ngày càng chính xác thì viêm gan tiềm tàng ngày càng giảm do đã xác định được nguyên nhân [6].

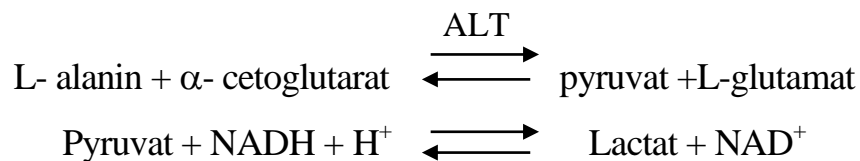
### 1.3. Một số xét nghiệm thường dùng để đánh giá tổn thương gan

Các tế bào gan thực hiện chức năng nhờ có hệ thống enzym phong phú. Khi tế bào gan bị tổn thương, các enzym này sẽ được giải phóng vào máu, nồng độ enzym trong máu sẽ tăng cao. Do vậy, để đánh giá mức độ tổn thương gan, người ta thường định lượng các enzym nguồn gốc gan trong máu và thăm dò hình thái mô bệnh học của gan [20], [32].

Trên lâm sàng, để thăm dò sự huỷ hoại tế bào gan, thường xác định hoạt độ các enzym transaminase trong huyết thanh, vì khi gan bị tổn thương, các enzym này thường thay đổi sớm nhất và có tính chất đặc trưng. Có hai loại enzym được chú ý nhất là:

- **ALT (alanin aminotransferase):** là enzym chỉ cư trú ở bào tương, đặc trưng cho các bệnh lý ở gan vì có mặt nhiều nhất ở gan, rất ít ở tim và cơ vân [25], [32].

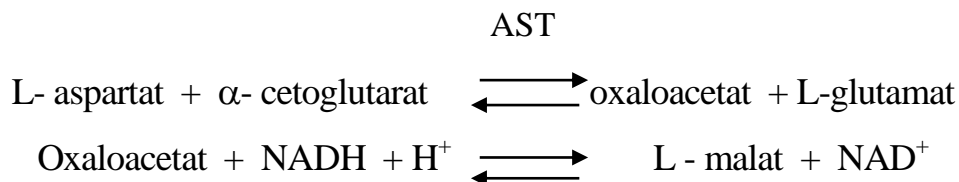
ALT xúc tác cho phản ứng:



Đo độ giảm hấp phụ quang của  $\text{NAD}^+$  ở bước sóng 340 nm sẽ tính được hoạt độ của ALT trong huyết thanh [25], [32].

- **AST (aspartat aminotransferase):** enzym này cư trú ở cả hai nơi trong tế bào là ty thể và bào tương, có ở nhiều mô nhưng nhiều nhất ở cơ tim và gan [25], [32].

AST xúc tác cho phản ứng:



Đo độ giảm hấp phụ quang của  $\text{NAD}^+$  ở bước sóng 340 nm ta sẽ tính được hoạt độ của AST trong huyết thanh [25], [32].

Trong viêm gan do virus hoặc nhiễm độc, cả hai loại AST và ALT trong huyết thanh đều tăng cao và tăng sớm, nhưng ALT tăng nhiều hơn [20], [25], [32], [37], [47]. Hoạt độ ALT đặc hiệu trong các bệnh lý về gan [32]. Các enzym này xuất hiện trong máu sớm trước khi có triệu chứng lâm sàng và hết muộn sau khi các triệu chứng đã hết. Đặc biệt các enzym này tăng rất cao trong nhiễm độc carbon tetraclohid, nhiễm độc rượu cấp có mê sảng, hoặc khi bị nhiễm độc các chất như phospho (có thể tăng gấp 100 lần so với bình thường) [32].

Thông qua hoạt độ AST và ALT trong huyết thanh có thể đánh giá được mức độ tổn thương tế bào gan. Trong viêm gan, nếu hoạt độ ALT tăng cao hơn AST, tổn thương ở mức tế bào là chủ yếu. Khi hoạt độ AST tăng cao thì ngược lại, tế bào gan đã bị tổn thương ở mức dưới tế bào, vào tới ty thể. Chỉ số De Ritis (AST/ALT) cho ta biết tổn thương ở mức tế bào hoặc dưới tế bào [25], [32].

Trong viêm gan mạn, xơ gan, AST và ALT chỉ tăng gấp 2 - 5 lần giá trị bình thường. Trong xơ gan do rượu và các nguyên nhân khác, AST tăng khoảng gấp 2 - 4 lần, ALT tăng ít hơn và bắt đầu giảm so với AST, chỉ số De Ritis lớn hơn 1 và trên nữa [47].

Ngoài ra, một số chỉ số hoá sinh khác trong huyết thanh như bilirubin, albumin, protein toàn phần, cholesterol,... cũng biến đổi khi gan bị tổn thương [3], [25], [32], [47].

Để đánh giá tổn thương gan, ngoài các xét nghiệm sinh hoá máu, còn thông qua đánh giá mô bệnh học (quan sát đại thể và cấu trúc vi thể gan).

#### **1.4. Các phương pháp điều trị viêm gan**

Hiện nay, bệnh viêm gan mạn tính không có biện pháp điều trị đặc hiệu. Đối với viêm gan mạn tính giai đoạn ổn định thì chế độ ăn uống và sinh hoạt hợp lý là quan trọng: ăn giàu năng lượng, vitamin, giảm mỡ, bỏ bia rượu, hạn chế lao động nặng quá mức [6], [40], [55].

Viêm gan mạn tính giai đoạn tiến triển thì ngoài chế độ ăn uống, sinh hoạt hợp lý, phải sử dụng thuốc phối hợp.

Đối với viêm gan do virus, điều trị triệt để nguyên nhân gây bệnh bằng cách diệt virus, điều trị dự phòng biến chứng, giải quyết tình trạng viêm gan, dự phòng xơ gan và ung thư gan. Trong những năm gần đây đã có một số thuốc chống virus

(lamivudin, entercavir...) có hiệu quả, mở ra một hướng mới trong điều trị VGVR có tác dụng mạnh hơn interferon, nhất là ít tác dụng phụ hơn và dễ sử dụng hơn [48].

Trong viêm gan tiềm tàng, điều trị triệu chứng là chủ yếu vì chưa rõ căn nguyên [6]. Trước đây, khi viêm gan không kèm theo sự xuất hiện của các virus viêm gan, người ta thường điều trị bằng liệu pháp corticoid. Nhưng hiện nay liệu pháp này chỉ sử dụng trong điều trị viêm gan tự miễn [40].

Điều trị viêm gan do thuốc/ hoá chất độc ngoài việc loại bỏ các chất độc, phải dùng các thuốc phục hồi, bảo vệ tế bào gan.

Các thuốc bảo vệ gan có tác dụng duy trì sự ổn định của tế bào gan, làm tế bào gan bền vững trước sự tấn công của các tác nhân gây bệnh. Các thuốc có thể tác dụng theo nhiều cơ chế như:

- Hạn chế sự có mặt của các tác nhân gây bệnh bằng cách ngăn cản sự chuyển hoá thành các chất độc với gan của một số chất hoặc thuốc khi đưa vào cơ thể.
- Dọn sạch gốc tự do ( là yếu tố tấn công huỷ hoại tế bào gan) khi các gốc tự do đã được hình thành.
- Làm vững bền màng tế bào, giúp tế bào tăng sức chống đỡ đối với các tác nhân gây bệnh.

Hiện nay đã có một số thuốc bảo vệ gan được nghiên cứu và sử dụng trong điều trị như: silymarin, biphenyl dimethyl dicarboxylat, livolin, argynin-veyron..... và nhiều thuốc y học cổ truyền khác [30], [33], [54], [78].

### **1.5. Một số thuốc và bài thuốc y học cổ truyền đã được nghiên cứu điều trị bệnh gan mật**

- **Cây cúc gai đen (*Silybum marianum*):** có tác dụng bảo vệ tế bào gan và gần như không có độc tính, đã được biết đến như một dược phẩm điều trị viêm gan ở châu Âu từ thế kỷ 16 với tên thường được nhắc đến là silymarin. Silymarin có tác dụng bảo vệ gan thông qua các cơ chế:

- Bảo vệ màng tế bào, ổn định màng, ngăn cản sự tấn công của một số chất độc vào gan.
- Ức chế quá trình peroxy hoá lipid, dọn sạch gốc tự do, giảm sử dụng glutathion của tế bào gan.
- Ức chế quá trình xơ hoá theo cơ chế trực tiếp và gián tiếp.



- Kích thích sự tổng hợp protein, làm nhanh chóng phục hồi hệ enzym trong tế bào, phục hồi màng tế bào bị tổn thương, làm tăng quá trình phân bào, kích thích tái tạo tế bào gan [33].

- **Nhân trần**(*Adenosmacaeruleum R.Br*): là vị thuốc thường được dùng để chữa bệnh vàng da, bệnh về đường mật và bệnh của phụ nữ sau khi đẻ, có tác dụng làm tăng tiết mật, tăng giải độc gan, thanh nhiệt, trừ thấp, chống viêm, kháng khuẩn, chữa các chứng hoàng đản nhiễm trùng, chữa cảm mạo do phong nhiệt [10], [27], [49].

Vũ Nam (1991) đánh giá kết quả điều trị bước đầu viêm gan do virus bằng thuốc cao lỏng chống viêm gan. Thành phần của bài thuốc gồm: nhân trần, đại hoàng, uất kim, thổ phục linh, rau má, mã đề. Trên bệnh nhân viêm gan virus B thấy thuốc có tác dụng tốt hơn hẳn nhóm chứng dùng vitamin, methionin...[31].

Nghiên cứu của Trần Thuý, Trương Việt Bình, Hồ Hải Nam (1997) dùng bài thuốc "nhân trần cao thang" gồm: nhân trần, đại hoàng, chi tử, thảo quyết minh, uất kim, chế dạng cao lỏng cho các bệnh nhân viêm gan mạn thấy thuốc có tác dụng cải thiện triệu chứng lâm sàng tốt, giảm transaminase trong huyết thanh [41].

- **Ngũ vị tử** (*Schizandrin*): có nguồn gốc từ quả ngũ vị tử, có tác dụng bảo vệ tế bào gan, làm giảm enzym gan.

Nguyễn Nhược Kim, Mai Thị Kim Loan (1999) dùng bài thuốc "Nghiệm phương" YHCT để điều trị bệnh viêm gan mạn và xơ gan giai đoạn còn bù, thấy thuốc có tác dụng cải thiện các triệu chứng lâm sàng, giảm enzym gan và bilirubin toàn phần hiệu quả tương tự như Fortex [26].

-**Diệp hạ châu đắng** (*Phyllanthus amarus*): được cho rằng có khả năng ức chế DNA polymerase của virus gây viêm gan B.

Phạm Đức Dương (2001) đánh giá tác dụng của VG99 trong thành phần có diệp hạ châu đắng, ngũ vị tử... trên bệnh nhân viêm gan mạn tính thấy qua 2 tháng điều trị, các triệu chứng lâm sàng đều giảm và hết, enzym gan trở về bình thường 60% [14].

- **Actiso** (*Cynara scolymus L.*): có tác dụng làm tăng bài tiết mật, tăng lượng nước tiểu, hạ thấp cholesterol và ure trong máu [27].

Trên thị trường hiện nay có rất nhiều dạng bào chế của Actiso dùng để điều trị bệnh như: trà actiso, xiro actiso, viên actiso [30].

- **Nghệ** (*Curcuma longa L.*): có tác dụng kích thích các tế bào gan bài tiết ra mật là do chất paratolyl methyl cacbinol và tác dụng thông mật của hoạt chất curcumin được chiết xuất từ nghệ [27], [30]. Curcuminoid đã được chứng minh có tác dụng bảo vệ và phục hồi tổn thương gan cấp trên thực nghiệm [29].

- **Chàm tía** (*Strobilanthes cusia Nees*): là vị thuốc thường được dùng để chữa một số bệnh gan mật như: viêm gan siêu vi trùng, viêm mật cấp, có tác dụng thanh nhiệt, trừ thấp, lợi đờm thoái hoàng, thông qua tác dụng trừ thấp đã gián tiếp làm tăng chức năng kiện vận của tỳ vị. Thường dùng dưới dạng thuốc sắc hoặc lá vò tươi lấy nước uống. Dùng đơn độc hoặc phối hợp thêm với một số dược liệu khác.

Phạm Thị Cẩm Yên (2006) dùng bài thuốc AH trong thành phần có chàm tía, nhân trần, bạch truật... để nghiên cứu trên thực nghiệm tác dụng bảo vệ gan thấy thuốc có tác dụng bảo vệ gan trên cả hai mô hình gây tổn thương gan cấp bằng CCl<sub>4</sub> và PAR liều cao [52].

Đặng Kim Thanh (2001) dùng chàm tía trên bệnh nhân sau mổ sỏi đường mật có dẫn lưu Kehr và trên bệnh nhân viêm gan virus cấp thấy có tác dụng lợi mật, các triệu chứng như mệt mỏi, chán ăn, rối loạn tiêu hóa, hoàng đản mất nhanh, enzym gan nhanh trở về bình thường, rút ngắn số ngày nằm viện [39].

- **Tam thất:** (*Panax notoginseng*): Dương Thị Ly Hương (2004) đã nghiên cứu dạng cao lỏng toàn phần với liều 5g/kg có tác dụng bảo vệ gan rõ trên mô hình gây viêm gan thực nghiệm và có tác dụng phục hồi tổn thương gan mức độ trung bình với cơ chế chống oxy hoá do làm tăng lượng GSH [22].

- **Chó đẻ thân xanh** (*Phyllanthus urinaria*): Huỳnh Ngọc Thụy và cộng sự (2001) đã chứng minh tác dụng hạ AST và ALT của cao chiết từ cây chó đẻ thân xanh trên chuột nhắt trắng thực nghiệm gây độc bằng CCl<sub>4</sub> [42].

- **Cỏ mật** (*Eriochloa ramosa* (Retz.) Hack): là một cây thuốc được nhân dân một số vùng như Sơn Tây, Nam Định, Phú Thọ sử dụng điều trị sốt, cảm cúm, chữa mụn nhọt, an thần... Đinh Thị Kim Chi (2007) đã nghiên cứu dạng cao nước với liều 4,5g/kg có tác dụng bảo vệ và phục hồi tổn thương gan rõ rệt trên mô hình gây viêm gan thực nghiệm [11], [28].

Ngoài ra còn có nhiều thuốc y học cổ truyền (YHCT) khác đã được nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan như: cà gai leo, rau má, chàm đắng... [1], [17], [46], [49].

## 1.6. Tổng quan về cây dứa dại

Dứa dại là một loài thực vật rất gần với đời sống con người. Do dễ trồng và lá có nhiều gai chúng được trồng làm hàng rào xung quanh nhà để ngăn gia súc. Lá của cây được một số địa phương sử dụng làm sợi bện dây thừng dùng hàng ngày. Nhưng đặc điểm nổi bật vẫn là khả năng làm thuốc. Trong dân gian vẫn dùng lá, hoa quả và rễ dứa dại làm thuốc chữa các bệnh. Tùy theo tập quán của từng địa phương, dứa dại được sử dụng chữa nhiều bệnh: lương huyết, trừ đàm, phát hãn, giải độc, ngăn ngừa ung thư...

### 1.6.1. Phân loại thực vật và phân bố của cây dứa dại

#### *Phân loại thực vật và phân bố của cây dứa dại trên thế giới*

Dứa dại thuộc chi *Pandanus* Parkins, thuộc họ Dứa dại Pandanaceae có khoảng 50 loài trên Thế giới; phân bố khắp vùng nhiệt đới, trừ châu Mỹ. Ở Ấn Độ có 36 loài trong đó loài Dứa dại *Pandanus odoratissimus* L.f phân bố rộng trên các bờ biển của Ấn Độ, Xrilanca, Myanma, Thái Lan, Campuchia, Lào, Trung Quốc, Nam quần đảo Ryu Kyu, Malaysia, Micronesia và Philippin. Ở Ấn Độ người ta dùng lá và tinh dầu từ lá bắc để sát trùng, lá còn được dùng trị bệnh phong, phó đậu, giang mai, ghê và bệnh bạch bì. Tinh dầu lá dùng trị bệnh đau đầu và thấp khớp. Ở Thái Lan rễ được xem như hạ nhiệt, làm long đờm, lợi tiểu còn cụm hoa đực là thuốc trợ tim. Lá dứa gỗ còn được dùng lấy sợi dệt. Hạt có thể ăn được, cùi quả nếu nấu kỹ để loại bỏ những tinh thể oxalate canxi có thể dùng để ăn. Còn hương liệu từ hoa và lá bắc nếu thêm dầu dừa (hoặc sáp ong trong và dầu cây Uoi) dùng làm mỹ phẩm bôi môi. Ngoài ra người ta còn dùng chồi non ở ngọn làm rau ăn như nõn dừa, phần gốc trắng và mềm của lá cũng ăn được.

Ở Đức, bromelin chiết xuất từ Dứa dại có tác dụng làm giảm thiểu viêm xoang. Trẻ em bị viêm xoang được chữa trị bằng bromelin. Bromelin cho kết quả tốt, nó làm giảm thời gian bị bệnh (từ 8 ngày giảm còn 6 ngày). Bromelin còn được dùng làm thuốc tẩy giun, một loại giun nhỏ, thường gặp ở trẻ em. Qua nghiên cứu của Hordegen P., bromelin cũng cho kết quả tốt như pyratel. Ngoài ra, bromelin làm giảm đau nhức do hư khớp. Ở Đức, trên thị trường có một sản phẩm chứa 90 mg bromelin, 48 mg trypsin (enzym nguồn động vật) và 100 mg rutin (một flavonoid bảo vệ mao mạch). Thử nghiệm nhằm so sánh sản phẩm này trong 6 tuần trên 90 người bị hư khớp háng với diclofenac (100 mg/ngày), một thuốc chống viêm không steroid. Kết quả điều trị tốt như diclofenac về đau nhức do hư khớp, không có tác dụng phụ. Kết quả tốt đối với đau nhức ở các khớp khác. Dứa dại còn có tác

dụng làm liền sẹo: một số enzym của quả Dứa làm mau lành các vết thương ở da hay các vết phỏng. Ở chuột bị phỏng, chất chiết xuất từ Dứa giúp tiến trình làm sạch một vết thương sau 4 giờ, lấy đi các vật lạ và mô chết để không còn trở ngại nào cho vết thương lành lại. Bromelin còn làm giảm hiện tượng phù nề, các vết bầm tím trên da và giảm đau nhức.

Chất fructan được chiết xuất từ cây Dứa dại, còn gọi là cây lan lười rồng, có khả năng ngăn ngừa sự phát triển của bệnh ung thư ruột kết, chữa chứng loãng xương và bệnh béo phì. Nhà khoa học Mercedes Guadalupe Lopez thuộc Cục Công nghệ sinh học và Sinh hóa bang Guanajuato, Mexico cho biết việc hấp thụ các phân tử đường có trong cây dứa dại có lợi cho bệnh ung thư ruột kết chủ yếu là do trong quá trình lên men, chất fructan này tạo ra acid butiric trong ruột già và bảo vệ các tế bào ruột kết tràng bằng cách không cho các vi khuẩn gây bệnh bám dính, qua đó giảm sự phát triển của bệnh ung thư. Còn đối với căn bệnh loãng xương, các chất fructan, khi là cacbonhydrat không hấp thụ, sẽ đi thẳng vào ruột già và biến thành acid giúp làm giảm độ pH. Điều này rất có lợi cho việc hấp thụ các chất khoáng như calci hay magnesi giúp làm chắc xương. Chất fructan này có thể tìm thấy trong thực phẩm bổ sung, một số ngũ cốc, mật ong và sữa bột, không có chống chỉ định.

Mới đây nhóm các nhà khoa học thuộc Trung tâm nghiên cứu cấp cao (CINVESTAV) đã phát hiện một loại chất có trong cây Dứa dại (Agave), nguyên liệu chính dùng làm rượu Tequila tại quốc gia này, có khả năng hỗ trợ điều trị bệnh béo phì, tiểu đường, loãng xương và một số chứng bệnh thông thường khác. Phát biểu với báo giới, nữ tiến sĩ Mercedes Guadalupe López Pérez, trưởng nhóm nghiên cứu, cho biết loại chất nói trên được gọi là các phân tử đường không thể tiêu hóa. Khi vào cơ thể người, các phân tử này sẽ đi thẳng xuống ruột già và được thải ra ngoài. Cơ chế này giúp người sử dụng không tăng cân và không thay đổi chỉ số đường huyết, hai yếu tố tối cần thiết trong công tác điều trị bệnh béo phì và tiểu đường. Các thử nghiệm trên cơ thể chuột cho thấy, sau tám tuần đưa các phân tử đường không thể tiêu hóa vào động vật này, các chú chuột đã giảm cân đáng kể. Các nhà khoa học kết luận rằng khi trong cơ thể chuột có một lượng chất đó, hormon GLP-1 trong cơ thể chuột (cũng có trong cơ thể người và được coi là có khả năng điều chỉnh tới 70% lượng insulin) được kích hoạt mạnh mẽ, khiến chúng mất cảm giác thèm ăn. Trên cơ sở đó, nhóm nghiên cứu cho rằng cơ chế này hỗ trợ tích cực cho điều trị béo phì và tiểu đường. Nhóm nghiên cứu còn phát hiện ra các chú chuột thí nghiệm đã hấp thụ chất calci nhiều hơn 50% so với chuột bình thường. Ngoài ra các phân tử đường không thể tiêu hóa nói trên còn làm tăng khả

năng đề kháng, giảm lượng vi khuẩn gây các bệnh về đường ruột, giảm nguy cơ táo bón và giảm nguy cơ mắc bệnh như ruột thừa. Tiến sỹ Pérez cho biết trong thời gian tới CINVESTAV sẽ tiến hành thử nghiệm trên cơ thể người. Nếu thành công, loại chất này sẽ mở ra đường hướng mới trong công tác điều trị béo phì và tiểu đường hiện "tấn công" tới 30% dân số Mexico.

### ***Phân bố của cây Dứa dại Việt Nam***

Theo Võ Văn Chi (1997), về phân loại thực vật họ dứa dại được xếp như sau:

- Ngành ngọc lan: Magnoliphyta
- Lớp hành: Liliopsida
- Phân lớp cau: Arecidae
- Bộ dứa dại: Pandanales
- Họ dứa dại: Pandanaceae
- Chi: Pandanus Parkins

Chi Pandanus Parkins ở Việt Nam có 20 loài, trong số đó có khoảng 5 loài được sử dụng làm thuốc và hương liệu.

Dứa dại *Pandanus odoratissimus* L.f

- Tên khác: Dứa gai, Dứa gỗ được coi là loài đặc hữu ở Việt Nam phân bố ở các tỉnh miền núi hoặc trung du phía bắc, trên các bãi ẩm có cát, trong các bụi ven biển, dọc bờ ngòi nước mặn, rừng ngập mặn; cũng phân bố trong đất liền ở vĩ độ thấp, dọc theo các sông từ Hòa Bình, Quảng Ninh, Nam Hà tới Quảng Nam, Đà Nẵng, Khánh Hòa, Bình Thuận, Đồng Nai, Kiên Giang.

- Phân vùng Dứa dại trên địa bàn tỉnh Thái nguyên: Cây Dứa dại là cây mọc hoang dã, được trồng làm hàng rào tại các vùng ven sông suối tại các huyện như Đại Từ, Phú Lương, Định Hóa, Võ Nhai với trữ lượng không lớn. Quả và rễ cây Dứa dại đã được đồng bào các dân tộc sử dụng để xao khô, sắc nước uống điều trị các bệnh gan, thận ... rất hiệu quả từ lâu đời. Do đặc điểm thổ nhưỡng và khí hậu phù hợp, nên dù không được gieo trồng và chăm sóc đầy đủ nhưng vẫn có đủ số lượng dược liệu từ cây dứa dại cho đồng bào các dân tộc sử dụng.

- Dứa dại là cây ưa ẩm và có thể hơi chịu bóng, thường mọc ven rừng ẩm, dọc theo các bờ khe suối, ở độ cao dưới 500m. Cây còn được trồng làm bờ rào ở nương rẫy. Dứa dại có khả năng đẻ nhánh khỏe, sau khi trồng được một hai năm cây đã thành bụi lớn. Cây ra hoa quả hàng năm, nhưng chỉ thấy trên những thân cây lớn không bị chặt phá.

- Đặc điểm: Cây nhỏ, phân nhánh ở ngọn, cao 2-4m, với rất nhiều rễ phụ trong không khí thòng xuống đất. Lá ở ngọn các nhánh hình dải dài 1-2m, trên gân chính và hai bên mép có gai nhọn. Bông mo đực ở ngọn cây thòng xuống với những mo màu trắng rời nhau. Hoa rất thơm bông mo cái đơn độc gồm rất nhiều lá noãn. Cụm quả tạo thành một khối hình trứng dài 16-22cm có cuống màu da cam gồm những quả hạch có góc xẻ thành nhiều ô.

- Bộ phận dùng: Ngọn non, rễ, quả.

- Thành phần hóa học: Hạt phấn hoa dứa gỗ và lá bắc rất thơm, khi chưng cất, người ta thu được nước thơm và hương liệu. Các phần ngoài của hoa (lá bắc) chứa tinh dầu 70% là methyl ether của – phenylethyl alcohol. Hoa nở chứa 0,1-0,3% tinh dầu chứa benzyl benzoate, benzyl salicylate, benzyl acetate, benzyl alcohol, geraniol, linalool, linalin acetate, bromostyren, guaiacol, phenylethyl alcohol và andehyd.

- Về tính vị và tác dụng: Dứa dại có vị ngọt và nhạt, tính mát, có tác dụng làm ra mồ hôi, giải nhiệt, tiêu viêm, lợi tiểu.

- Thu hái: Rễ thu hái quanh năm, thu các rễ chưa bám đất tốt hơn là rễ ở dưới đất, đem về thái mỏng, phơi hay sấy khô dùng dần. Thu hái quả vào mùa đông dùng tươi hay phơi khô.

- Công năng: Lương huyết, lợi tiểu, tiêu độc, trừ đàm, phát hãn (ra mồ hôi).

- Về công dụng: Rễ dứa dại được dùng trong phạm vi kinh nghiệm dân gian làm thuốc lợi tiểu chữa phù thũng, đái buốt, đái rắt, đái ra sỏi, chữa lòi dom, lợi

tiểu, chữa mắt ngủ. Dùng ngoài giã đắp chữa gãy xương, lòi dom. Đọt non dứa dại chữa sỏi thận, kinh phong trẻ em.

- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng 6-16g dưới dạng thuốc sắc.

- Bài thuốc:

+ *Chữa đau đầu mắt ngủ*: Rễ dứa dại 20 – 30g, sao thơm, sắc lấy nước, chia 2 lần uống trong ngày.

+ *Chữa tiểu buốt, đái ít*: Rễ dứa 20 – 30g, rễ dứa gai (trái thơm) 20 – 30g, sắc lấy nước chia 2 lần uống trong ngày.

+ *Chữa sỏi thận, tiết niệu*: Rễ dứa dại hoặc dứa quả dại 12 – 20g, hạt quả chuối hột 10 – 12g, rễ cỏ tranh 10 – 12g, bông mã đề 8 – 10g, kim tiền thảo (lá đồng tiền hay gọi lá mắt trâu) 15 – 20g, rễ cây lau 10 – 12g, củ cỏ ống 10 – 12g, sắc lấy nước uống làm 2 – 3 lần trong ngày vào trước bữa ăn, mỗi lần khoảng 100 – 150ml.

+ *Trị viêm thận phù thũng*: Rễ dứa dại 30 – 60g, thịt lợn nạc 150 – 200g, nấu thành canh ăn ngày một lần, một tuần cần ăn 3 – 4 lần. Kết hợp hằng ngày dùng rau dứa nước khô (du long thái) 30 – 60g, rau má 12 – 16g, bông mã đề 10 – 12g, bồ công anh 12 – 16g, sắc với nước uống vào trước bữa ăn ngày 2 lần, mỗi lần 150ml.

+ *Trị viêm gan, xơ gan cổ trướng*: Rễ dứa dại hoặc quả dứa dại 20 – 30g, lá cây ô rô 12 – 20g, sắc lấy nước thuốc uống ngày 2 lần, mỗi lần chừng 150ml vào trước bữa ăn.

+ *Chữa chứng viêm tinh hoàn*: Lấy hạt quả dứa dại 30 – 60g, lá tử tô 30g, lá quất hồng bì 30g, nấu kỹ lấy nước để còn ấm rửa hằng ngày.

+ *Ăn uống kém sau sinh*: Rễ dứa dại 15 – 20g, vỏ cây chòi mòi 7 miếng cỡ 4cm x 6cm, sắc lấy nước uống ngày 2 lần vào trước bữa ăn, mỗi lần khoảng 100ml.

### **1.6.2. Trữ lượng loài Dứa dại ở Việt Nam**

Theo ước tính trữ lượng dược liệu Dứa dại bao gồm cả các bộ phận thu hái được (đọt non, rễ, quả phơi khô) vào khoảng 10.000tấn/năm. Những năm gần đây, số liệu trên đã giảm đáng kể do quy hoạch và sử dụng đất khu vực ven biển có

nhieu thay doi. Hang rao cong nghiep thay cho hang rao Dura dai, khoan nuoi tom, ca cung anh huong khong nho den dien tich trong va moc hoang cua dura dai. Mot so vung bi khai thac lam thuoc mot cach tự phát đến kiệt quệ dẫn đến sự tái sinh tự nhiên chậm và không đáp ứng được nhu cầu sử dụng. Để phát triển công nghiệp Dược, cần có sự điều tra khảo sát lại nơi phân bố, trữ lượng của từng loài nhằm khoan vùng bảo vệ tái sinh, xây dựng kế hoạch thu mua, khai thác và trồng trọt.

### **1.6.3. Nghiên cứu về tác dụng sinh học của dura dai**

- **Tác dụng chống viêm:** Trên mô hình viêm cấp gây phù chân chuột bằng carageenan và mô hình viêm mạn gây phù chân chuột bằng formalin. Dịch chiết *Pandanus odoratissimus* trong methanol với liều 25, 50, 100mg/kg đã được nghiên cứu. Kết quả, dịch chiết với liều 100mg/kg đã thể hiện tác dụng chống viêm rõ rệt: tỉ lệ % giảm mức độ phù bàn chân chuột là 68% trong mô hình gây viêm cấp bằng carageenan (tại thời điểm 3h sau khi gây viêm) và 64,2% trong mô hình gây viêm mạn bằng formalin [65].

- **Tác dụng kháng khuẩn:** hoạt tính kháng khuẩn được xác định bằng cách xác định đường kính vòng vô khuẩn sử dụng phương pháp đĩa thạch. Đối tượng nghiên cứu bao gồm vi khuẩn gram âm, gram-dương và nấm. Kết quả cho thấy các phân đoạn dịch chiết của *Pandanus odoratissimus* đã có tác dụng trên một số vi khuẩn gram âm và gram dương như *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus ulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* và nấm như *Aspergillus niger*, *Neurospora curcus* [68].

- **Tác dụng chống oxy hóa invitro:** tác dụng chống oxy hóa trên invitro đã được tiến hành bằng các phương pháp.

+ Phương pháp sử dụng DPPH [80], hoạt tính chống oxy hóa được thể hiện qua việc giảm màu của DPPH, được xác định bằng cách đo quang ở bước sóng 517 nm. Hoạt tính chống oxy hóa được thể tính theo công thức:

$$\text{HTCO}(\%) = (\text{OD mẫu chứng} - \text{OD mẫu thử}) * 100 / (\text{OD chứng} - \text{OD trắng})$$

*Kết quả cho thấy:*



Dịch chiết trong methanol thể hiện hiệu lực chống oxy hóa 50%, EC 50 = 48.3  $\pm$  0.002 ug mL<sup>-1</sup>

Dịch chiết nước thể hiện tác dụng chống oxi hóa 50 % ở nồng độ > 1000 ug mL<sup>-1</sup>, EC50 > 1000 ug mL<sup>-1</sup>

+ Phương pháp xác định hoạt tính khử [80],

+ Phương pháp đánh giá khả năng bắt gốc superoxyd [80]: dịch chiết methanol của *Pandanus odoratissimus* đã ức chế 74,12% gốc superoxyd

+ Phương pháp đánh giá khả năng bắt nitric oxide [80]: dịch chiết methanol của *Pandanus odoratissimus* đã ức chế 73,55% nitric acid.

+ Phương pháp đánh giá khả năng bắt gốc hydroxyl [80]: dịch chiết methanol của *Pandanus odoratissimus* đã ức chế 78,14% gốc hydroxyl.

- **Tác dụng an thần gây ngủ** [80] : Tác dụng an thần gây ngủ, giải lo âu của dịch chiết lá cây Dứa dại (*Pandanus odoratissimus*) đã được nghiên cứu trên chuột nhắt sử dụng một số mô hình nghiên cứu dược lý thần kinh: mô hình đo hoạt động tự nhiên, trụ quay rotarod, kéo dài thời gian ngủ của pentobarbital. Kết quả cho thấy dịch chiết lá trong methanol liều 50, 100, 200 mg/kg đã làm giảm hoạt động tự nhiên, giãn cơ, tăng khả năng bám giữ và kéo dài thời gian ngủ của pentobarbital.

- **Nghiên cứu độc tính cấp**: đã được tiến hành trên chuột nhắt với liều 2000mg/kg theo hướng dẫn của OECD 2011. Kết quả cho thấy với liều 2000mg/kg thuốc (cán khô dịch chiết trong methanol) không thể hiện độc tính.

- **Tác dụng chống oxy hóa, bảo vệ gan**[68] :trên động vật gây tổn thương gan bằng CCl<sub>4</sub>, dịch chiết methanol *Pandanus odoratissimus* liều 50 và 100mg/kg đã giảm có ý nghĩa (p<0,05) serum transaminase (AST, ALT), alkaline phosphatase (ALP), bilirubin, uric acid và lipid peroxidation (LPO) và tăng có ý nghĩa superoxid dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathion (GSH) and vitamin E.

- **Nghiên cứu trên tác dụng hạ đường huyết** [65]

+ Trên nồng độ glucose huyết của chuột nhất trắng bình thường: nồng độ glucose huyết của chuột ở lô tiêm chế phẩm cao toàn phần (CT) và chế phẩm flavonoid toàn phần (FT) liều 300mg/kg giảm so với lô trắng

+ Trên mô hình gây tăng đường huyết thực nghiệm do glucose ngoại sinh: sau khi uống glucose nồng độ đường huyết của lô tiêm chế phẩm FT (lô III) tăng cao nhất ở thời điểm 3 giờ 30 phút, lô tiêm chế phẩm CT (lô IV) tăng cao nhất ở thời điểm 2 giờ, trong khi lô trắng có nồng độ đường huyết tăng cao nhất ngay thời điểm 1 giờ sau khi uống glucose, còn lô II(tiêm insulin) đến thời điểm 4 giờ. Mức tăng đường huyết cao nhất của lô III là 7,66 mmol/L, lô IV là 8,07 mmol/L, lô trắng là 8,03mmol/L và lô II là 6,44mmol/L.

+ Chế phẩm FT có tác dụng hạ đường huyết và tác dụng gây ức chế dung nạp glucose tốt hơn chế phẩm CT (% so với mức tăng tối đa lần lượt là 29,98% và 29,50%).

## Chương 2

### 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 Thuần – 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.

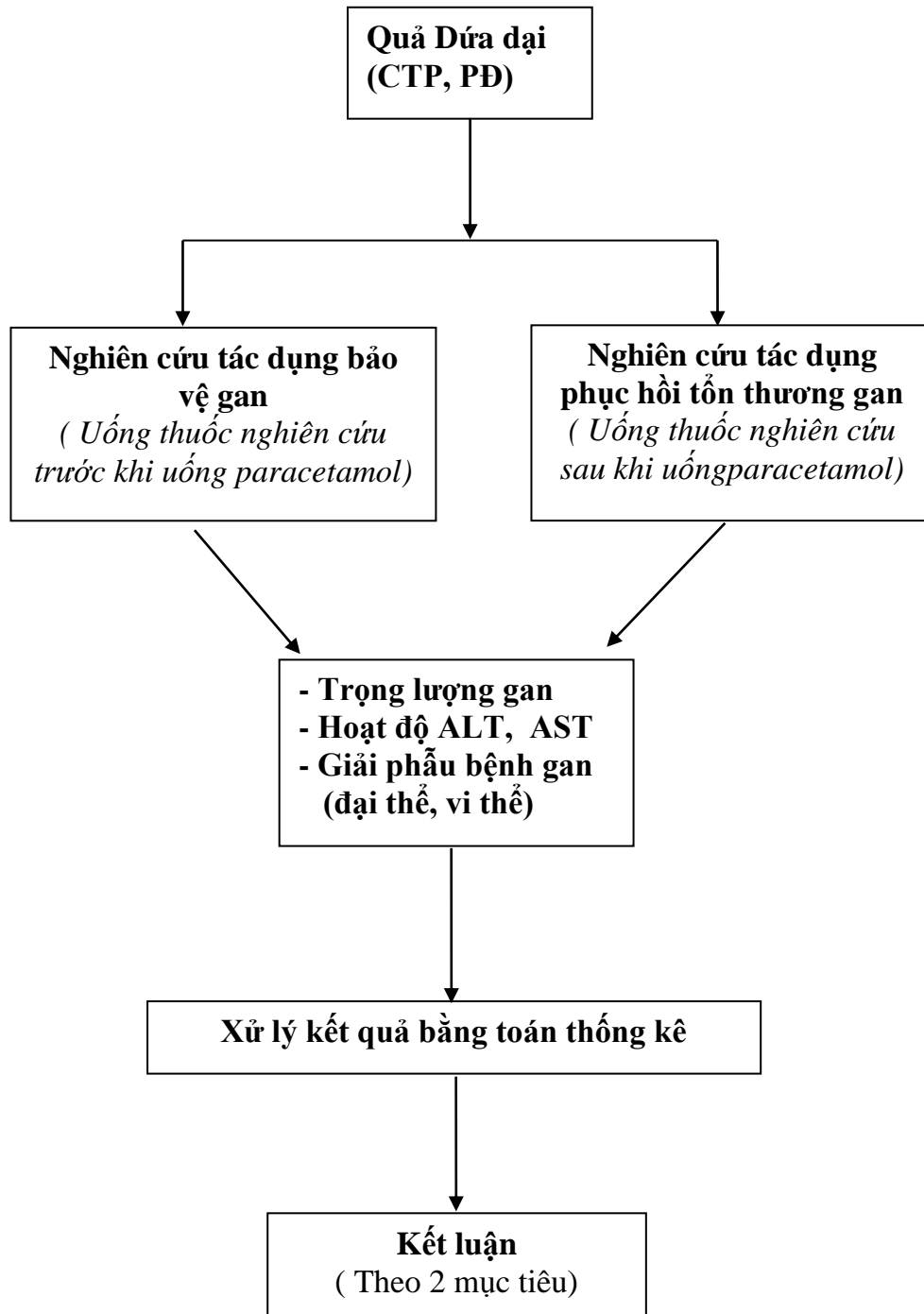
- Chỉ tiêu nghiên cứu:

+ Các xét nghiệm sinh hóa đánh giá chức năng gan: Hoạt độ enzym gan AST và ALT

+ Giải phẫu bệnh: Đại thể và vi thể gan của các lô chuột nghiên cứu.

- Tiêu chí đánh giá: So sánh kết quả xét nghiệm sinh hóa và giải phẫu bệnh giữa các lô chuột nghiên cứu.

Dựa theo mục tiêu nghiên cứu, các thí nghiệm được tiến hành theo sơ đồ sau:



Hình 1. Sơ đồ nghiên cứu

### ***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)*

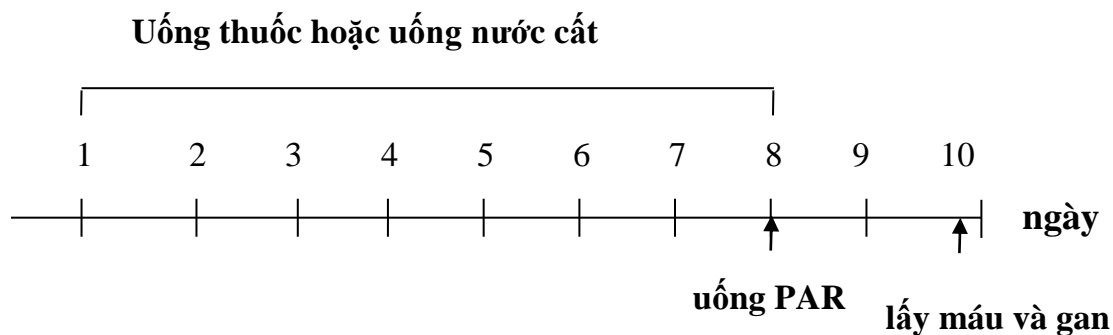
**Lô 5** ( CTP liều 2): uống CTP liều tương đương 14,4g dược liệu khô/kg/ngày+ uống PAR

**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.

#### Sơ đồ thời gian làm thực nghiệm:



#### 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 bằng phần mềm Microsoft Excel. Sự khác biệt có ý nghĩa khi **p < 0,05**.

### Chương 3

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 3.1. Tác dụng bảo vệ gan

*Bảng 1: Ảnh hưởng của CTP và PĐE 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
<b>Lô 1</b> (chứng sinh học)	10	<b>206,0 ± 14,2</b>		<b>58,4 ± 8,0</b>	
<b>Lô 2</b> (mô hình)	10	<b>328,4 ± 31,8</b>	<b>p<sub>2-1</sub> &lt; 0,001</b>	<b>240,5 ± 68,0</b>	<b>p<sub>2-1</sub> &lt; 0,001</b>
<b>Lô 3</b> (silymarin)	10	<b>225,1 ± 27,3</b>	p <sub>3-1</sub> > 0,05 <b>p<sub>3-2</sub> &lt; 0,001</b>	<b>116,9 ± 30,3</b>	<b>p<sub>3-1</sub> &lt; 0,001</b> <b>p<sub>3-2</sub> &lt; 0,001</b>
<b>Lô 4</b> (CTP liều 1)	10	<b>235,1 ± 22,9</b>	<b>p<sub>4-1</sub> &lt; 0,01</b> <b>p<sub>4-2</sub> &lt; 0,001</b> p <sub>4-3</sub> > 0,05	<b>95,9 ± 24,2</b>	<b>p<sub>4-1</sub> &lt; 0,001</b> <b>p<sub>4-2</sub> &lt; 0,001</b> p <sub>4-3</sub> > 0,05
<b>Lô 5</b> (CTP liều 2)	10	<b>232,8 ± 36,7</b>	<b>p<sub>5-1</sub> &lt; 0,05</b> <b>p<sub>5-2</sub> &lt; 0,001</b> p <sub>5-3</sub> > 0,05 p <sub>5-4</sub> > 0,05	<b>106,6 ± 21,6</b>	<b>p<sub>5-1</sub> &lt; 0,001</b> <b>p<sub>5-2</sub> &lt; 0,001</b> p <sub>5-3</sub> > 0,05 p <sub>5-4</sub> > 0,05
<b>Lô 6</b> (PĐE liều 1)	10	<b>208,4 ± 33,4</b>	p <sub>6-1</sub> > 0,05 <b>p<sub>6-2</sub> &lt; 0,001</b> p <sub>6-3</sub> > 0,05 p <sub>6-4</sub> > 0,05	<b>93,1 ± 20,9</b>	<b>p<sub>6-1</sub> &lt; 0,001</b> <b>p<sub>6-2</sub> &lt; 0,001</b> p <sub>6-3</sub> > 0,05 p <sub>6-4</sub> > 0,05
<b>Lô 7</b> (PĐE liều 2)	10	<b>216,6 ± 33,1</b>	p <sub>7-1</sub> > 0,05 <b>p<sub>7-2</sub> &lt; 0,001</b> p <sub>7-3</sub> > 0,05 p <sub>7-5</sub> > 0,05 p <sub>7-6</sub> > 0,05	<b>100,8 ± 29,4</b>	<b>p<sub>7-1</sub> &lt; 0,001</b> <b>p<sub>7-2</sub> &lt; 0,001</b> p <sub>7-3</sub> > 0,05 p <sub>7-5</sub> > 0,05 p <sub>7-6</sub> > 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<sub>2-1</sub> < 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
<b>Lô 1</b> (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 <b> bình thường</b> , 1/3 mẫu bệnh phẩm gan thoái hóa <b> nhẹ</b> , bào tương tế bào gan có ít hóc sáng nhỏ .
<b>Lô 2</b> ( mô hình)	Gan phù nề, sung huyết, nhạt màu, bề mặt gan không nhẵn, có nhiều chấm xuất huyết.	Các mẫu bệnh phẩm có hình ảnh gan thoái hóa <b> nặng</b> , bào tương tế bào gan có nhiều hóc sáng lớn và nhỏ. Một số tế bào mất nhân.
<b>Lô 3</b> (silymarin)	Gan màu đỏ, sung huyết nhẹ, rải rác có vài điểm tổn thương.	Các mẫu bệnh phẩm có hình ảnh gan thoái hóa <b> vừa</b> , bào tương tế bào gan có các hóc sáng nhỏ .
<b>Lô 4</b> (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 <b> vừa</b> .
<b>Lô 5</b> (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 <b> vừa</b> .
<b>Lô 6</b> (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 <b> nặng</b> , 1/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh gan thoái hóa <b> vừa</b> , 1/3 mẫu bệnh phẩm gan thoái hóa <b> nhẹ</b> .
<b>Lô 7</b> (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 <b> vừa</b> , 1/3 mẫu bệnh phẩm gan thoái hóa <b> nhẹ</b> .



### 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	<b>108,0 ± 14,6</b>		<b>48,4 ± 6,4</b>	
Lô 2 ( mô hình)	10	<b>442,0 ± 143,0</b>	<b>p<sub>2-1</sub> &lt; 0,001</b>	<b>286,3 ± 90,2</b>	<b>p<sub>2-1</sub> &lt; 0,001</b>
Lô 3 (silymarin)	10	<b>221,1 ± 40,7</b>	<b>p<sub>3-1</sub> &lt; 0,001</b> <b>p<sub>3-2</sub> &lt; 0,001</b>	<b>117,3 ± 35,8</b>	<b>p<sub>3-1</sub> &lt; 0,01</b> <b>p<sub>3-2</sub> &lt; 0,001</b>
Lô 4 (CTP)	10	<b>238,4 ± 74,3</b>	<b>p<sub>4-1</sub> &lt; 0,01</b> <b>p<sub>4-2</sub> &lt; 0,001</b> <b>p<sub>4-3</sub> &gt; 0,05</b>	<b>120,4 ± 40,7</b>	<b>p<sub>4-1</sub> &lt; 0,01</b> <b>p<sub>4-2</sub> &lt; 0,001</b> <b>p<sub>4-3</sub> &gt; 0,05</b>
Lô 5 (PĐE)	10	<b>205,9 ± 33,4</b>	<b>p<sub>5-1</sub> &lt; 0,001</b> <b>p<sub>5-2</sub> &lt; 0,001</b> <b>p<sub>5-3</sub> &gt; 0,05</b> <b>p<sub>5-4</sub> &gt; 0,05</b>	<b>94,1 ± 30,0</b>	<b>p<sub>5-1</sub> &lt; 0,01</b> <b>p<sub>5-2</sub> &lt; 0,001</b> <b>p<sub>5-3</sub> &gt; 0,05</b> <b>p<sub>5-4</sub> &gt; 0,05</b>

Kết quả ở bảng 3 cho thấy:

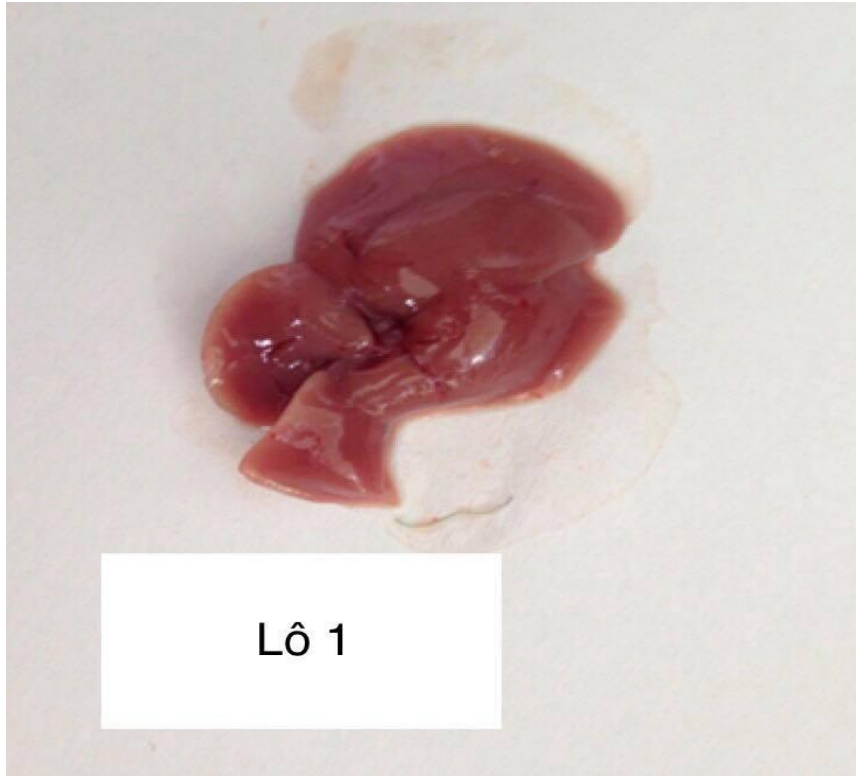
- Sau 2 ngày gây độc bằng PAR, hoạt độ AST và ALT ở lô mô hình gây độc bằng PAR tăng cao rõ rệt so với lô chứng sinh học ( $p_{2-1} < 0,001$ ).

- 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 ( $p < 0,01$ ).

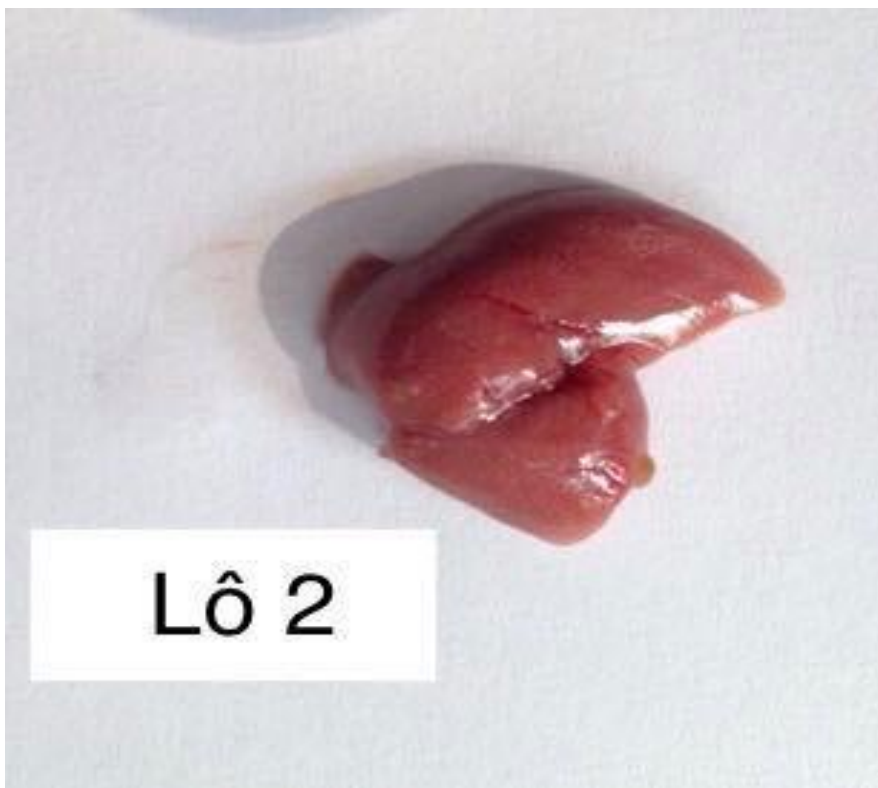
- Tác dụng làm giảm hoạt độ AST và ALT của các lô uống thuốc thử và uống silymarin tương đương nhau, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

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

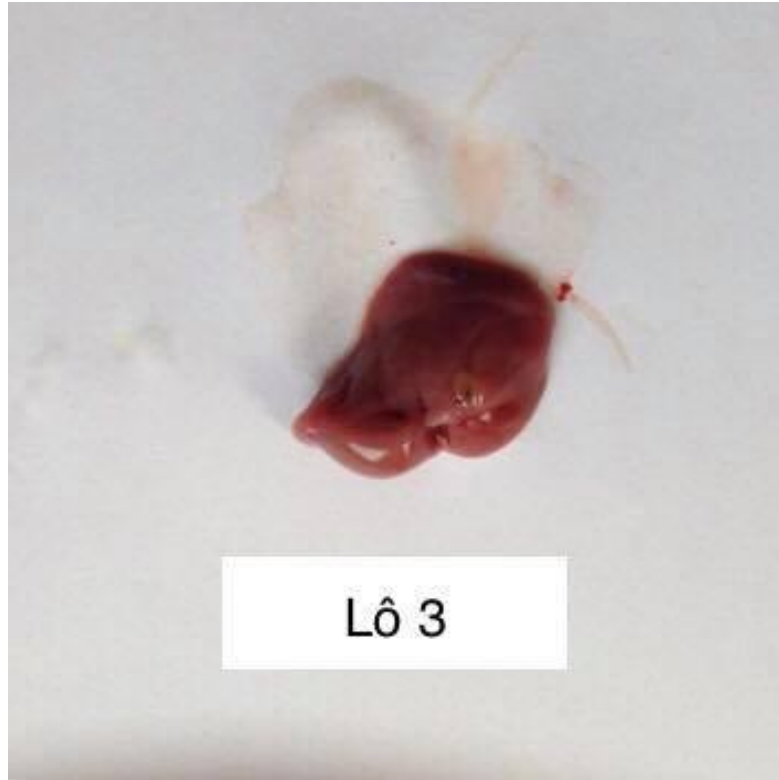
<b>Lô thí nghiệm</b>	<b>Đại thể</b>	<b>Vi thể</b>
<b>Lô 1</b> (chứng sinh học)	Gan màu đỏ, mặt nhẵn, mật độ mềm, không phù nề, không sung huyết.	2/3 mẫu bệnh phẩm cấu trúc vi thể gan bình thường, 1/3 mẫu bệnh phẩm gan thoái hóa <b>nhẹ</b> , bào tương tế bào gan có ít hóc sáng nhỏ.
<b>Lô 2</b> (mô hình)	Gan phù nề, sung huyết, nhạt màu, bề mặt gan không nhẵn, có nhiều ổ hoại tử, các chấm xuất huyết.	2/3 mẫu bệnh phẩm có thoái hóa <b>nặng</b> kèm 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 <b>vừa</b> , bào tương tế bào gan có khá nhiều hóc sáng nhỏ.
<b>Lô 3</b> (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 <b>vừa</b> , bào tương tế bào gan có nhiều hóc sáng nhỏ. Nhân tế bào không đều, có xâm nhập viêm ở khoảng cửa.
<b>Lô 4</b> (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 <b>nặng</b> , 1/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh gan thoái hóa <b>vừa</b> , 1/3 mẫu bệnh phẩm gan thoái hóa <b>nhẹ</b> .
<b>Lô 5</b> (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 <b>vừa</b> , 2/3 mẫu bệnh phẩm gan thoái hóa <b>nhẹ</b> .



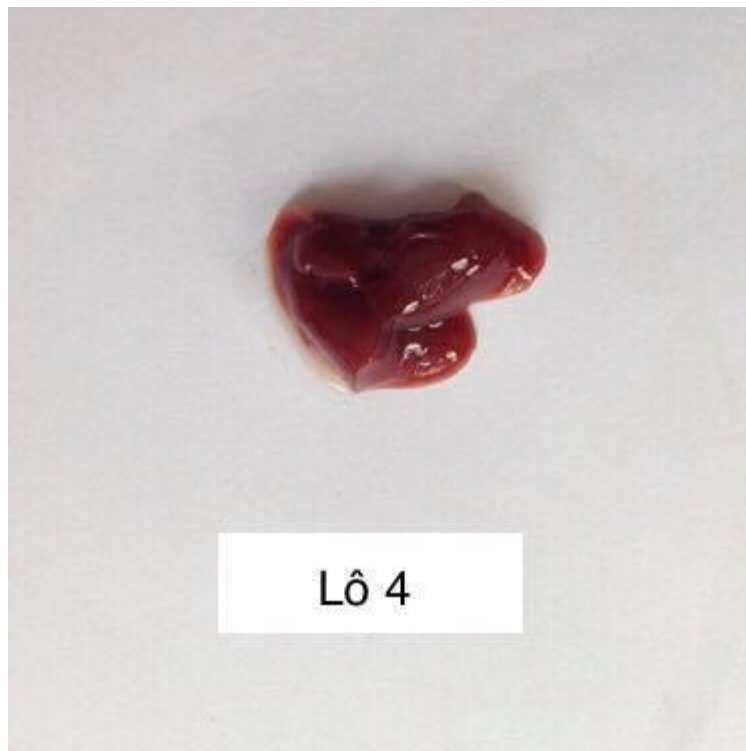
Hình 2: Đại thể gan chuột **Lô 1** (chứng sinh học)



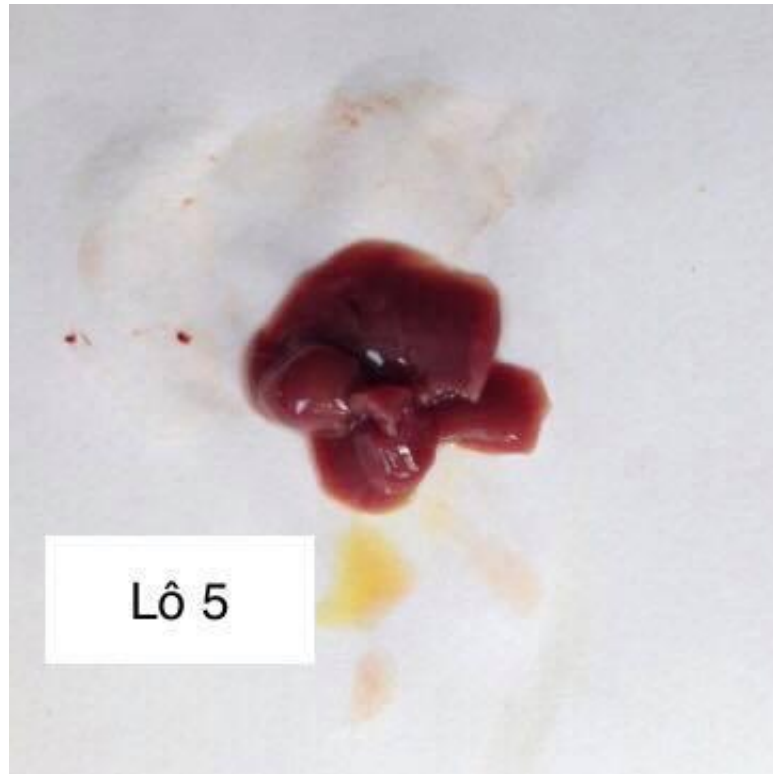
Hình 3: Đại thể gan chuột **Lô 2**  
(Mô hình – Gây độc nhưng không dùng thuốc)



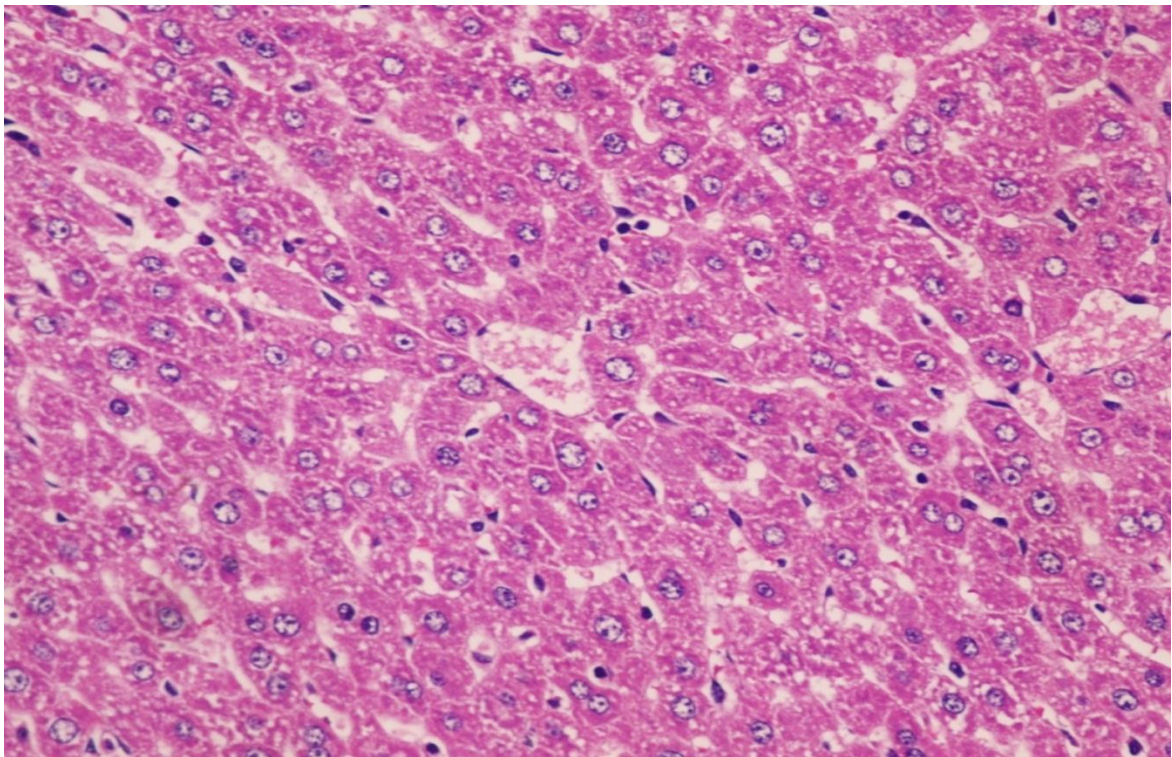
Hình 4: Đại thể gan chuột **Lô 3** (Silymarin)



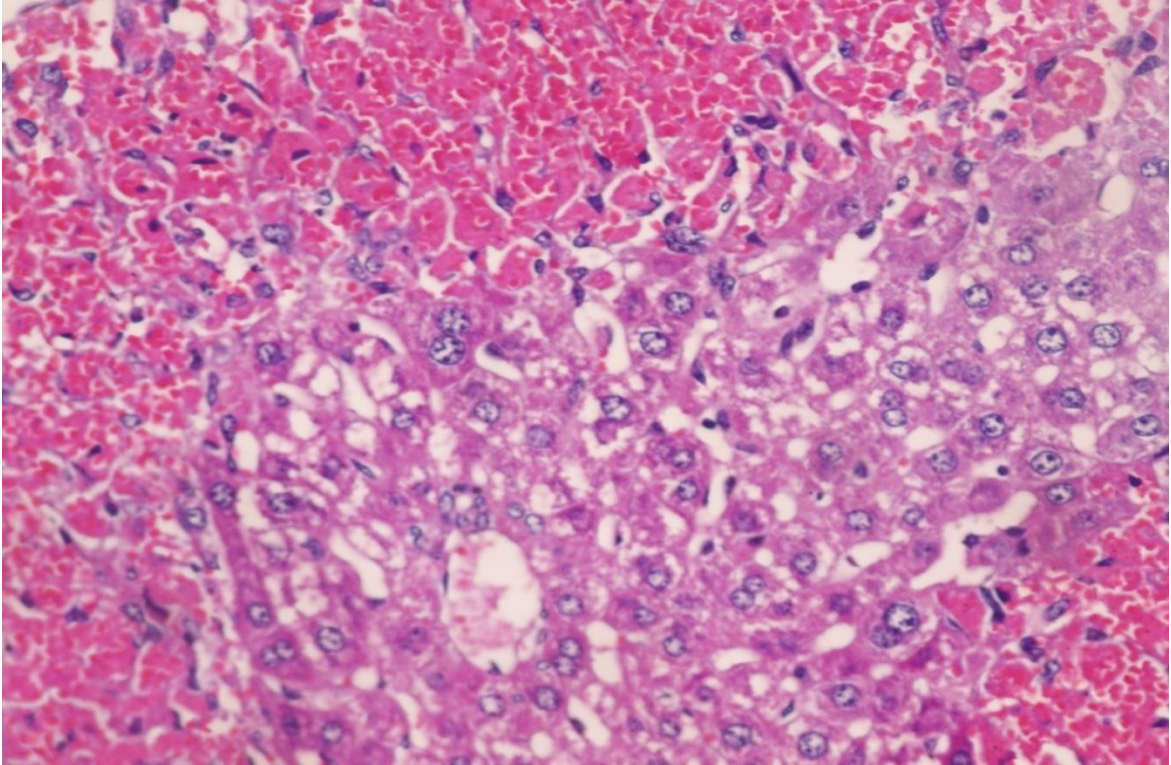
Hình 5: Đại thể gan chuột **Lô 4** (CTP)



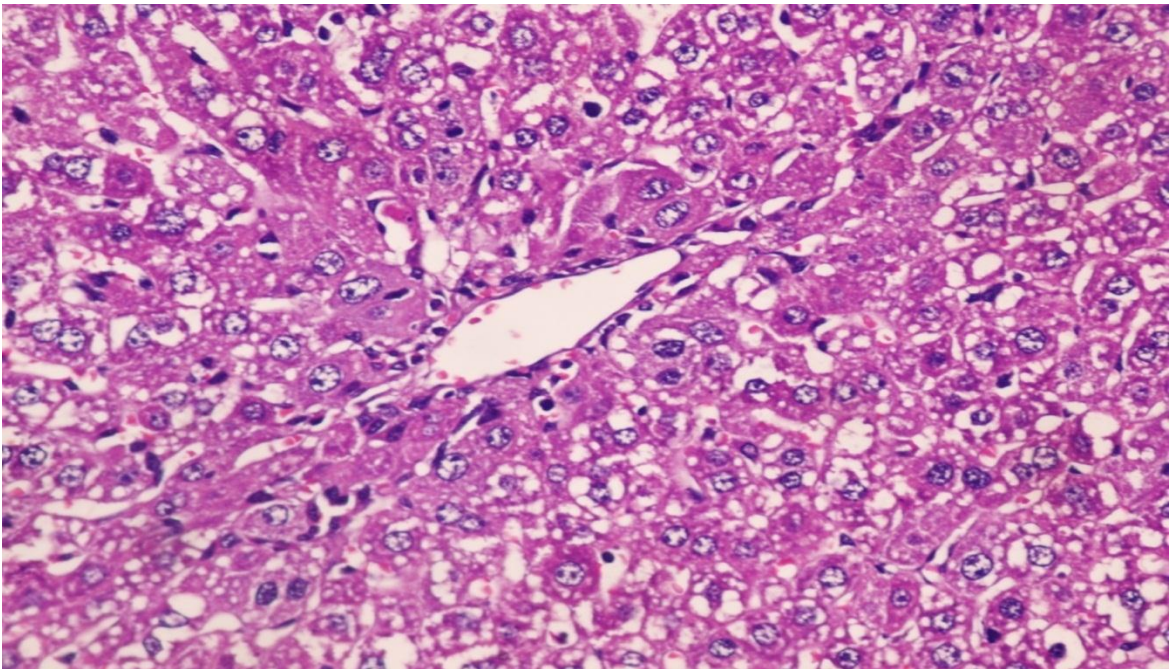
Hình 6: Đại thể gan chuột **Lô 5** (PĐE)



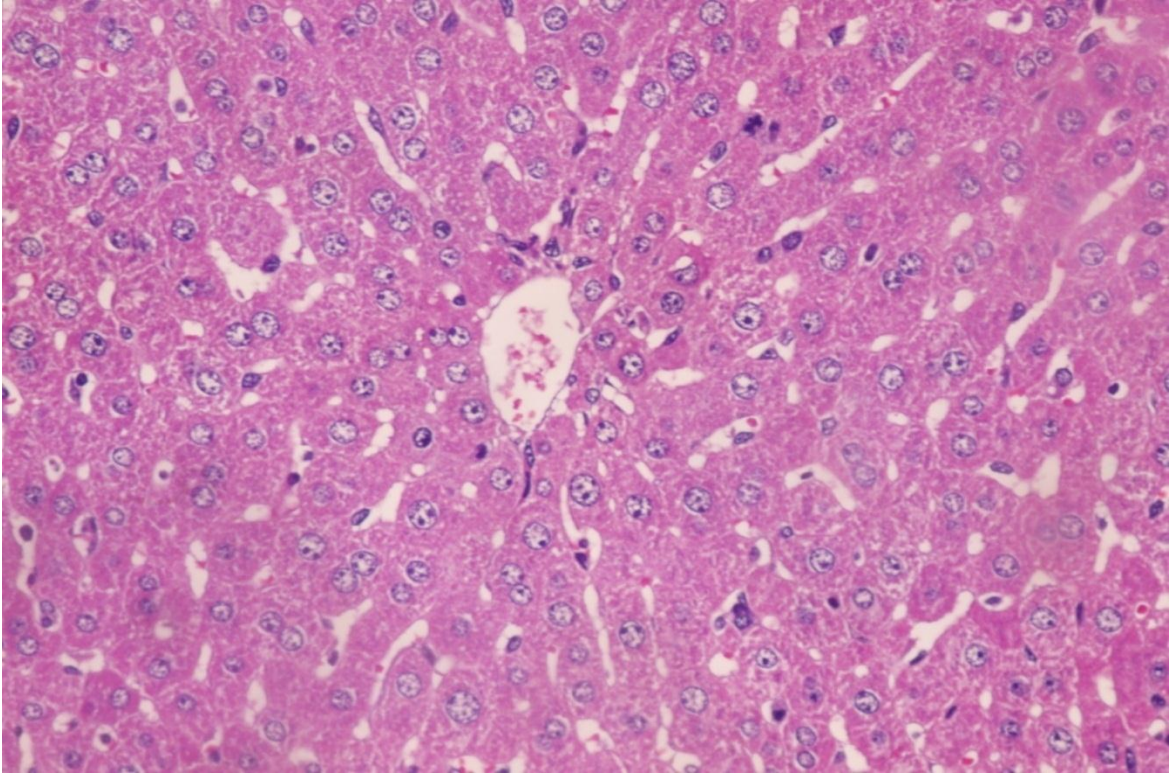
Hình 7: Hình ảnh vi thể gan chuột số 1 lô chứng sinh học  
(Gan thoái hóa **nhẹ**, bào tương tế bào gan có ít hốc sáng nhỏ.)



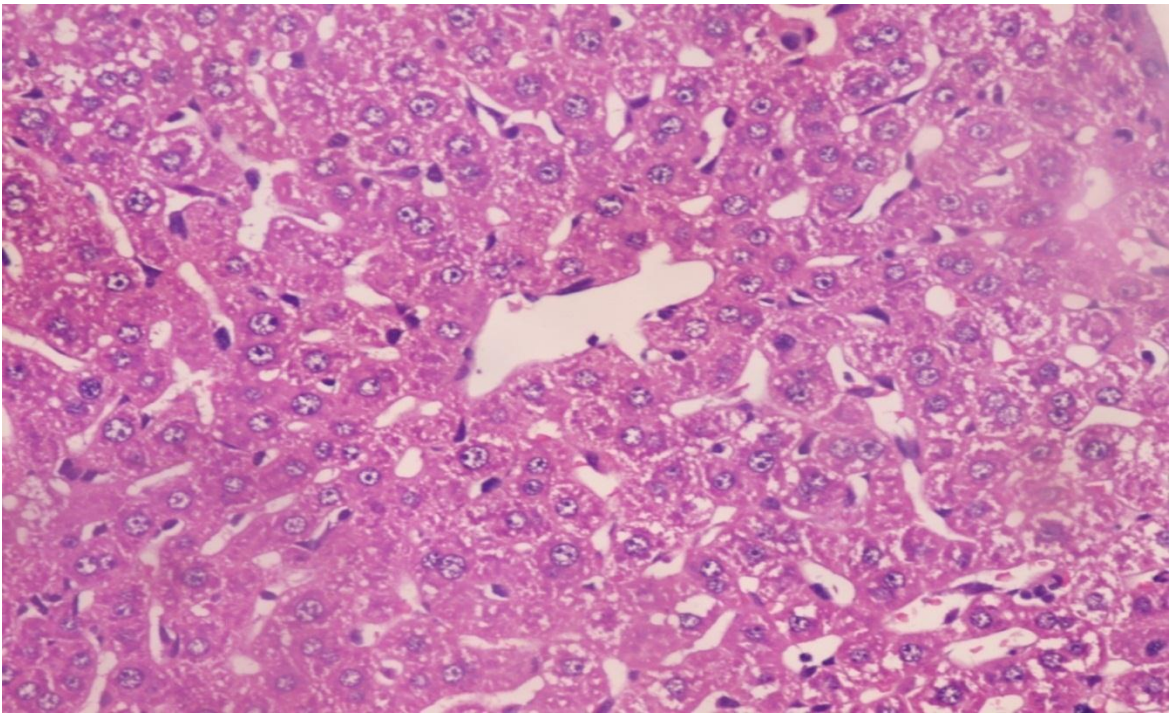
Hình 8: Hình ảnh vi thể gan chuột số 15 lô mô hình ( Gan có thoái hóa **nặng** kèm theo hoại tử tế bào gan, xen kẽ có các vùng hoại tử chảy máu, có xâm nhập viêm)



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)



Hình 10: Hình ảnh vi thể gan chột số 44 lô 4 ( Bào tương tế bào gan có ít hốc sáng nhỏ, gan thoái hóa **nhẹ**)



Hình 11: Hình ảnh vi thể gan chột số 46 lô 5 ( Bào tương tế bào gan có ít hốc sáng nhỏ, 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 (chứng sinh học)	5	<b>111,0 ± 12,5</b>		<b>49,6 ± 2,7</b>	
Lô 2 (mô hình)	10	<b>197,3 ± 24,7</b>	<b>p<sub>2-1</sub> &lt; 0,001</b>	<b>108,2 ± 17,1</b>	<b>p<sub>2-1</sub> &lt; 0,001</b>
Lô 3 (silymarin 67mg/kg)	10	<b>132,0 ± 35,7</b>	p <sub>3-1</sub> > 0,05 <b>p<sub>3-2</sub> &lt; 0,001</b>	<b>54,3 ± 6,7</b>	p <sub>3-1</sub> > 0,05 <b>p<sub>3-2</sub> &lt; 0,001</b>
Lô 4 (CTP)	10	<b>144,2 ± 28,0</b>	p <sub>4-1</sub> < 0,05 <b>p<sub>4-2</sub> &lt; 0,001</b> p <sub>4-3</sub> > 0,05	<b>56,7 ± 7,4</b>	p <sub>4-1</sub> > 0,05 <b>p<sub>4-2</sub> &lt; 0,001</b> p <sub>4-3</sub> > 0,05
Lô 5 (PĐE)	10	<b>130,6 ± 22,5</b>	p <sub>5-1</sub> > 0,05 <b>p<sub>5-2</sub> &lt; 0,001</b> p <sub>5-3</sub> > 0,05 p <sub>5-4</sub> > 0,05	<b>53,7 ± 4,6</b>	p <sub>5-1</sub> > 0,05 <b>p<sub>5-2</sub> &lt; 0,001</b> p <sub>5-3</sub> > 0,05; p <sub>5-4</sub> > 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, PDE và silymarin tương đương nhau, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

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

<b>Lô thí nghiệm</b>	<b>Đại thể</b>	<b>Vi thể</b>
<b>Lô 1</b> (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 <b>nhẹ</b> , bào tương tế bào gan có ít hốc sáng nhỏ.
<b>Lô 2</b> (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 <b>vừa</b> , bào tương tế bào gan có khá nhiều hốc sáng nhỏ. 1/3 mẫu bệnh phẩm gan thoái hóa <b>nhẹ</b>
<b>Lô 3</b> (silymarin)	Gan màu đỏ, không thấy rõ tổn thương trên bề mặt.	2/3 mẫu bệnh phẩm cấu trúc vi thể gan <b>bình thường</b> , 1/3 mẫu bệnh phẩm gan thoái hóa <b>nhẹ</b> .
<b>Lô 4</b> (CTP)	Gan màu đỏ, không thấy rõ tổn thương trên bề mặt.	1/3 mẫu bệnh phẩm cấu trúc vi thể gan <b>bình thường</b> , 2/3 mẫu bệnh phẩm gan thoái hóa <b>nhẹ</b> .
<b>Lô 5</b> (PDE)	Gan màu đỏ, không thấy rõ tổn thương trên bề mặt.	Các mẫu bệnh phẩm có hình ảnh gan thoái hóa <b>nhẹ</b> .

## Chương 4

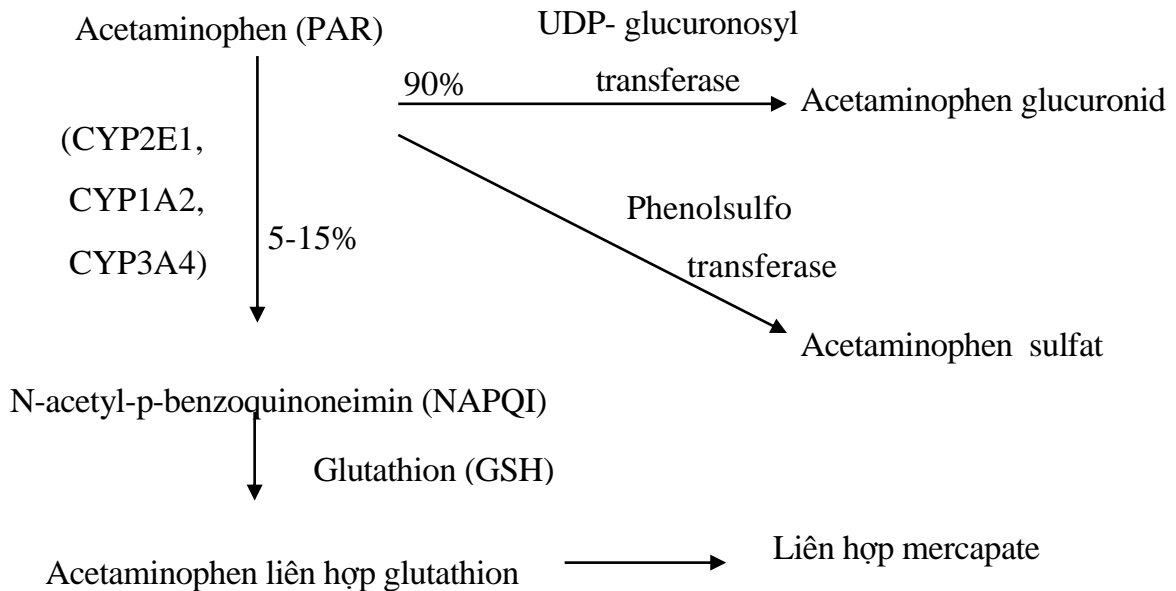
### BÀN LUẬN

Để đánh giá khả năng bảo vệ và phục hồi tổn thương gan, trước hết phải gây được mô hình gây viêm gan thực nghiệm. Mô hình gây viêm gan càng gần với thực tế và rõ ràng về cơ chế thì tính ứng dụng càng cao. Như đã trình bày trong phần tổng quan, có ba nhóm nguyên nhân chính gây viêm gan là do virus, do thuốc và do hóa chất. Vì vậy việc xây dựng mô hình gây viêm gan trên thực nghiệm thường dựa vào ba nhóm nguyên nhân này. Nếu gây được mô hình viêm gan do virus sẽ là mô hình rất tốt, có phạm vi ứng dụng lớn vì hiện nay viêm gan do virus vẫn là vấn đề nổi cộm ở Việt Nam cũng như thế giới. Tuy nhiên cho đến nay, chúng tôi chưa tìm thấy tài liệu tham khảo nào đã xây dựng được mô hình này.

Hiện nay trên thế giới cũng như ở Việt Nam, để nghiên cứu tác dụng bảo vệ và phục hồi tổn thương gan, thường sử dụng các mô hình gây viêm gan bằng thuốc hoặc hóa chất. Có nhiều loại thuốc/ hóa chất được sử dụng để gây mô hình viêm gan như PAR [11], [29], [52], [57], [59], [73], [74], [75], carbon tetrachlorid [11], [24], [52], [57], [60], [61], [66], [67], [82], [84], D- galactosamin [57], [68], ethanol [71], erythromycin estolat [76], aflatoxin B1 [57], thioacetamid [59] ..... Tất cả các mô hình trên đều đã được chứng minh rõ ràng về cơ chế gây tổn thương gan, việc lựa chọn mô hình nào cho nghiên cứu tùy thuộc vào mục tiêu nghiên cứu và điều kiện thực tế. Trong đề tài này chúng tôi chọn mô hình gây viêm gan bằng PAR liều cao.

Sở dĩ chúng tôi lựa chọn mô hình này vì PAR là thuốc hạ sốt, giảm đau thông thường được sử dụng rất rộng rãi trên toàn thế giới cũng như ở Việt Nam. Paracetamol được dùng để điều trị triệu chứng trong nhiều bệnh, thuốc dễ dung nạp, ít gây tai biến ở đường tiêu hóa, có thể mua dễ dàng mà không cần kê đơn. Chính vì lý do đó mà tình trạng lạm dụng thuốc hoặc sử dụng quá liều dẫn đến độc tính của thuốc thường xảy ra. Liều dùng thông thường của PAR cho người lớn từ 0,5- 1,0g / lần, các lần dùng cách nhau ít nhất 4 giờ, không được dùng quá 4,0g/ ngày. Với liều điều trị thông thường này, PAR rất ít gây độc cho gan. Chỉ khi dùng liều cao (> 10,0g), sau thời gian tiềm tàng 24 giờ, tế bào gan bị viêm cấp và hoại tử do tạo lượng lớn chất chuyển hóa N-acetyl-p-benzoquinoneimin (NAPQI) gây độc cho gan, có thể tiến triển tới chết sau 5-6 ngày [2], [21], [34], [69].

Sau khi vào cơ thể, paracetamol sẽ được chuyển hóa theo các con đường sau:



Thông qua quá trình glucuro – hợp và sulfo – hợp, khoảng 90% PAR được chuyển hoá tạo thành các chất không còn hoạt tính. Chỉ có 5 – 15% được chuyển hoá qua cytochrom P450 (CYP), các isoenzym CYP2E1, CYP1A2, CYP3A4, nhưng chủ yếu do CYP2E1 để tạo thành NAPQI là chất chuyển hoá gây độc với tế bào gan [64].

NAPQI là một chất độc với tế bào, nó gắn vào protein tế bào gan, gây viêm và hoại tử tế bào gan. Với liều điều trị, một lượng nhỏ NAPQI tạo ra sẽ liên hợp với glutathion - chất chống oxy hóa tự nhiên của cơ thể sẵn có trong gan để tạo ra hợp chất không gây độc đào thải ra ngoài. Tuy nhiên, nếu tốc độ sinh NAPQI lớn hơn tốc độ khử độc bởi GSH trong gan thì lượng NAPQI dư thừa sẽ oxy hoá các chất có trọng lượng phân tử lớn ở gan như protid, lipid, làm biến đổi nội môi, thay đổi tính thấm của màng tế bào với  $Ca^{2+}$ , dẫn đến peroxy hoá lớp lipid kép của màng tế bào, tạo ra các gốc tự do gây huỷ hoại tế bào gan [2], [34],[64].

Ở Việt Nam hiện nay, tỷ lệ bệnh nhân bị ngộ độc PAR ngày càng gia tăng. Theo thống kê tại Trung tâm chống độc bệnh viện Bạch Mai trong năm 1998 – 2000, ngộ độc PAR chiếm 6,34% [50]. Trong hai năm sau (2002 - 2003) Ngô Hữu Hà thống kê thấy tỷ lệ này tăng lên 12,2% và đứng thứ 3 trong các loại ngộ độc thuốc [21]. Theo tổng kết của trung tâm ADR quốc gia, ADR của nhóm thuốc hạ sốt – giảm đau, trong đó chủ yếu là PAR đứng hàng thứ 3 trong tổng số ADR của tất cả các nhóm thuốc (chỉ sau nhóm thuốc kháng sinh và thuốc chống lao) [9]. Vì vậy để đánh giá tác dụng bảo vệ và phục hồi tổn thương gan của rễ Mạ môn, chúng tôi lựa

chọn mô hình gây tổn thương gan bằng PAR liều cao cho phù hợp với thực tiễn lâm sàng hiện nay.

Trong mô hình gây độc với gan bằng PAR liều cao trên chuột nhắt trắng, mức độ tổn thương gan tùy thuộc vào liều lượng và đường dùng. Liều càng cao thì sự tổn thương tế bào gan càng nặng, có thể dẫn đến tử vong.

Theo Anwar (1995) liều PAR 1,0 g/ kg theo đường uống đã gây chết 100% số chuột nhắt trắng [53]. Göksel sener và cs (2006) tiêm màng bụng chuột PAR 900mg/kg đã gây độc tính nặng, làm tăng hoạt độ AST lên đến 1389,6 % và ALT lên 3162,5% so với nhóm chứng sinh học [59]. Theo Stephan U. và cộng sự, liều PAR 150mg/kg đường uống gây bán độc (subtoxic), liều 500mg/kg gây độc tính rõ [81]. Nghiên cứu của Mohamed A.F. và cộng sự chỉ ra rằng uống PAR liều 600mg/kg gây chết 80% và liều 1g/kg PAR gây chết 100% chuột [70].

Sau khi tham khảo tài liệu của các tác giả trong và ngoài nước[11], [29], [59], [66] và nghiên cứu thăm dò, chúng tôi chọn liều PAR gây độc trên chuột nhắt là 400mg/kg theo đường uống. Với liều gây độc này, chuột không chết sau khi gây độc, có thể quan sát được tổn thương gan ở mức độ vừa phải. Lựa chọn gây độc bằng PAR theo đường uống để phù hợp với thực tiễn lâm sàng, người bệnh chủ yếu bị ngộ độc thuốc theo đường uống. Trên thị trường thuốc ở nước ta hiện nay, có khoảng trên 200 biệt dược khác nhau của PAR, chủ yếu là dạng dùng đường uống.

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)[4]. 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 [5],[6],[7],[8].

#### 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 chứng dương trong các nghiên cứu về gan [5].

#### 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 PĐE.

Quan sát mô bệnh học cho thấy lô mô hình có tổn thương gan khá nặng. Ở các lô uống CTP, PĐE 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[9].

Sau 4 ngày gây độc, hoạt độ AST và ALT trong máu chuột ở tất cả các lô uống CTP, PĐE 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 PĐE 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 PĐE 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  $\text{CCl}_4$  [10]

Kết quả nghiên cứu đã cho thấy CTP và PĐE 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, PĐE đều có tác dụng tương đương CTP. Điều này cho thấy PĐE là hoạt chất chính có tác dụng trong quả dứa dại.

## Chương 5

### KẾT LUẬN VÀ KHUYẾN NGHỊ

#### 1. Kết luận

- CTP và PDE chiết xuất từ quả dứa dại với liều tương đương 7,2 g 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.

- CTP và PDE 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.

#### 2. Khuyến nghị

- Thực hiện các nghiên cứu chứng minh các tác dụng dược lý liên quan như: tác dụng lợi mật, tác dụng chống viêm cấp và chống viêm mạn tính, tác dụng chống oxy hóa *invivo* và *invitro* góp phần làm sáng tỏ thêm cơ chế tác dụng bảo vệ và phục hồi tổn thương gan của quả dứa dại.

- Thực hiện nghiên cứu tác dụng chống xơ gan của quả dứa dại.

- Tiến hành nghiên cứu trên các pha tiếp theo để đưa thuốc nghiên cứu ra thị trường.



## TÀI LIỆU THAM KHẢO

### I. Tài liệu tiếng Việt

1. Bùi Thị Bằng, Nguyễn Thượng Dong và cs (2004), “Tác dụng chống viêm gan và ức chế xơ gan của chế phẩm chiết xuất từ lá chè đắng thu hái ở Cao Bằng”, *Tạp chí Dược liệu*, 10 (5), tr. 145 - 151.
2. Bộ môn Dược lý, trường Đại học Y Hà Nội (2005), *Dược lý học lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học, tr. 11 - 30, 166 - 180.
3. Bộ môn Hoá sinh, trường Đại học Y Hà Nội (2007), *Hoá sinh*, Nhà xuất bản Y học, tr. 231- 273, 318, 371- 375.
4. Bộ môn Mô phôi, trường Đại học Y Hà Nội (2002), *Mô học*, Nhà xuất bản Y học Hà Nội, tr 428 - 441.
5. Bộ môn Miễn dịch - Sinh lý bệnh, trường Đại học Y Hà Nội (2007), *Sinh lý bệnh học*, Nhà xuất bản Y học Hà Nội, tr. 169 - 190.
6. Bộ môn Nội, trường Đại học Y Hà Nội (2004), *Bệnh học nội khoa, tập 1*, Bài giảng sau đại học, Nhà xuất bản Y học, tr. 113 - 130.
7. Bộ môn Sinh lý học, trường Đại học Y Hà Nội (2007), *Sinh lý học của gan*, Nhà xuất bản Y học, tr. 11 - 30.
8. Bộ Y tế (2002), *Dược điển Việt Nam III*, tr. 142.
9. Bộ Y tế (2006), *Tổng kết thẩm định báo cáo ADR năm 2002-2006*, Trung tâm ADR quốc gia, Chương trình hợp tác Việt Nam-Thụy Điển.
10. Nguyễn Hữu Bình (1980), “Điều trị hội chứng hoàng đản chủ yếu trong bệnh viêm gan siêu vi trùng bằng bài thuốc đông y Nhân trần”, *Những công trình nghiên cứu về thuốc nam*, Đại học Y Hà Nội.
11. Đinh Thị Kim Chi (2007), *Nghiên cứu tác dụng bảo vệ, phục hồi tổn thương gan cấp và độc tính của cây Cỏ mật (Eriochloa ramose (Retz.) Hack) trên thực nghiệm*, Luận văn Thạc sỹ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.

12. Võ Văn Chi (1996), *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, tr.297 – 299.
13. Bùi Xuân Dương (2006), *Sống với bệnh viêm gan*, Nhà xuất bản công an nhân dân.
14. Phạm Đức Dương (2001), *Đánh giá tác dụng điều trị của thuốc VG99 đối với một số chỉ số lâm sàng và cận lâm sàng trên bệnh nhân viêm gan B mạn tính*, Luận văn tốt nghiệp bác sĩ nội trú bệnh viện, Trường Đại học Y Hà Nội.
15. Đỗ Trung Đàm (1997), “Đánh giá mô hình gây phù thực nghiệm bằng cao lanh và caragenin để nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp của thuốc”, *Tạp chí Dược học*, (12), tr. 18-21.
16. Đỗ Trung Đàm (2001), “Phương pháp ngoại suy liều có hiệu quả tương đương giữa người và động vật thực nghiệm”, *Tạp chí Dược học*, (3), tr.8-9.
17. Nguyễn Minh Đức và cs (2007), “Tác dụng bảo vệ gan của công thức phối hợp các dược liệu diệp hạ châu- nhân trần tía- rau má- nghệ”, *Tạp chí Dược liệu*, 12 (3 + 4), tr. 115 - 120.
18. Phạm Thị Minh Đức (1997), “Ứng dụng kỹ thuật siêu âm chẩn đoán để tìm hiểu tình hình bệnh gan mật của các bệnh nhân đến khám và điều trị ở bệnh viện Hai Bà Trưng - Hà Nội 1989 - 1993”, *Tạp chí nghiên cứu Y học*, (1), tr. 3- 7.
19. Vũ Bằng Đình, Đặng Kim Thanh (2005), *Viêm gan virus và những hậu quả*, Nhà xuất bản Y học, tr. 382 - 400.
20. Lê Đăng Hà (1999), *Một số đặc điểm dịch tễ lâm sàng và hậu quả của viêm gan virus*, *Thông tin Y Dược*, (10), tr.12 - 15.
21. Ngô Hữu Hà (2004), *Nghiên cứu tình hình ngộ độc cấp các thuốc thường gặp tại trung tâm chống độc Bệnh viện Bạch Mai trong 2 năm 2002 -2003*, Luận văn tốt nghiệp Bác sĩ chuyên khoa cấp II, Trường đại học Y Hà Nội, tr. 46.

22. Dương Thị Ly Hương (2004), *Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan và độc tính cấp của củ tam thất trên súc vật thực nghiệm*, Luận văn Thạc sỹ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
23. Hoàng Tích Huyền (1996), *Viêm gan do thuốc*, Tài liệu giảng dạy sau đại học-chuyên ngành Dược lý- Trường Đại học Y Hà Nội.
24. Trần Lưu Vân Hiền, Tạ Thị Phòng, Trần Lê Dung (1999), *Thử độc tính cấp diễn và tác dụng bảo vệ gan của cây xuân hoa*, Tạp chí Dược học (9), tr. 15- 17.
25. Nguyễn Thế Khánh, Phạm Tử Dương (2001), “Xét nghiệm sử dụng trong lâm sàng”, Nhà xuất bản Y học, tr. 650 - 691.
26. Nguyễn Nhược Kim, Mai Thị Kim Loan (1999), “Góp phần đánh giá hiệu quả điều trị bệnh Viêm gan mạn tính và xơ gan giai đoạn còn bù bằng bài thuốc nghiệm phương YHCT”, *Tạp chí Y học cổ truyền Việt Nam*,(302), tr. 14 – 17.
27. Đỗ Tất Lợi (2001), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học.
28. Lê Thị Kim Loan, Nguyễn Trọng Thông, Vũ Thị Ngọc Thanh, Đinh Thị Kim Chi và cs (2007), “Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan của cây cỏ mật”, *Tạp chí Dược liệu*, 12 (3 + 4), tr. 111 - 114.
29. Nguyễn Thị Tuyết Mai (2006), *Nghiên cứu tác dụng bảo vệ và phục hồi tổn thương gan cấp của curcuminoid trên thực nghiệm*, Luận văn Thạc sỹ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
30. MIMS Việt Nam (2001), *Thuốc điều trị bệnh gan mật*.
31. Vũ Nam(1991), *Đánh giá kết quả điều trị bước đầu viêm gan do virus bằng thuốc cao lỏng chống viêm gan*, Luận văn tốt nghiệp Bác sĩ nội trú bệnh viện, Trường Đại học Y Hà Nội.
32. Phan Hải Nam (2004), *Một số xét nghiệm hoá sinh trong lâm sàng*, Học viện Quân y, tr. 22 - 36.

33. Đào Văn Phan (2000), *Silymarin(Legalon)-Đặc điểm dược lý và các ứng dụng trong lâm sàng*, Hội thảo khoa học Legalon và ứng dụng, Hà Nội 11/2000, tr.12 - 15.
34. Đào Văn Phan (2004), *Các thuốc giảm đau chống viêm*, Nhà xuất bản Y học, tr.61 – 65.
35. Phạm Hoàng Phiệt (2001),*Tổng quan tình hình viêm gan siêu vi B ở Việt Nam*, Hội thảo khoa học về điều trị viêm gan B ngày nay: Triển vọng mới cho bệnh nhân viêm gan B mạn tính, Hồ Chí Minh tháng 12/2001.
36. Vũ Thị Phương(2001), “Hóa sinh hệ thống gan mật”, *Hóa sinh học*, Trường Đại học Y Hà Nội,Nhà xuất bản Y học, tr.665 – 685.
37. Hoàng Quang, Hoàng Hà (1997),“Nghiên cứu so sánh 1 số chỉ số hoá sinh ở bệnh nhân viêm gan cấp do HBV và do các virus viêm gan khác”, *Tạp chí Y học Việt Nam*, (8), tr. 6 - 12.
38. Đỗ Kim Sơn, Đỗ Văn Tráng, Đỗ Mạnh Hùng và cộng sự (1988), “Nghiên cứu tác dụng của actiso trong bệnh lý đường mật”, *Tạp chí Y học Việt Nam*, (5-6), tr.19-27.
39. Đặng Kim Thanh (2001), *Nghiên cứu tác dụng của nước sắc chàm tía trên bệnh nhân mổ sỏi đường mật và viêm gan virus cấp*, Luận văn Tiến sỹ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
40. Hoàng Trọng Thăng (2002), *Bệnh tiêu hoá gan mật*,Nhà xuất bản Y học, tr. 213 - 227.
41. Trần Thuý, Trương Việt Bình, Hồ Hải Nam (1997), *Nghiên cứu tác dụng bài thuốc Nhân trần cao thang gia vị vào điều trị viêm gan*, Kỷ yếu công trình nghiên cứu Y học, Viện Y học cổ truyền Việt Nam, tr.27 - 34.
42. Huỳnh Ngọc Thụy và cs (2001), “Nghiên cứu tác dụng bảo vệ tế bào gan chuột bị nhiễm độc CCl<sub>4</sub> của cây chó đẻ thân xanh”, *Tạp chí Dược học*, (4), tr. 21 - 23.

43. Trần Quốc Toàn, Nguyễn Duy Thuần, Nguyễn Tiến Đạt (2009), “Hai dẫn xuất oxazol mới phân lập từ cây ma mên *Aganope balansae* Gagnep”, *Tạp chí Dược học* (4), tr.38-40.
44. Trung tâm khoa học tự nhiên và công nghệ quốc gia (2003), *Danh lục các loài thực vật ở Việt Nam, tập 2*, Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội, tr.754 - 788.
45. Trung tâm nghiên cứu và phát triển cây thuốc dân tộc (2002), *Nguồn dược liệu Việt Nam có nguy cơ cạn kiệt*, Hội thảo về tài nguyên cây thuốc, Hà nội 3/2002.
46. Lại Thị Vân ( 2003), “Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan và một số tác dụng dược lý liên quan của cây Nhỏ đông”, Luận văn thạc sỹ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
47. Vũ Đình Vinh (2001), *Hướng dẫn sử dụng các xét nghiệm sinh hoá*, Nhà xuất bản Y học, tr.251 - 253.
48. Cao Văn Viên (2005), *Hội thảo chuyên đề Hepsara – bước tiến trong điều trị viêm gan siêu vi B mạn tính*, Hà Nội tháng 01/2005.
49. Viện Dược liệu (2004), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, tr.492 - 493.
50. Viện Dược liệu (2006), *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lí của thuốc từ thảo dược*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, tr.171 - 183.
51. Đặng Thị Thanh Xuân (2000), “Tình hình ngộ độc cấp tại khoa chống độc Bệnh viện Bạch Mai 1998- 2000”, *Kỷ yếu công trình NCKH Bệnh viện Bạch Mai*, Nhà xuất bản Y học.
52. Phạm Thị Cẩm Yên (2006), *Nghiên cứu thực nghiệm tác dụng bảo vệ gan và một số tác dụng dược lý liên quan của chế phẩm AH*, Luận văn Thạc sỹ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.

## **II. Tài liệu Tiếng Anh**

53. Anwar – ul Hassan Ginali and Khalid Husain Janbaz (1995), “Studies on protective effect of *Cyperus scariosus* extract on acetaminophen and CCl<sub>4</sub> – induced hepatotoxicity”, *Gen. Pharmac*, Vol 26, N<sub>o</sub> 3, pp.627 -631.
54. Bao En Wands (2000), "Treatment of chronic liver disease with traditional chinese medicine", *Journal of gastroenterology and Hepatology*, Vol. 15, pp.67 -70.

55. Bataller, R., Brenner, D.A.,(2005),“Liver fibrosis”, *The Journal of clinical investigation*, 115, pp.209 - 228.
56. Britton R.S., Bacon B.R. (1994), “Role of free radicals in liver diseases and hepatic fibrosis”, *Hepatogastroenterology*, 41 (4), pp. 343 - 348.
57. Dhawan B.N. (1997), *Hepatoprotective activity of natural products experimental evaluation*, International workshop on medicinal plants their bioactivity, screening and evaluation. Lucknow, L15.
58. Gebhardt R (2002), *Planta Med* (9), 68, pp.776-779.
59. Gökselsener, Hale Z, Tklu (2006),“Protective effects of resveratrol against acetaminophen induced toxicity in mice”, *Hepatology Reseach*,vol 35, pp.62- 68.
60. Hewawasam R.P., Jayatilaka K.A., Pathirana C., Mudduwa L.K. (2003), “Protective effects of *Asteracantha longifolia* extract in mouse liver injury induced by carbon tetrachloride and paracetamol”, *Pharm pharmacol*, 55 (10), pp.1413 –1418.
61. Hewawasam R.P., Jayatilaka K.A., Pathirana C., Mudduwa L.K. (2004), “Protective effects of *Epilobium divaricatum* extract on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in mice”,*Indian J Med Res*, vol 120, pp.30-34.
62. Isacc Túnez, M. Carmen Munoz, Michelle A (2005),“Hepato- and neurotoxicity induced by thioacetamide: Protective effects of melatonin and dimethylsulfoxide”,*Pharmacological research*, pp. 223 - 228.
63. Jules L. Dienstag (2005), “Introduction to chronic Hepatitis BDiagnosis, Clinical Features, and Natural History”, *Entez PubMed*.
64. Kathleen A.D. (1998),*Toxicologic emergencies. Jeanman. M. Roche*, pp. 197-209, 213 – 225.
- 65.Lecomte M.H (1922), *Flora Générale de L'Indo -Chine*, pp.403 – 425.
66. Lin S. C., Chung T.C., Lin C.C. (2000),“Hepatoprotective effects of *Artium lappa* on carbon tetrachlorid and acetaminophen- induced live damage”, *Am J Chin Med*, 28 (2), pp.163-73.
67. Liu G. T., Li Y., Wei H. L., Zang H., Xu J. Y., Yu L. H. (2005), “Mecanism of protective action of bicyclol against carbon tetrachlorid- induced liver injury in mice”,*Liver international*, vol 25, pp.872- 79.

68. Londonkar R, A Kamble and VC Reddy (2010). Anti-inflammatory activity of *Pandanus odoratissimus* extract. *Int. J. Pharmacol*, Vol 6, pp. 311-314.
69. Martin. J. S. (1998), *Acetaminophen*, Toxicologic emergencies. Jeanman. M. Roche, pp.543-558.
70. Mohamed A.F., Ali Hasan A. G, Hamamy M.I., Abdel- Satta E. (2005), "Antioxidant and hepatoprotective effects of *Eucalyptus macucata*", *Med Sci Monit*, 11(1), pp. 426-31.
71. Molina M.F., Reus I.S and al (2003), "Quercetin a flavonoid antioxidant, prevents and protects against ethanol- induced oxidative- stress in mouse liver", *Bio pharm Bull*, 26(10), pp.1398-1402.
72. Nagoev B.S., Abidw M.T., Ivanova M.R (2002), "LPO and free- radical oxidation parameters in patients with acute viral hepatitis", *Bull Exp Bio Med*, 134 (6), pp.557 – 558.
73. Nahid Tabasum, Sushma Chattervedi, S. S Aggrawai, Nissar Ahmed (2005), *Hepatoprotective studies on Phyllanthus Niruri on Paracetamol induced liver cell damage in albino mice*, Vol 12, No. 4, pp.211 - 212.
74. Nishida T., Matsura T., Nakada J., Togawa A. and al (2006), "Geranylacetone protects against acetaminophen induced hepatotoxicity by inducing heat shock protein 70", *Toxicology*, vol 219, pp.187 -196.
75. Oliveira F.A., Chaves M.H., Almeida F.R. and al (2005), *Protective effects of alpha- anbeta anryrin a triterpene mixture from protium heptaphyllum (Aubl) March. Trunk wood resin against acetaminophen induced liver injury in mice*. *J. Ethnopharmacol*, 198 (1- 2), pp.103- 108.
76. Pari L. et al (2004), "Protective role of tetrahydrocurcumin against erythromycin estolate - induced hepatotoxicity", *Pharmacol Res*, 49 (5), pp.491-496.
77. Park E.J., Jeon C.H., Ko J., Kim J., Sohn D.H. (2000), "Protective effect of curcumin in rat liver injury induced by carbon tetrachloride", *J Pharm Pharmacol*, 52 (4), pp. 437-440.
78. Pradhan, SC; Girish, C (2006), "Hepatoprotective Herbal Drug, Silymarin From Experimental Pharmacology to Clinical Medicine", *J Pharm Pharmacol*, 52 (4), pp.437 - 440.
79. Rudii R. V. (1977), *Pharmacologia i tokcikologia*, 4, pp.11 – 16.

80. Sama Raju, Narra Venkata Subbaiah (2011), "Potential of *Pandanus odoratissimus* as a CNS depressant in Swiss albino mice", *Brazilian journal of pharmaceutical sciences*, vol. 47, pp. 3.
81. Stephan U., Ruepp, Robert P. Tonge and al (2002), "Genomics and proteomics analysis of acetaminophen toxicity in mouse liver", *Toxicological sciences*, vol 65, pp.135-150.
82. Weber L. W., Boll M., Stampfl A. (2003), "Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model", *Crit Rev Toxicol*, 33 (2), pp.105-136.
83. William M. Lee (2003), "Drug – induced hepatotoxicity", *N Engl J Med*, vol 349, pp.474 – 485.
84. Wu-Yi Sun, Wei Wei, li Wu, Shuan membranceus on liver of g- Ying Gui, Hua Wang (2007), "Effects and mechanisms of extract from *Paeonia lactiflora* and *Astragalus membranceus* on liver fibrosis induced by carbon tetrahloride in rats", *Journal of Ethnopharmacology*, pp. 514 - 523.
85. Winter, C.A; Risley, E.A and Nuss, G.W (1962), Carrageenin induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti inflammatory drug. *Proc, exp. Biol. NJ*, 111, pp. 544 – 547.
86. Yang, Y, Nemoto, E.M., Harvey, S.A., Subbotin, V.M., Gandhi, C.R., (2004), *Increased hepatic platelet activating factor (PAF) and PAF receptors in carbon tetrachloride induced liver cirrhosis*, *Gut* 53, pp. 877 -883.