

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



NGUYỄN THỊ NGỌC ÁNH

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG
BẢO VỆ TẾ BÀO GAN CỦA VIÊN NÉN
BẢO ĐƯỜNG CAN PC TRÊN ĐỘNG VẬT
THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

Chuyên ngành: Y học cổ truyền

Mã số: 8720115

Người hướng dẫn khoa học:

1. TS.BS. Trần Đức Hữu
2. TS.BS. Trần Thanh Tùng

Hà Nội – 2024

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành luận văn này, tôi xin trân trọng bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới:

Đảng ủy, Ban Giám đốc, Phòng đào tạo Sau Đại học, các Bộ môn, khoa phòng cùng các thầy cô trong Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam đã tạo điều kiện và giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và làm luận văn.

Tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc đến **TS. BS. Trần Đức Hữu** và **TS. BS. Trần Thanh Tùng** đã trực tiếp hướng dẫn định hướng đề tài và trang bị cho tôi kiến thức chuyên ngành, sửa chữa thiếu sót trong luận văn, động viên tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban Giám đốc, Bộ môn Dược lý Trường Đại học Y Hà Nội đã hết sức hợp tác, tạo điều kiện hỗ trợ tôi trong quá trình thực hiện đề tài.

Cuối cùng, tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc tới gia đình, bạn bè, đồng nghiệp và tập thể anh chị em học viên lớp Cao học 15 đã giúp đỡ, động viên, ủng hộ tôi trong quá trình học tập và hoàn thành luận văn này.

Tôi xin trân trọng cảm ơn!

Hà Nội, ngày 18 tháng 11 năm 2024



Nguyễn Thị Ngọc Ánh

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Nguyễn Thị Ngọc Ánh, học viên cao học khóa 15, Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam, chuyên ngành Y học cổ truyền xin cam đoan:

1. Đây là luận văn do tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của TS. **BS Trần Đức Hữu** và TS. **BS. Trần Thanh Tùng**.
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào được công bố tại Việt Nam.
3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về cam kết này!

Hà Nội, ngày 18 tháng 11 năm 2024

Người viết cam đoan



Nguyễn Thị Ngọc Ánh

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Chức năng sinh lý của gan.....	3
1.1.1. Chức năng chuyển hóa.....	3
1.1.2. Chức năng khử độc	4
1.1.3. Chức năng tạo mật	4
1.1.4. Chức năng dự trữ	5
1.2. Bệnh lý viêm gan theo Y học hiện đại.....	5
1.2.1. Khái niệm	5
1.2.2. Nguyên nhân.....	5
1.2.3. Cơ chế bệnh sinh	6
1.2.4. Chẩn đoán viêm gan.....	10
1.2.5. Điều trị viêm gan.....	11
1.3. Bệnh lý viêm gan theo Y học cổ truyền	12
1.3.1. Khái niệm	12
1.3.2. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh.....	13
1.3.3. Các thể bệnh viêm gan theo y học cổ truyền.....	16
1.4. Một số mô hình nghiên cứu về tác dụng bảo vệ tế bào gan	17
1.4.1. Mô hình in vitro.....	18
1.4.2. Mô hình ex vivo	19
1.4.3. Mô hình in vivo	19
1.4.4. Một số mô hình in vivo gây tổn thương gan.....	20
1.5. Giới thiệu bài thuốc Bảo Đường Can PC	20
1.5.1. Đặc điểm của bài thuốc	22
1.5.2. Phân tích bài thuốc	23
Chương 2. CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	27
2.1. Chất liệu nghiên cứu	27
2.1.1. Công thức viên nén Bảo đường can PC	27
2.1.2. Thuốc, hóa chất và dụng cụ phục vụ nghiên cứu	28
2.2. Thời gian và địa điểm tiến hành nghiên cứu	29
2.3. Đối tượng, phương pháp nghiên cứu	29

2.3.1. Đối tượng nghiên cứu.....	29
2.3.2. Phương pháp nghiên cứu.....	30
2.4. Đạo đức trong nghiên cứu	32
2.5. Phương pháp xử lý số liệu	33
2.6. Sai số và biện pháp khống chế sai số.....	33
Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....	34
3.1. Đánh giá độc tính cấp của viên nén Bảo đường can PC trên động vật thực nghiệm.	34
3.2. Đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào gan trên mô hình viêm gan cấp bằng paracetamol của Bảo đường can PC lên động vật thực nghiệm:.....	34
3.2.1. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC lên cân nặng gan chuột	34
3.2.2. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến chức năng gan của chuột nhắt trắng gây tổn thương gan bằng paracetamol.....	35
3.3. Đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào gan trên mô hình viêm gan bằng ethanol của viên nén Bảo đường can PC lên động vật thực nghiệm:	43
3.3.1. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC lên cân nặng gan chuột	43
3.3.2. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến chức năng gan của chuột nhắt trắng gây tổn thương gan bằng ethanol	44
3.3.3. Hình ảnh đại thể và vi thể gan của chuột nhắt trắng	48
Chương 4. BÀN LUẬN.....	55
4.1 . Độc tính cấp của Bảo đường can PC trên mô hình động vật thực nghiệm...55	
4.2 Tác dụng bảo vệ tế bào gan của Bảo đường can PC lên mô hình động vật thực nghiệm.	56
4.2.1. Tác dụng bảo vệ tế bào gan của Bảo đường can PC trên mô hình chuột nhắt trắng gây tổn thương gan bằng paracetamol.....	56
4.2.2. Tác dụng bảo vệ tế bào gan của Bảo đường can PC trên mô hình chuột nhắt trắng gây viêm gan do ethanol.....	60
KẾT LUẬN.....	63
KIẾN NGHỊ.....	64
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

ADH	Alcohol dehydrogenase
ALDH2	Acetaldehyde dehydrogenase 2
ALP	Alkaline phosphatase
ALT	Alanine aminotransferase
AST	Aspartate aminotransferase
CCl ₃ OO*	Trichloromethylperoxy
CCl ₄	Carbon tetrachlorid
CTP	Cao toàn phần
CYP P450	Cytochrom P450
DDPH	1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl
DILI	Drug-induced liver injury (Tồn thương gan do thuốc)
HSC	Hepatic Stellate Cell (Tế bào hình sao gan)
Hyp	Hydroxyprolin
IL	Interleukin
PAR	Paracetamol
PĐE	Phân đoạn ethyl acetat
PDGF	Platelet Derived Growth Factor (Yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu)
PO	Pandanus odoratissimus
TGF	Transforming Growth Factor (Yếu tố tăng trưởng chuyển dạng)
TNF	Tumor Necrosis Factors (Yếu tố hoại tử khối u)
VG	Viêm gan
VGVR	Viêm gan virus
YHHĐ	Y học hiện đại
YHCT	Y học cổ truyền
WHO	Tổ chức Y tế thế giới

DANH MỤC BẢNG BIỂU

Bảng 2.1. Thành phần các vị thuốc trong một thang thuốc Bảo đường can PC

Bảng 3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp theo liều của Bảo đường can PC

Bảng 3.2 Ảnh hưởng của Bảo đường can PC lên cân nặng gan chuột trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC lên hoạt độ AST, ALT trong máu trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC lên nồng độ MDA trong gan trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC lên nồng độ GSH trong gan trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol

Bảng 3.6. Điểm tổn thương gan trên hình ảnh vi thể

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến hoạt độ AST và ALT trong máu chuột nhắt trắng trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến hoạt độ GGT trong máu chuột nhắt trắng trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến nồng độ bilirubin toàn phần và nồng độ albumin trong máu chuột nhắt trắng trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến nồng độ MDA trong gan chuột nhắt trắng trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 1. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC trên cân nặng của chuột nhắt trắng

Biểu đồ 2. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến cân nặng gan

DANH MỤC HÌNH ẢNH

- Hình 1. Hình ảnh gan lô chứng sinh học (#BVG01) ($HE \times 400$) trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol
- Hình 2. Hình ảnh vi thể gan lô chứng sinh học (#BVG02) ($HE \times 400$) trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol
- Hình 3. Hình ảnh gan lô mô hình (#BVG18) ($HE \times 400$) trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol
- Hình 4. Hình ảnh gan lô mô hình (#BVG22) ($HE \times 400$) trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol
- Hình 5. Hình ảnh gan lô silymarin (#BVG23) ($HE \times 400$) trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol
- Hình 6. Hình ảnh gan lô uống silymarin (#BVG25) ($HE \times 400$) trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol
- Hình 7. Hình ảnh gan lô uống silymarin (#BVG27) ($HE \times 400$) trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol
- Hình 8. Hình ảnh gan lô uống Bảo đường can PC 2,76 g/kg (#BVG35) ($HE \times 400$) trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol
- Hình 9. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 2,76 g/kg (#BVG37) ($HE \times 400$) trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol
- Hình 10. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 2,76 g/kg (#BVG39) ($HE \times 400$) trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol
- Hình 11. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày(#BVG46) ($HE \times 400$) trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol
- Hình 12. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày(#BVG48) ($HE \times 400$) trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol
- Hình 13. Hình ảnh gan lô chứng sinh học (chuột #01) ($HE \times 400$) trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol

Hình 14. Hình ảnh vi thể gan lô chứng sinh học (chuột #03) (HE × 400) trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol

Hình 15. Hình ảnh vi thể gan lô chứng sinh học (chuột #04) (HE × 400) trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol

Hình 16. Hình ảnh gan lô mô hình (chuột #13) (HE × 400) trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol

Hình 17. Hình ảnh gan lô mô hình (chuột #15) (HE × 400) trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol

Hình 18. Hình ảnh gan lô mô hình (chuột #18) (HE × 400) trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol

Hình 19. Hình ảnh gan lô silymarin (chuột #21) (HE × 400) trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol

Hình 20. Hình ảnh gan lô uống silymarin (chuột #22) (HE × 400) trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol

Hình 21. Hình ảnh gan lô uống silymarin (chuột #23) (HE × 400) trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol

Hình 22. Hình ảnh gan lô uống Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày(chuột #32) (HE × 400) trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol

Hình 23. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol (chuột #34) (HE × 400)

Hình 24. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol (chuột #35) (HE × 400)

Hình 25. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol (chuột #41) (HE × 400)

Hình 26. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol (chuột #42) (HE × 400)

Hình 27. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol (chuột #43) (HE × 400)

ĐẶT VẤN ĐỀ

Gan là một cơ quan lớn nhất trong cơ thể, đảm nhiệm nhiều chức năng quan trọng và phức tạp. Gan đứng ở vị trí cửa ngõ, nối liền ống tiêu hóa với toàn bộ cơ thể. Gan tích lũy các chất và chuyển hóa hầu hết các chất được hấp thu ở ruột vào và cung cấp những chất cần thiết cho cơ thể [1]. 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.

Gan có nhiều chức năng quan trọng như: chức năng chuyển hóa glucid, lipid, protetid; chức năng chống độc: Gan giúp chuyển hóa các chất độc thành những chất kém độc hơn hoặc làm mất độc tính của các chất đó và đào thải ra ngoài cơ thể; chức năng tạo mật; chức năng dự trữ: ngoài dự trữ glucid, protein, gan còn dự trữ nhiều chất khác; chức năng sản xuất các yếu tố đông máu, chống đông máu tạo máu. Gan có nhiều chức năng quan trọng trong quá trình trao đổi chất và thải độc cơ thể. Trong các trường hợp bệnh lý hay có sự quá tải về lượng của các chất độc ở gan sẽ khiến các tế bào trong gan bị hủy hoại dần, dẫn tới các tổn thương trên gan, thậm chí là hình thành các tổn thương không hồi phục như xơ gan và làm mất chức năng thải độc của gan [2].

Ở Việt Nam, bệnh lý gan mật là một trong những nhóm bệnh phổ biến, chiếm 29,9% tổng số các bệnh lý lâm sàng, trong đó thường gặp nhất là viêm gan do virus (VGVR) chiếm 16,7% [2]. Viêm gan do nhiễm độc thuốc hoặc hóa chất ngày một gia tăng. Các bệnh liên quan đến gan sẽ gây men gan tăng là men AST và ALT tăng. Để điều trị chỉ một số trường hợp dùng được thuốc đặc trị theo nguyên nhân, còn đa số các trường hợp sẽ sử dụng các thuốc làm tăng cường khả năng hồi phục và bảo vệ tế bào gan.

Trong điều trị bệnh viêm gan cấp và mạn tính, ngoài các biện pháp điều trị đặc hiệu, các thuốc có tác dụng hỗ trợ điều trị đã được chứng minh có vai trò quan trọng. Hiện nay trên thị trường có một số thuốc điều trị bệnh gan tương đối tốt, được sử dụng nhiều trên lâm sàng như silymarin (Legalon), Eganin (arginin tidiacat)... nhưng chủ yếu là các sản phẩm nhập ngoại. Trong dân gian có rất nhiều vị thuốc, nhất là những vị thuốc thảo dược có tác dụng thanh can đã được sử

dụng từ lâu. Chính vì vậy, việc tìm kiếm và nghiên cứu những thuốc hoặc bài thuốc có tác dụng bảo vệ tế bào gan từ nguồn dược liệu sẵn có, với hiệu quả cao, ít độc, rẻ tiền và dễ sử dụng là một vấn đề thiết thực và mang tính khoa học cao.

Bảo đường can PC là bài thuốc nghiệm phương của Lương y Nguyễn Phùng, lương y Nguyễn Trọng Chung thừa kế và áp dụng trong điều trị bệnh có tác dụng điều trị cải thiện chức năng gan trên bệnh nhân đạt hiệu quả nhất định. TS.BS Trần Đức Hữu sử dụng có hiệu quả trên lâm sàng và nghiên cứu chuyển dạng thành viên nén Bảo đường can PC. Thành phần bài thuốc là những vị thuốc có tác dụng tăng cường chức năng gan, lợi niệu, trừ thấp. Nhằm đánh giá một cách khoa học về tác dụng của bài thuốc cũng như chuyển dạng bào chế để thuận lợi hơn cho quá trình vận dụng thuốc trên lâm sàng, chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài **“Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng bảo vệ tế bào gan của viên nén Bảo đường can PC trên động vật thực nghiệm”** với hai mục tiêu:

1. Nghiên cứu độc tính cấp của viên nén Bảo đường can PC trên động vật thực nghiệm.

2. Đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào gan của viên nén Bảo đường can PC trên mô hình viêm gan.

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Chức năng sinh lý của gan

1.1.1. Chức năng chuyển hóa

1.1.1.1. Chuyển hóa glucid

Gan đóng vai trò rất quan trọng trong chuyển hóa glucid. Gan là kho dự trữ glucid của cơ thể dưới dạng glycogen. Gan có thể tổng hợp glucogen từ galactose, fructose và mannose nhờ hệ thống enzym chỉ có ở gan. Khi có nhu cầu về glucose, gan lại phân giải glycogen để tạo thành glucose. Do khả năng tổng hợp glycogen mạnh để dự trữ và phân ly nhiều mà gan đóng vai trò chủ chốt trong cơ thể trong việc điều hòa đường máu. Toàn bộ hệ thống điều hòa đường máu bằng hormon hoàn toàn phụ thuộc vào sự toàn vẹn chức năng gan. Gan là kho dự trữ glucid lớn nhất của cơ thể [3],[4].

1.1.1.2. Chuyển hóa lipid

Nhiều cơ quan và tổ chức trong cơ thể có tổng hợp lipid, đặc biệt là mô mỡ có quá trình tổng hợp lipid mạnh. Tuy nhiên, tổng hợp lipid ở gan có ý nghĩa quan trọng. Gan tổng hợp lipid cho bản thân gan, tổng hợp các lipoprotein cho máu và là nơi chủ yếu tổng hợp phospholipid. Gan cũng đóng vai trò quan trọng trong việc tổng hợp cholesterol từ acetyl coenzym A. Quá trình este hóa cholesterol có thể diễn ra ở gan hoặc huyết tương và enzym xúc tác cho các phản ứng này chỉ do gan sản xuất. Lượng cholesterol este hóa chiếm khoảng 60 – 70% lượng cholesterol toàn phần huyết tương. Khi tổn thương suy giảm chức năng gan thì tỷ lệ cholesterol hóa/ cholesterol toàn phần sẽ giảm [3], [5].

1.1.1.3. Chuyển hóa protid

Gan tham gia tổng hợp các yếu tố đông máu như II, VII, IX, X, cung cấp acid amin tự do cho máu để máu tổng hợp protein, có vai trò quan trọng trong tổng hợp protein huyết tương, đặc biệt là albumin. Gan chứa nhiều enzym quan trọng tham gia vào quá trình chuyển hóa các chất, là cơ quan chủ yếu tạo ure và acid uric. Gan tham gia vào quá trình thoái hóa hemoglobin, tạo bilirubin tự do và đặc biệt là

tạo bilirubin liên hợp để đào thải qua mật hoặc qua nước tiểu. Gan còn tổng hợp nên nhiều chất có hoạt tính sinh học cao như các hormon nucleotid, nhân porphyrin,...[3]

1.1.2. Chức năng khử độc

Gan khử độc theo 2 cơ chế: Cơ chế hóa học và cơ chế cố định thải trừ [3].

1.2.1.1. Cơ chế hóa học

Đây là cơ chế khử độc quan trọng nhất. Các chất độc bị gan giữ lại, chịu sự biến đổi hóa 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 hóa học diễn ra qua 2 pha:

Pha 1: Những phản ứng giáng hóa:

Quan trọng nhất trong pha này phải kể đến phản ứng oxy hóa xảy ra ở microsomes gan thông qua hệ thống enzym Cyt, tham gia chuyển hóa chất độc và chất lạ thông qua quá trình monooxygen hóa.

Pha 2: Những phản ứng liên hợp:

Sau khi giáng hóa, chất chuyển hóa vừa tạo thành có thể liên hợp với acid acetic, acid sulfuric, acid gluconic, hoặc liên hợp với glyocol, glutathion trong cơ thể để tạo thành các sản phẩm tan trong nước, có tính phân cực mạnh hơn, từ đó dễ đào thải theo đường mật hoặc theo nước tiểu [3].

1.1.2.2. 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 hóa học [3].

1.1.3. Chức năng tạo mật

Thành phần quan trọng nhất của mật là muối mật. Muối mật được tổng hợp ở tế bào gan từ cholesterol. Muối mật có tác dụng nhũ tương hóa lipid của thức ăn, tạo điều kiện thuận lợi cho sự tiêu hóa và hấp thu lipid của thức ăn [3].

1.1.4. Chức năng dự trữ:

Gan là kho dự trữ glucid lớn nhất của cơ thể, tham gia chuyển hóa và cũng là kho dự trữ protid quan trọng nhất. Gan bài tiết mật, tạo điều kiện thuận lợi cho sự hấp thu lipid của thức ăn, kéo theo sự hấp thu của các vitamin tan trong dầu, do vậy có thể nói gan là kho dự trữ của các vitamin tan trong dầu. Mỗi phút gan nhận được 1500 ml máu từ tĩnh mạch cửa và động mạch gan tới [3],[4].

1.2. Bệnh lý viêm gan theo Y học hiện đại

1.2.1. Khái niệm

Từ “viêm gan” dùng để chỉ mọi trường hợp bệnh lý gây nên tổn thương thoái hóa, hoại tử tế bào gan và những tổn thương của mô đệm trong gan do phản ứng viêm gây nên [5].

Viêm gan mạn tính là bệnh gan có tổn thương hoại tử và viêm, có hoặc không có kèm theo xơ hoá, diễn ra trong thời gian trên 6 tháng. Thể nhẹ là thể không tiến triển hoặc tiến triển rất chậm và không đưa đến xơ hoặc ung thư gan; thể nặng là thể viêm hoại tử dồn dập hoặc nhiều đợt tiến triển tấn công vào tế bào gan, cuối cùng dẫn đến xơ gan và ung thư hóa [6].

1.2.2. Nguyên nhân

1.2.2.1. Nguyên nhân gây viêm gan:

Có nhiều nguyên nhân gây ra viêm gan, ta có thể xếp loại nguyên nhân như sau:

- Do virus: Virus viêm gan A, B, C, D, E;
- Do vi khuẩn hoặc ký sinh trùng: Leptospirose, thương hàn, sốt Q, bệnh amip, bệnh Samonella;
- Viêm gan do nhiễm độc thuốc, hóa chất;
- Viêm gan do rượu;
- Viêm gan do thiếu oxy: Thất động mạch gan, hội chứng Budd Chiari, suy tuần hoàn gan (do suy tim);

- Viêm gan do chuyển hóa: Viêm gan ở người có thai, bệnh Wilson, hemosideromatose.

Trong các nhóm nguyên nhân trên thì viêm gan do virus, do rượu và viêm gan do ngộ độc thuốc – hóa chất (đặc biệt là viêm gan do PAR) là nhóm nguyên nhân hay gặp nhất [6].

1.2.3. Cơ chế bệnh sinh

1.2.3.1. Cơ chế bệnh sinh của viêm gan do rượu

* Cơ chế bệnh sinh của viêm gan do rượu: Trong cơ thể, gan là cơ quan chuyển hóa rượu quan trọng nhất. Trên 90% lượng rượu hấp thu vào cơ thể sẽ được chuyển hóa tại gan. Phần còn lại sẽ được thải ra ngoài qua phổi và thận [7]. Phần lớn rượu được chuyển hóa tại gan theo hai giai đoạn:

- Giai đoạn 1: Chuyển hóa rượu thành acetaldehyde được thực hiện bởi ba hệ thống enzym: (1) Alcohol dehydrogenase (ADH) có sự tham gia của coenzym NAD nằm trong bào tương; (2) hệ thống oxy hóa rượu ở micrososome (Microsomal Ethanol Oxidating System – MEOS) và (3) các men catalase.

- Giai đoạn 2: Acetaldehyd được hình thành là một chất độc, sẽ nhanh chóng được enzym acetaldehyd dehydrogenase 2 (ALDH2) chuyển thành acetat. Như vậy ethanol được chuyển hoá chủ yếu nhờ enzym alcohol dehydrogenase (ADH) và enzym acetaldehyd dehydrogenase 2 (ALDH2). Khả năng chuyển hóa của giai đoạn này chỉ có giới hạn, nếu lượng acetaldehyd được sản sinh với một mức quá lớn sẽ không được chuyển hóa hết gây giãn mạch và gắn vào màng tế bào gây tổn thương tế bào thông qua các cơ chế gây độc, viêm và miễn dịch [7],[8].

Ở những người uống một lượng lớn rượu thì đầu tiên khi nồng độ cồn trong máu cao, hệ thống MEOS sẽ hoạt động. Hệ thống enzym này được tìm thấy ở màng của mạng lưới nội bào tương. Enzym quan trọng nhất của hệ thống này là cytochrom P450 bởi enzym này không chỉ có vai trò trung tâm trong chuyển hóa rượu mà còn tham gia vào việc giáng hóa rất nhiều chất của chính cơ thể cũng như chất lạ từ bên ngoài vào. Cytochrom P450 2E1 (CYP 2E1), một dưới typ của cytochrome P450, có vai trò quan trọng nhất trong chuyển hóa alcohol thành

acetaldehyd. Trong 50 năm kể từ khi được tác giả Charles Lieber (1968) phát hiện, các nhà khoa học đã chứng minh rằng việc sử dụng thường xuyên thức uống có cồn sẽ gây cảm ứng làm tăng hoạt độ hệ thống enzym này lên 10 lần. Một đặc điểm cực kỳ quan trọng là phản ứng giáng hóa này sẽ giải phóng ra các gốc oxy tự do hoạt động (ROS) và gây ra stress oxy hóa dẫn đến tổn thương tế bào gan [9].

Việc thường xuyên sử dụng một lượng lớn alcohol sẽ làm tăng hoạt động của hai enzym khác nữa tham gia vào quá trình chuyển acetaldehyd thành acetate. Đó là các enzym xanthinoxidase và aldehydoxidase. Thông qua hoạt động của hai enzym này, thêm một lượng lớn các gốc tự do gây độc được giải phóng, góp phần tạo nên những tổn thương gan do rượu[9].

1.3.2.4. Cơ chế bệnh sinh của viêm gan do thuốc và hóa chất:

Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu về tổn thương gan do thuốc nhưng cơ chế của hầu hết các loại thuốc vẫn chưa được biết rõ [10]. Một loại thuốc có thể có nhiều cơ chế khác nhau gây tổn thương gan. Nhìn chung, tổn thương gan do thuốc được chia chủ yếu theo 2 cơ chế chính sau:

- *Tổn thương gan do phản ứng đặc ứng (dị ứng đặc biệt ở từng bệnh nhân):* Trong đó thuốc gây ra một đáp ứng miễn dịch chống lại gan [10]. Các đặc điểm chính của loại tổn thương này bao gồm: Phản ứng không phụ thuộc liều, phản ứng liên quan đến các biểu hiện quá mẫn (sốt, ớn lạnh, phát ban da, tăng bạch cầu ưa acid), phản ứng có thời gian tiềm tàng (khoảng thời gian từ khi bắt đầu dùng thuốc đến khi khởi phát tổn thương gan), thời gian tiềm tàng khi tái sử dụng thuốc ngắn hơn khi sử dụng thuốc lần đầu và thỉnh thoảng có sự xuất hiện của các kháng thể tự miễn trong huyết thanh [10],[11]. Các kháng thể tự miễn đã được tìm thấy trong các trường hợp viêm gan gây ra bởi halothan, acid tienilic, dihydralazin, thuốc chống co giật, papaverin và nitrofurantoin [10], [11].

Quá trình một thuốc gây tổn thương gan trải qua 3 giai đoạn:

- *Giai đoạn 1:* Thuốc được chuyển hóa lần đầu thành một chất chuyển hóa có hoạt tính, liên kết với các enzym tạo ra nó.

- Giai đoạn 2: Quá trình liên kết sẽ tạo ra một neoantigen (kháng nguyên tân tạo), trình diện tới hệ thống miễn dịch để từ đó kích hoạt một phản ứng miễn dịch đặc trưng bởi việc sản xuất các kháng thể nhận diện protein ban đầu và/hoặc protein biến đổi.

- Giai đoạn 3: Tái sử dụng thuốc dẫn đến tăng sản xuất neoantigen, khi đó sẽ xuất hiện các kháng thể, dẫn đến ly giải tế bào gan [10],[11].

- Tổn thương gan do quá liều: một số thuốc được biết chắc là khi dùng liều cao, kéo dài hoặc khi sử dụng chung với một số thuốc khác sẽ gây tương tác thuốc do các thuốc này làm ảnh hưởng đến chức năng chuyển hóa, giải độc của gan như thuốc giảm đau hạ sốt (paracetamol), thuốc kháng lao...[10].

** Các hình thức gây tổn thương tế bào gan:*

Ít nhất 6 hình thức gây tổn thương gan đã được nhận diện:

1. Thay đổi nội môi calci trong tế bào dẫn tới tách rời hoạt động của các sợi actin trên bề mặt tế bào gan, màng tế bào bị vỡ dẫn tới hiện tượng tiêu tế bào;
2. Sự gãy vỡ sợi actin có thể xuất hiện ở gần các kênh (canaliculus), phần đặc biệt của tế bào gan đảm trách bài tiết mật. Mật quá trình tạo nhung mao và ngừng bơm vận chuyển như MRP3 (multidrug-resistance-associated protein-3) giúp ngăn ngừa bài tiết bilirubin và các phức hợp hữu cơ khác;
3. Nhiều phản ứng của tế bào gan kéo theo hệ cytochrom P-450 chứa hem, sản sinh phản ứng năng lượng cao dẫn tới gắn đồng hóa trị thuốc với enzym, tạo nên các phức hợp mới không có chức năng;
4. Các phức hợp thuốc - enzym di trú lên bề mặt tế bào trong các bọc nhỏ tác động giống như kháng nguyên đích của tế bào T đến tấn công ly giải, kích thích nhiều dạng đáp ứng miễn dịch (tế bào T và các cytokin);
5. Hoạt hóa con đường chết theo chương trình thông qua receptor TNF- α hoặc Fas dẫn tới chết tế bào theo chương trình;

6. Một số thuốc ức chế chức năng ty thể bằng tác động kép lên quá trình p-oxy hóa (tác động sản sinh năng lượng bằng ức chế tổng hợp NAD và FAD, gây giảm sản sinh ATP) và các enzym trong chuỗi hô hấp tế bào. Các acid béo tự do không được chuyển hóa và thiếu hô hấp yếm khí dẫn tới tích tụ lactat và các gốc tự do. Các gốc ROS có thể làm đứt gãy các DNA của ty thể. Kiểu tổn thương này là đặc trưng của nhiều tác nhân khác nhau bao gồm cả các chất ức chế sao chép ngược nucleosid (nucleoside reverse-transcriptase inhibitors) - gắn trực tiếp vào DNA của ty thể như acid valproic, tetracyclin và aspirin [12].

* Vai trò của các gốc tự do trong cơ chế bệnh sinh của tổn thương gan:

- Hầu hết cơ chế bệnh sinh bệnh gan do các nguyên nhân khác nhau đều liên quan đến sự phát sinh của các gốc tự do độc hại trong cơ thể. Gốc tự do độc hại đã được chứng minh có vai trò trong một loạt các bệnh lý của các cơ quan trong cơ thể [13], [14], [15].

- Gốc tự do có thể là nguyên tử, phân tử, các ion (anion và cation) mà lớp điện tử ngoài cùng có chứa điện tử không cặp đôi (điện tử cô độc hoặc hóa trị tự do). Số lượng điện tử không cặp đôi có thể là một hoặc nhiều. Gốc tự do có thể là nguyên tử ($\text{Cl}\cdot$, $\text{O}_2\cdot^-$), là nhóm nguyên tử (CH_3 , OH), là phân tử (NO_2 , NO) [16],[17].

- Hầu như tất cả các trạng thái bệnh lý quan trọng đều do ROS gây ra, bao gồm gốc hydroxyl, gốc superoxid anion, hydro peroxid, hypochlorit, oxy đơn bội, gốc oxid nitric và gốc peroxy nitrit [17].

- Các gốc tự do có thể có nguồn gốc nội sinh hoặc ngoại sinh. Trong cơ thể luôn có sự cân bằng nội môi giữa ROS và các chất chống oxy hóa. Khi cơ thể nhiễm chất độc, stress tâm lý, viêm, nhiễm khuẩn... làm tăng cao số lượng các ROS trong cơ thể dẫn đến sự mất cân bằng giữa các chất chống oxy hóa với các ROS gọi là stress oxy hóa [18],[19].

- Các gốc tự do này có thể tác động tới màng hoặc nhân tế bào, gây ra các phản ứng sinh học có hại cho phân tử DNA, protein, carbohydrat và lipid [20]. Các gốc tự do

tấn công các đại phân tử quan trọng dẫn đến tổn thương tế bào và phá vỡ cân bằng nội môi gây ra chết tế bào [21].

1.2.4. Chẩn đoán viêm gan

Dựa vào các triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng.

** Triệu chứng lâm sàng:*

- Triệu chứng khởi đầu có thể biểu hiện những đợt râm rộ như trong viêm gan cấp (1/3 trường hợp), phần còn lại thường âm thầm làm phần lớn bệnh nhân không nhận biết được, thường chỉ biểu hiện bởi triệu chứng cơ năng chung là mỏi mệt, cảm giác nặng tức vùng hạ sườn phải, nhiều lúc có đau cơ, đau khớp hoặc nhiều lúc chỉ có cảm giác nhức mỏi chung chung [6].

- Trong những đợt tiến triển, các triệu chứng thường phong phú và râm rộ hơn với sốt, vàng da, vàng mắt, nước tiểu vàng hoặc sẫm màu, đau cơ, đau khớp và nhất là đau tức vùng gan và ngứa. Khám thấy gan lớn vừa, căng chắc ấn đau tức, vàng da vàng mắt, lòng bàn tay son và giãn mạch hình sao. Có thể có lách to nhất là khi đã có tăng áp cửa, kèm thêm có dịch cổ trướng, hạch lớn thường là hạch nách và hạch cổ [6].

- Các biểu hiện ngoài gan có thể gặp: ban da, viêm tuyến giáp tự miễn Hashimoto, viêm mạch, viêm cầu thận, hội chứng Sjogren, viêm đại trực tràng loét chảy máu, thiếu máu, chảy máu do giảm tiểu cầu.

** Triệu chứng cận lâm sàng:*

- Công thức máu: Bạch cầu và hồng cầu thường giảm, có thể giảm luôn cả tiểu cầu và tốc độ máu lắng thường tăng cao [25].

- Chức năng gan:

+ Bilirubin trực tiếp tăng, bilirubin gián tiếp tăng;

+ Men transaminase thường tăng gấp > 5 lần bình thường;

+ Gammaglobulin tăng, albumin giảm, tỉ lệ A/G rất thấp;

- + Tỷ lệ prothrombin giảm, yếu tố V giảm;
- + Phosphatase kiềm tăng [25].
- Xét nghiệm huyết thanh (trong viêm gan mạn do virus):
- + HbsAg (+), HBV DNA và HbeAg (+) trong viêm gan mạn hoạt động B;
- + Anti HCV và HCV- RNA (+) trong viêm gan mạn virus C [25].
- Sinh thiết gan: là một xét nghiệm cần thiết giúp chẩn đoán nguyên nhân và giai đoạn, độ trầm trọng của viêm gan mạn cho hình ảnh viêm hoại tử xâm nhập tiêu thụ gan với hoại tử môi gặm, hoại tử cầu nối, hoại tử mảng xen lẫn với tổ chức xơ phát triển nhiều ở khoảng cửa xâm nhập tiêu thụ và các nốt tân tạo trong giai đoạn sau [5].

1.2.5. Điều trị viêm gan

1.2.5.1. Điều trị viêm gan do rượu [26]:

- Ngừng rượu: Là phương pháp điều trị chính và quyết định thành công của các liệu pháp điều trị.
- Chế độ dinh dưỡng: Cung cấp chế độ ăn giàu calo, giàu vitamin.
- Liệu pháp corticoid .
- Liệu pháp anticytokin .
- Điều trị lọc máu.
- Ghép gan.

1.2.5.2. Điều trị viêm gan do thuốc [26]:

- Ngừng thuốc nghi ngờ.
- Chủ yếu điều trị triệu chứng và điều trị hỗ trợ gan:

Nghỉ ngơi, ăn mềm, dễ tiêu, bổ sung glucose, acid amin, các vitamin nhóm B, vitamin C đường uống. Nuôi dưỡng đường tĩnh mạch hỗ trợ khi bệnh nhân ăn kém

hay không ăn được (truyền đường ưu trương 20%, morihepamin,...). Bổ sung vitamin K khi tỷ lệ prothrombin thấp.

* Điều trị đặc hiệu: giới hạn đối với nhiễm độc gan, nhiễm độc PAR dùng N - acetylcystein; nhiễm độc valproat dùng L-carnitin.

Corticoid khi thuốc gây phản ứng quá mẫn và phản ứng dị ứng như ban đỏ, tăng bạch cầu ái toan.

Ghép gan: Khi có chỉ định [27].

1.2.5.3. Điều trị viêm gan do virus [26]:

- Điều trị chung:

+ Nghỉ ngơi, hạn chế hoạt động thể lực, kiêng bia rượu.

+ Các thuốc hỗ trợ tế bào gan:

Acid amin chuỗi nhánh (morihepamin, aminoleban....).

Silymarin: viên 70 mg, 6 viên/ ngày chia 3 lần.

- Điều trị đặc hiệu viêm gan virus B: Theo hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh viêm gan virus B của Bộ Y Tế năm 2019 [28].

- Điều trị đặc hiệu viêm gan virus C: Theo hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh viêm gan virus C của Bộ Y Tế năm 2016 [29].

+ Phác đồ điều trị: Theo phác đồ điều trị viêm gan vi rút C mạn trên người bệnh không xơ gan (theo kiểu gen) của Bộ Y tế năm 2016 [29] .

1.3. Bệnh lý viêm gan theo Y học cổ truyền

1.3.1 Khái niệm

Trong những y văn cổ của YHCT, người xưa đã sớm đề cập đến một số chứng bệnh thường gặp trong lĩnh vực gan mật. Trong “Hoàng đế nội kinh” – một bộ sách kinh điển nhất của YHCT Trung Quốc- ở chương “Bình nhân khí tượng luận” đã mô tả chứng bệnh có biểu hiện vàng da, vàng mắt...trên lâm sàng và gọi đó là hoàng đản [2]. Nguyên nhân chính của Hoàng đản là thấp. Do thấp trệ ở trung tiêu,

công năng tỳ vị suy yếu, ảnh hưởng đến sơ tiết của can đờm mà dẫn đến đờm dịch không đi theo đường bình thường mà xâm nhập vào huyết dịch, tràn ra bì phu mà phát sinh Hoàng đản.

Trong bộ sách “Kim quỹ yếu lược” đã phân Hoàng đản ra làm 5 loại: Hoàng đản, cốc đản, tửu đản, nữ lao đản và hắc đản; các phương pháp điều trị tương ứng như thanh nhiệt trừ thấp, thẩm thấp lợi niệu thoái hoàng... Ở Việt Nam, thế kỷ thứ XIV danh y Tuệ Tĩnh cũng phân Hoàng đản ra thành 5 loại, nhưng lấy Hoàng hãn thay Hắc đản; ông cũng đưa ra một số vị thuốc để điều trị như Chi tử, Ý dĩ, Hoàng cầm...trong bộ sách “Nam dược thần hiệu” của mình [30].

Trong bệnh lý gan mật, còn một dấu hiệu cơ năng nữa thường gặp trên lâm sàng là biểu hiện đau tức vùng hạ sườn phải. YHCT thường mô tả trong chứng hiệp thống. “Hiệp” là vùng mạng sườn, “thông” là đau. Theo YHCT, vùng mạng sườn là chỗ trú của can đờm, do vậy hiệp thống có mối liên quan chặt chẽ với rối loạn chức năng can đờm. Can với chức năng điều đạt, đờm có chức năng sơ tiết; bởi vậy khi Can khí thăng giáng thất thường, đờm dịch sơ tiết bị rối loạn làm cho mạch lộ không thông, huyết ứ đình ngưng hoặc kinh mạch mất nuôi dưỡng đều có thể là những nguyên nhân dẫn đến Hiệp thống. Chứng Hiệp thống có thể khái quát thành hai loại hư và thực. Thực chứng có thể phân thành: Khí ngưng huyết ứ, Can đờm thấp nhiệt.

Đây chính là nền tảng về mặt lý luận cho những người thầy thuốc y học cổ truyền vận dụng để đưa ra những nguyên lý, phương pháp điều trị và chọn lựa, xây dựng những bài thuốc điều trị phù hợp với từng thể bệnh trên lâm sàng.

1.3.2. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh

1.3.2.1. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh chứng hiệp thống [31]

Hiệp thống có liên quan chặt chẽ với chức năng của tạng phủ Can đờm. Trong YHCT, đặc tính của tạng Can là điều đạt, đờm có chức năng sơ tiết. Bởi vậy khi Can khí thăng giáng thất thường, đờm dịch sơ tiết bị rối loạn làm cho mạch lộ không thông, huyết ứ đình ngưng hoặc kinh mạch mất nuôi dưỡng đều có thể là những nguyên nhân dẫn đến Hiệp thống.

Cơ chế bệnh sinh của chứng Hiếp thống có thể khái quát như sau:

Khí trệ: Đa phần có mối quan hệ mật thiết với tình chí bị tổn thương làm cho Can khí uất kết. Cho nên thường thấy những nhân tố về tinh thần dễ dẫn đến phát bệnh hay làm bệnh nặng hơn. Bên cạnh đó còn có thể do ăn quá nhiều chất thức ăn béo mỡ, uống quá nhiều rượu kéo dài cũng có thể làm ảnh hưởng tới lưu chuyển khí trong cơ thể, mà đưa đến khí trệ.

Huyết ú: Khí là soái của huyết, khí trệ lâu ngày sẽ làm huyết không được lưu thông, mạch lạc mất điều hòa mà dẫn đến huyết ú. Do vậy, khí trệ và huyết ú đồng thời tồn tại hay xuất hiện cái trước, cái sau. Thường bệnh trong thời kỳ đầu là ở khí, mà đa phần là khí trệ. Bệnh kéo dài là ở huyết mà là huyết ú.

Can đờm thấp nhiệt, Can mạch phân bố ở vùng hạ sườn, mạch tuần hoàn ở vùng mạng sườn. Nếu như thấp nhiệt tà ôn kết ở trung tiêu thiêu đốt Can đờm, làm cho Can đờm mất đi sự sơ tiết và điều đạt, thường có thể dẫn đến Hiếp thống.

Âm hư nội nhiệt: Can mạch phân bố ở vùng mạng sườn, bệnh can lâu ngày không khỏi, can âm dần bị thương tổn, dẫn đến nội nhiệt nhiều động ở bên trong, làm cho lạc mạch mất sự nuôi dưỡng, thường dẫn đến Hiếp thống.

1.3.2.2. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh chứng hoàng đản [2]

Nguyên nhân chính của hoàng đản là thấp. Do thấp trệ ở trung tiêu, công năng tỳ vị suy yếu, ảnh hưởng đến sơ tiết của Can đờm mà dẫn đến đờm dịch không đi theo đường bình thường mà thâm nhập vào huyết dịch, tràn ra bì phu mà phát sinh hoàng đản [2],[31].

- Tỳ vị thấp nhiệt: Ngoại cảm thấp nhiệt hoặc ăn uống không điều hòa, uống rượu quá độ lâu dần gây thành thấp nhiệt, tích kết ở tỳ vị, chưng đốt can đờm làm can mất sơ tiết, dịch đờm tràn ra ngoài mà phát hoàng đản. Thấp nhiệt ú trệ ở trung tiêu, tỳ vị vận hóa bất lợi, thăng giáng thất thường gây nên vị quản đầy trướng, ăn kém, buồn nôn, tứ chi nặng nề, nhiệt tà thịnh bên trong hoặc nhiệt kết ở vị phủ làm cho tổn thương tân dịch: miệng khát, tiện bí; thấp nhiệt lưu ở bàng quang, khí hóa bất lợi làm tiểu tiện ít, đỏ [2],[31].

- Can đờm thấp nhiệt: Thấp nhiệt ngoại tà xâm nhập hoặc uống rượu quá độ, thấp nhiệt nội sinh chung đốt can đờm, làm can mất tính nhu hòa, đờm dịch tràn ra gây hoàng đản; thấp nhiệt trở trệ can đờm, khí huyết vận hành không thông gây hạ sườn trướng đau; thấp nhiệt trở trệ ở trung tiêu, tỳ vị vận hóa thất thường, thăng giáng bất lợi, sinh ra ăn kém, buồn nôn, miệng đắng, bụng trướng; thấp nhiệt trở trệ ở hạ tiêu, bàng quang khí hóa bất lợi dẫn đến tiểu vàng, đỏ [2],[31].

Đờm nhiệt ứ kết: Ăn uống không điều độ hoặc uống rượu vô độ, tạng phủ mất điều hòa, đờm phủ ứ nhiệt hoặc đờm phủ ứ nhiệt không tán, lâu ngày chung đốt dẫn đến dịch mật sơ tiết bị trở trệ, tràn ra mà phát hoàng. Đờm nhiệt ứ kết, tổn thương đến can, khí huyết ứ trệ dẫn đến mạng sườn trướng đau, cự án, đau có xu thế mạnh dần lên. Đờm nhiệt ứ trệ dẫn đến can đờm khí nghịch, xuất hiện miệng đắng, nôn ra dịch mật, tỳ vị do ứ nhiệt trở trệ, vận hóa thăng giáng thất thường gây nên bụng đầy chướng, ứ nhiệt bên trong thiêu đốt dương minh hoặc xâm nhập vào thiếu dương gây nên sốt cao phiền táo hoặc hàn nhiệt vãng lai; ứ nhiệt lưu trú ở hạ tiêu làm tiểu tiện ít đỏ, nóng rát [2],[31].

- Nhiệt độc cực thịnh: thời khí nhiệt độc xâm nhập cơ thể, can bị tổn thương, can đờm có quan hệ biểu lý nên ảnh hưởng, đờm dịch tràn ra ngoài bì phu gây hoàng đản [2].

- Nhiệt độc tiềm ẩn bên trong: Đa số do thời khí dịch độc xâm nhập, số ít do chứng hậu thấp nhiệt chuyển hóa gây ra. Dịch tà nhiệt độc bên trong thiêu đốt can đờm, dịch mật tràn ra ngoài gây hoàng đản, tổn thương âm dịch dẫn đến sốt cao, miệng khát; nhiệt bức huyết vong hành gây chảy máu cam, nôn máu, đại tiện máu...[2]

- Hàn thấp tổn tỳ: Hàn thấp ngoại tà xâm nhập hoặc tỳ vị nội thương, dương khí bị cản trở, hàn thấp nội sinh trở trệ trung tiêu dẫn đến can đờm mất sơ tiết, đờm dịch tràn ra ngoài mà phát hoàng. Dương khí bị trở trệ không thể ôn ấm tứ chi gây sợ lạnh, tứ chi lạnh, tỳ thổ mất ôn ấm làm cho ăn ít, bụng đầy chướng, đại tiện nát [2],[31].

- Âm hư thấp trở: Ngoại cảm thấp nhiệt lâu ngày, tỳ vị nội thương, thấp nhiệt đình trệ không tán dẫn đến nhiệt tà thương âm. Thấp là âm tà, tính của nó là ứ

trệ, tổn thương ở tỳ mà xuất hiện các hiện tượng của thấp tà tổn tỳ như: sắc vàng tối, ăn ít, tứ chi mỏi, vị quản trướng đau, lưỡi bản [2],[31].

- Can tỳ huyết ú: Thất tình nội thương, can khí uất, uống rượu vô độ, tạng phủ mất điều hòa, thấp nhiệt dịch độc đình lưu, dẫn đến khí huyết vận hành trở trệ, ú trệ hai bên mạn sườn, do đó can đờm không thể sơ tiết, sự lưu tiết đờm dịch bị trở trệ tràn ra mà phát hoàng đản; ú trệ hai bên hạ sườn làm cho hạ sườn đau; khí huyết vận hành bị trở trệ, bì phu mất sự nhu dưỡng hoặc bệnh lâu huyết bị tổn thương mà sắc mặt tối, chất lưỡi tím [2],[31].

Như vậy bệnh có liên quan mật thiết với 2 tạng can, tỳ.

1.3.3. Các thể bệnh viêm gan theo y học cổ truyền

1.3.3.1. Can khí uất kết

- Triệu chứng lâm sàng: Đau tức mạn sườn, ngực sườn đầy tức, miệng đắng, ăn kém, người mệt, đại tiện táo hoặc nát, chất lưỡi nhạt, rêu lưỡi trắng mỏng, mạch huyền [31],[33].

- Pháp: Sơ can giải uất, lý khí chỉ thống

- Phương: Sài hồ sơ can thang gia giảm

1.3.3.2. Can huyết ú trệ

- Triệu chứng lâm sàng: Đau vùng mạn sườn như kim châm, có khối vùng mạn sườn, sắc mặt tối sạm, môi thâm, lưỡi tím, người gầy, đại tiện táo hay nát, nước tiểu vàng ít, chất lưỡi đỏ hoặc có điểm ú huyết, rêu lưỡi vàng dính, mạch huyền sắc [31],[33].

- Pháp: Hoạt huyết hóa ú, thông lạc chỉ thống.

- Phương: Cách hạ trục ú thang gia giảm.

1.3.3.3. Can đờm thấp nhiệt

- Triệu chứng lâm sàng: Mắt vàng, toàn thân vàng tươi, hạ sườn phải chướng đau, miệng đắng, ăn kém, nôn, mệt mỏi vô lực, tiểu ít vàng [31].

- Pháp: Thanh lợi can đờm, trừ thấp nhiệt

- Phương: Long đờm tả can thang gia giảm

1.3.3.4. *Can đờm thực hỏa*

- Triệu chứng lâm sàng: mệt mỏi, sốt cao phiền táo, đau tức cạnh sườn, nôn nhiều, vị quản trướng đầy, đại tiện bí kết, tiểu tiện vàng ít, lưỡi đỏ, rêu lưỡi vàng, mạch huyền sắc.

- Pháp: Thanh tiết can đờm thực hỏa

- Phương: Đại sài hồ thang gia giảm

1.3.3.5. *Can thận âm hư*

- Triệu chứng lâm sàng: toàn thân vàng, đau lưng mỏi gối, đau hạ sườn âm ỉ, huyền vụng, ngủ ít, hay mê, lòng bàn tay bàn chân nóng, ăn ít, họng khô, bụng trướng, chất lưỡi đỏ, rêu lưỡi ít, táo bón, tiểu vàng, có thể triều nhiệt, đạo hãn [31], [33].

- Pháp: Tư âm, dưỡng huyết, sơ can, chỉ thống

- Phương: Nhất quán tiễn gia giảm [31],[33].

1.3.3.6. *Can dương hư*

- Triệu chứng lâm sàng: tình chí u uất, người lạnh, sợ lạnh, tay chân lạnh, mặt tái xanh, hạ sườn đau tức, chất lưỡi nhạt, rêu lưỡi trắng, mạch trầm nhược hoặc huyền trì.

- Pháp: Ôn bổ can dương, dưỡng huyết hòa can

- Phương: Noãn can tiễn gia giảm [31],[33].

1.4. Một số mô hình nghiên cứu về tác dụng bảo vệ tế bào gan

Mục tiêu của các mô hình nghiên cứu tác động bảo vệ tế bào gan là đánh giá khả năng các hợp chất, các phân đoạn hoặc dịch chiết tương tác hoặc tránh tổn thương do các chất độc gan gây ra. Tác động bảo vệ tế bào gan có thể đo lường bằng các chỉ số sinh hóa, tỷ lệ sống hay đặc điểm mô học của gan. Các mô hình có thể là mô hình in vitro, exvivo hay in vivo và mỗi mô hình có thể đánh giá tác động bảo vệ hay điều trị gan, dựa vào việc các tác nhân bảo vệ tế bào gan được dùng trước hay sau khi dùng chất gây độc [34].

1.4.1. Mô hình in vitro

Tế bào gan tươi, môi trường nuôi cấy tế bào gan sơ cấp hay các dòng tế bào bất tử là các mô hình in vitro được sử dụng để đánh giá tác động bảo vệ tế bào gan [34]. Những mô hình in vitro là lựa chọn tốt nhất để sàng lọc và lựa chọn các hợp chất bảo vệ tế bào gan tiềm năng và có thể thiết lập cơ chế tác động ở mức độ tế bào và phân tử. Để đánh giá tác động bảo vệ, các thông số như nồng độ enzym phóng thích ngoại bào, tăng sinh tế bào, hình dạng tế bào... sẽ được khảo sát [35].

Ưu điểm của các mô hình in vitro: Nhanh chóng (thường 2 - 3 ngày thử nghiệm), yêu cầu lượng mẫu nhỏ (khoảng vài miligram) và điều kiện thử nghiệm có thể kiểm soát chặt chẽ vì vậy có khả năng tái lập lại cao; nhiều mẫu khác nhau có thể phân tích trong cùng thử nghiệm và chi phí thấp. Đặc biệt, mô hình in vitro giúp nhà nghiên cứu tuân thủ nguyên tắc 3R về y đức (replacement: thay thử nghiệm in vivo bằng thí nghiệm in vitro, reduction: giảm số thú vật, refinement: hạn chế tổn thương, đau đớn trên động vật).

Nhược điểm của các mô hình in vitro: Các tế bào không thể hoạt động như trong sinh vật sống; mặt khác, các tế bào có thể hình thành tương tác với nhau và với cấu trúc ngoại bào, vì vậy cần xem xét biện luận các dữ liệu in vitro, so sánh và đánh giá với mô hình in vivo.

Trong các mô hình in vitro, các tế bào gan phân lập trong huyền dịch hoặc môi trường nuôi cấy sơ cấp thường tăng trưởng chậm, số lượng tế bào thu được ít, đời sống ngắn, do đó khó lặp lại thí nghiệm nhiều lần dẫn đến những hạn chế trong nghiên cứu.

Vì vậy, hiện nay các mô hình nghiên cứu in vitro thường dùng các dòng tế bào từ khối ung thư gan người với đặc tính phát triển nhanh, khả năng tăng sinh không giới hạn, có thể thực hiện thí nghiệm nhiều lần, kết quả có độ lặp lại và chính xác cao...

Dòng tế bào HepG2: Tế bào HepG2 là dòng tế bào ung thư biểu mô gan người được phân lập từ khối ung thư gan của bệnh nhân nam Mỹ da trắng 15 tuổi.

Tế bào HepG2 đã được đề xuất như một thay thế cho tế bào gan người trong các mô hình nghiên cứu dược lý in vitro về gan [36],[37].

Ưu điểm của tế bào HepG2 là một dòng tế bào bất tử, có sẵn với số lượng lớn, dễ duy trì vì có thể bảo quản lạnh và các hoạt động của enzym chuyển hóa thuốc không bị giảm trong quá trình nuôi cấy tế bào. Tế bào HepG2 cho thấy tỷ lệ tương đồng khoảng 81,3% so với tế bào gan người mới phân lập [38]. Tế bào HepG2 cũng sở hữu nhiều đặc điểm sinh hóa và hình thái của tế bào gan bình thường. Tế bào HepG2 biểu hiện nhiều enzym tham gia chuyển hóa thuốc ở pha I như CYP1A, CYP2B, CYP3A, CYP2E... và một số enzym chuyển hóa thuốc pha II. Dưới tác động của chất ngoại sinh, HepG2 biểu hiện các gen mã hóa protein tham gia quá trình vận chuyển, đáp ứng kích thích bên ngoài, quá trình chuyển hóa acid amin, carbohydrat, lipid, truyền thông tin... tương tự tế bào gan người nuôi cấy sơ cấp.

1.4.2. Mô hình ex vivo

Các lát cắt gan là môi trường ex vivo mô phỏng các đặc điểm đa tế bào của các cơ quan in vivo. Tương tác giữa các tế bào và phân bố được giữ nguyên trong mô hình này, nên có thể dùng trong các thử nghiệm đánh giá thay đổi hình dạng mẫu. Các lát cắt gan có đặc điểm giữ được chức năng của các enzym chuyển hóa và tiêu quản mật [39]; các mô hình này cũng đã chứng tỏ là hệ thống để đánh giá quá trình chuyển hóa, tổn thương gan, đồng thời có chức năng như cầu nối giữa hệ thống in vivo và môi trường tế bào [40]. Gan phân lập được tưới máu là một mô hình kết hợp các đặc điểm in vitro dưới điều kiện in vivo. Mô hình đầu tiên được phát triển là gan heo và sau đó là gan của các động vật nhỏ hơn (chuột, thỏ). Mô hình này giữ được cấu trúc 3 chiều của ống mật tại thời điểm xử lý.

1.4.3. Mô hình in vivo

Các mô hình in vivo thực hiện trực tiếp trên động vật sống, phổ biến là chuột, thỏ, khỉ...; qua mô hình này có thể giúp đánh giá cơ chế bảo vệ. Tổn thương gây ra ở các động vật thử nghiệm do các chất độc gan khác nhau với liều lượng đã biết và

tác động của tổn thương và/hoặc khả năng bảo vệ được đánh giá thông qua các thông số chuyển hóa và sinh hóa cũng như các đặc điểm mô học.

Ưu điểm của mô hình in vivo: Là mô hình có sự tương thích cao với người. Mô hình in vivo thể hiện được sự tương tác giữa các tế bào, phát hiện được những thay đổi về cấu trúc giải phẫu của cơ quan nghiên cứu. Nhờ sự ảnh hưởng giữa các cơ quan trong cơ thể nên mô hình in vivo thích hợp nghiên cứu dược động học, quá trình chuyển hóa các chất và độc tính mạn. Mô hình in vivo cũng cho thấy khả năng tác động của hệ thống miễn dịch và thần kinh trung ương trong tiến triển của các loại bệnh gan [34].

Nhược điểm của mô hình in vivo: Yêu cầu số lượng lớn động vật thử nghiệm và thường tiến hành trong khoảng thời gian dài, quan ngại về vấn đề y đức và tài chính. Mô hình in vivo cần lượng mẫu thử lớn, đây cũng là một hạn chế đặc biệt khi thử các mẫu thử nguồn gốc tự nhiên.

1.4.4. Một số mô hình in vivo gây tổn thương gan

- Mô hình gây tổn thương gan bằng CCl₄

Cacbon tetracolorid (CCl₄) là chất không màu, sử dụng chủ yếu làm chất phản ứng trong tổng hợp hữu cơ. Độc tính do CCl₄ gây ra phụ thuộc vào liều là thời gian tiếp xúc. Ở liều thấp gây ra các tác động như mất cân bằng nội môi, peroxyd hóa lipid, giải phóng các cytokin và apoptotic, sau đó tái tạo lại tế bào. Ở liều cao hoặc nếu thời gian tiếp xúc lâu hơn, sẽ gây ảnh hưởng nghiêm trọng hơn và tổn thương xảy ra trong thời gian dài hơn, bệnh nhân có thể bị xơ hóa, xơ gan hoặc thậm chí là ung thư.

Trong cơ chế tác động chính của CCl₄ có sự hình thành các gốc tự do gây stress oxy hóa và kích thích gây viêm. CCl₄ dưới chuyển hóa của cytochrom P450 2E1 (CYP2E1) biến đổi thành trichloromethyl CCl₃.. CCl₃. là một gốc tự do, tiếp tục kết hợp với oxy tạo gốc trichloromethyl peroxy (CCl₃OO.) hoạt tính mạnh hơn. Các gốc tự do này gây bão hòa hệ thống chống oxy hóa phòng thủ của cơ thể, phản ứng với các protein, tấn công các acid béo chưa no, gây peroxyd hóa lipid, giảm lượng cytochrom P450 dẫn đến suy giảm chức năng do giảm protein và tích tụ triglycerid,

thay đổi trạng thái cân bằng nước, điện giải đồng thời làm tăng các enzym gan trong huyết tương. Sự peroxyd hóa lipid dẫn đến một loạt các phản ứng, như phá hủy lipid màng, tạo ra các chất độc hại nội sinh, gây ra nhiều biến chứng về gan và bất thường chức năng.

Vì vậy, peroxid hóa lipid được coi là một yếu tố quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của tổn thương gan do CCl₄. Việc ức chế hình thành các gốc tự do được xem là điểm mấu chốt trong việc bảo vệ chống lại tổn thương do CCl₄ gây ra. Do đó, mô hình này được sử dụng rộng rãi để đánh giá dược phẩm và các sản phẩm tự nhiên có hoạt tính bảo vệ tế bào gan và chống oxy hóa [34]. Bên cạnh đó, sự gia tăng stress oxy hóa do CCl₄ kích thích gây tình trạng viêm. Các cytokin gây viêm đồng thời làm biến đổi yếu tố tăng trưởng beta-1 (TGF- β 1) kích hoạt các tế bào hình sao thông qua thụ thể liên kết với TGF- β 1. Các tế bào hình sao được kích hoạt sẽ làm tăng hình thành sợi và tổng hợp collagen, cuối cùng dẫn đến xơ hóa gan. Liều duy nhất của CCl₄ có thể đạt nồng độ đỉnh trong 3 giờ. Trong vòng 24 giờ, CCl₄ gây ra thay đổi các chỉ số sinh hóa và mô học của tế bào gan. Sử dụng liều lặp lại CCl₄ có thể gây xơ hóa và hoại tử gan. Tiêm dưới da CCl₄ liều 2 ml/kg trong 2 ngày làm tăng hàm lượng SGPT và SGOT, nếu tiếp tục trong 2 – 4 tuần sẽ dẫn đến xơ hóa và xơ hóa tiến triển trong 5 – 7 tuần, xơ gan nặng trong 8 – 9 tuần [41]. Một số mô hình gây tổn thương gan chuột với CCl₄ đã được báo cáo.

- Mô hình gây tổn thương gan do acetaminophen

Acetaminophen là thuốc giảm đau và hạ sốt được sử dụng rộng rãi. Ở liều cao, acetaminophen gây tổn thương gan cấp tính và hoại tử tế bào gan. Ở liều điều trị, acetaminophen chủ yếu được chuyển hóa thành glucuronic hoặc dẫn xuất sulfat và bài tiết, phần còn lại chuyển hóa thành các chất phản ứng trung gian, được loại bỏ bằng cách kết hợp với glutathion. Khi dùng quá liều, acetaminophen được oxy hóa bởi cytochrom P450 (chủ yếu là đồng phân CYP2E1) thành N-acetyl-p-benzoquinon (NAPQI), nhanh chóng gắn vào glutathion. Trong điều kiện hình thành quá mức NAPQI và sự suy giảm glutathion, chất chuyển hóa liên kết hóa trị với protein, tạo chất cộng hợp, gây rối loạn chức năng ty thể và stress oxy hóa, kết quả gây hoại tử hoặc chết tế bào gan [42].

- Mô hình gây tổn thương gan do rượu

Phần lớn rượu được chuyển hóa tại gan qua hai giai đoạn: Giai đoạn 1: Chuyển hóa rượu thành acetaldehyd được thực hiện bởi ba hệ thống men: alcoholdehydrogenase nằm trong bào tương; hệ thống oxy hóa rượu ở microsom và các men catalase. Giai đoạn 2: Acetaldehyd được hình thành và nhanh chóng được oxy hóa chuyển thành acetat. Ở những người lạm dụng rượu, lượng acetaldehyd được sản sinh với một mức quá lớn sẽ không được chuyển hóa hết nên sẽ ở lại màng tế bào gây tổn thương tế bào thông qua các cơ chế gây độc, viêm và miễn dịch với hậu quả là quá trình tạo xơ gan. Rượu cũng ức chế glutathion peroxidase và làm giảm hoạt động của catalase, disutase superoxid [43].

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con. Lô 1 (chứng sinh học, n=10): Uống nước cất, thể tích 20 mL/kg/ngày. Lô 2 (mô hình, n=10): Uống ethanol + uống nước cất thể tích 20 mL/kg/ngày. Lô 3 (chứng dương, n=10): Uống ethanol + uống silymarin liều 70 mg/kg/ngày. Lô 4 (n=10): Uống ethanol + uống viên nang PROTECFUL liều 0,48 viên/kg (liều tương đương với liều dự kiến dùng trên lâm sàng, hệ số quy đổi 12). Lô 5 (n=10): Uống ethanol + uống viên nang PROTECFUL liều 0,92 g/kg/ngày (liều gấp 3 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng, hệ số quy đổi 12)

Chuột từ lô 2 đến lô 5 được uống ethanol hằng ngày theo nồng độ tăng dần từng tuần (10%, 20%, 30%, 40%) với thể tích cho uống là 10 mL/kg thể trọng chuột. Một giờ sau khi uống ethanol, chuột được uống nước cất/thuốc thử hoặc chứng dương tương ứng theo từng lô. Chuột được uống ethanol và nước cất/thuốc thử/chứng dương liên tục trong 4 tuần. Chuột lô 1 được uống nước cất, thể tích 20 mL/kg/ngày [44].

1.5. Giới thiệu bài thuốc Bảo Đường Can PC

1.5.1. Đặc điểm của bài thuốc

1.5.1.1. Nguồn gốc xuất xứ

Bài thuốc nghiên cứu Bảo đường can PC là một bài thuốc nam kinh nghiệm của nhà thuốc gia truyền Nguyễn Phùng, xã Minh Sơn, huyện Đô Lương, tỉnh Nghệ

An. Bài thuốc có tác dụng hạ men gan, bảo vệ tế bào gan trên động vật thực nghiệm. Bài thuốc này đã được áp dụng điều trị trong dân gian từ lâu đời, dùng điều trị tăng men gan, giải độc gan, hỗ trợ bảo vệ và tăng cường chức năng gan, sắc uống ngày 1 thang. Trong quá trình công tác, bài thuốc Bảo đường can PC được TS.BS Trần Đức Hữu và Lương y Nguyễn Trọng Chung (1983 – Con trai lương Y Nguyễn Trọng Phùng) áp dụng có hiệu quả trên lâm sàng nhưng chưa có nghiên cứu nào về tác dụng dược lý và độc tính của bài thuốc. Chính vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài độc tính cấp và tác dụng bảo vệ tế bào gan của viên nén Bảo đường can PC trên động vật thực nghiệm.

1.5.1.2. Thành phần viên nén:

Viên nén bao gồm các vị sau:

Cà gai leo	2625 mg	Hậu phác nam	120 mg
Diệp hạ châu	1500 mg	Xa tiền	110 mg
Hoàng đằng	500 mg	Xuyên khung	110 mg
Chi tử	485 mg	Kê huyết đằng	100 mg
Nhân trần	333 mg	Nam mộc hương	100 mg
Actiso	250 mg	Sài hồ nam	90 mg
		Hoàng lục	70 mg

1.5.1.3. Pháp điều trị:

Thanh can giải độc, phát tán phong thấp, thoái hoàng.

1.5.1.4. Công năng, chủ trị:

- Công năng: Thanh can giải độc, thoái hoàng.
- Chủ trị: Kinh nghiệm điều trị tăng men gan, hỗ trợ bảo vệ tế bào gan,...

1.5.2. Phân tích bài thuốc

Trong bài thuốc Bảo đường can PC, Cà gai leo có vị khổ, ôn với tác dụng thanh can giải độc và Diệp hạ châu giải độc tiêu viêm, bảo vệ tế bào gan cùng làm

quân. Chi tử vị đắng, tính hàn, tác dụng lợi mật, thanh tam tiêu, chí hỏa; Nhân trần thanh can thoái hoàng; Hoàng đằng giải độc gan, thanh nhiệt táo thấp; Actiso thanh can lợi mật làm thần. Hậu phác nam ôn trung hạ khí, Xa tiền thanh thấp nhiệt, Nam mộc hương hành khí chỉ thống, Sài hồ giải nhiệt sơ can, Hoàng lục thanh can, trừ phiền làm tá. Xuyên khung, Kê huyết đằng hành khí hoạt huyết, dẫn thuốc vào kinh quyết âm Can làm sứ.

* Phân tích cụ thể từng vị thuốc trong bài thuốc Bảo đường can PC [45].

- Cà gai leo:

+ Tên khoa học: *Herba Solani procumbensis*

+ Tính vị quy kinh: Tính khổ, ôn

+ Công năng: Thanh can giải độc, phát tán phong thấp, tiêu độc, trừ ho, giảm đau, cầm máu.

+ Chủ trị: Phong thấp, đau nhức các đầu gân xương, ho khan, ho gà, dị ứng, xơ gan, viêm nhiễm quanh răng.

- Nhân trần:

+ Tên khoa học: *Herba Adenosmatis caerulei*

+ Tính vị quy kinh:

Vị đắng tính hàn. Quy kinh tỳ vị, can, đờm

+ Công năng: thanh nhiệt trừ thấp, thoái hoàng

- Diệp hạ châu:

+ Tên khoa học: *Herba Phyllanthi urinariae*

+ Tính vị quy kinh: Tính cam, khổ, lương. Quy vào các kinh can, phế.

+ Công năng: Tiêu độc, sát trùng, tiêu viêm, tán ứ, thông huyết.

+ Chủ trị: Viêm họng, mụn nhọt, viêm da thần kinh, chàm, sản hậu ứ huyết đau bụng.

- Hoàng đằng:

+ Tên khoa học: *Caulis et Radix Fibraureae*

+ Tính vị quy kinh: Khổ, hàn. Quy vào các kinh tâm, can, đờm, vị.

+ Công năng: Thanh nhiệt tiêu viêm, lợi thấp, giải độc

+ Chủ trị: Chữa đau mắt đỏ, viêm họng, mụn nhọt mẩn ngứa, kiết lỵ, viêm bàng quang.

- Chi tử:

+ Tên khoa học: *Fructus Gardenia jasminoidis*

+ Tính vị quy kinh: Vị đắng, tính hàn. Quy kinh tâm, phế, tam tiêu.

+ Công năng: Thanh nhiệt trừ phiền, lợi tiểu, lương huyết chỉ huyết.

+ Chủ trị: Sốt cao, tâm phiền, hoàng đản tiểu đỏ, đi tiêu ra máu, nôn ra máu, chảy máu cam, mắt đỏ sưng đau. Dùng ngoài trị sưng đau do sang chấn.

- Actiso:

+ Tên khoa học: *Folium Cynarae scolymir*

+ Tính vị quy kinh: Khô, lương. Vào các kinh can, đờm.

+ Công năng: Lợi mật, chỉ thống.

+ Chủ trị: Tiêu hóa kém, viêm gan, viêm túi mật, sỏi mật.

- Hậu phác nam:

+ Tên khoa học: *Cortex Magnoliae officinalis*

+ Tính vị quy kinh: Khô, tán, ôn. Quy vào kinh tỳ, vị, phế, đại tràng.

+ Công năng: Ôn trung hạ khí, táo thấp tiêu đờm.

+ Chủ trị: Thượng vị đầy trướng, nôn mửa, tiết tá, thực tích, ho, suyễn.

- Xa tiền:

+ Tên khoa học: *Semen Plantaginis*

+ Tính vị quy kinh: Cam, lương, Vào các kinh can, phế, thận, tiểu trường, bàng quang.

+ Công năng: Thanh thấp nhiệt, trừ đờm, chỉ ho, lợi tiểu, thông lâm, chỉ huyết.

+ Chủ trị: Ho nhiều đờm, viêm phế quản, viêm thận, bàng quang, sỏi tiết niệu, tiểu tiện ra máu, chảy máu cam.

- Xuyên khung:

+ Tên khoa học: *Rhizoma Ligustici watliehii*

+ Tính vị quy kinh: Tân, ôn. Vào các kinh can, đờm, tâm bào.

- + Công năng: Hành khí hoạt huyết, trừ phong
- + Chủ trị: Điều kinh, nhức đầu, hoa mắt, cảm mạo phong hàn, phong thấp nhức mỏi, ngực bụng đau tức, nhọt độc sưng đau.

- Kê huyết đằng:

- + Tên khoa học: *Caulis Spatholobi suberecti*
- + Tính vị quy kinh: Khô, cam, ôn. Vào các kinh can, thận.
- + Công năng: Hoạt huyết thông lạc, bổ huyết.
- + Chủ trị: Chứng huyết hư gây huyết ứ trệ, bế thông kinh, chấn thương tụ huyết, phong thấp đau lưng, đau xương khớp.

- Nam mộc hương:

- + Tên khoa học: *Radix Saussurea lappae*
- + Tính vị quy kinh: Khô, tân, ôn. Vào các kinh tỳ vị, đại tràng, can.
- + Công năng: Hành khí chỉ thống, kiện tỳ hòa vị.
- + Chủ trị: Khí trệ, ngực bụng đầy trướng, đau bụng, nôn mửa, ỉa.

- Sài hồ nam:

- + Tên khoa học: *Radix Bupleuri chinensis*
- + Tính vị quy kinh: Khô, tân, vị, hàn. Quy vào các kinh: Can, đờm, tâm bào, tam tiêu.
- + Công năng: Hòa giải biểu lý, sơ can, thăng dương.
- + Chủ trị: Hàn nhiệt vãng lai, ngực sườn đau trướng, miệng đắng, không muốn ăn, buồn nôn (như sốt rét); đau đầu, chóng mặt, dễ cáu gắt, rối loạn kinh nguyệt, sa dạ con, sa trực tràng.

- Hoàng lục:

- + Tên khoa học: *Fructus Zanthoxylum nitidi*
- + Tính vị quy kinh: Vị đắng, tính hàn. Vào kinh tâm, tỳ, vị, can, đờm, đại tràng.
- + Công năng: Thanh nhiệt táo thấp, thanh tâm, trừ phiền, thanh can sáng mắt, tả hỏa, giải độc.
- + Chủ trị: Đau bụng, viêm mắt, ỉa ỉa, bồn chồn mất ngủ, đau mắt đỏ [46].

CHƯƠNG 2

CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu nghiên cứu

2.1.1. Công thức viên nén Bảo đường can PC

Bảng 2.1 Thành phần các vị thuốc trong một thang thuốc Bảo đường can PC

STT	Tên dược liệu	Tên khoa học	Hàm lượng (g)
1	Cà gai leo	<i>Herba Solani procumbensis</i>	2625
2	Diệp hạ châu	<i>Herba Phyllanthi urinariae</i>	1500
3	Hoàng đằng	<i>Caulis et Radix Fibraureae</i>	500
4	Chi tử	<i>Fructus Gardenia jasminoidis</i>	485
5	Nhân trần	<i>Herba Adenosmatis caerulei</i>	333
6	Actiso	<i>Folium Cynarae scolymir</i>	250
7	Hậu phác nam	<i>Cortex Magnoliae officinalis</i>	120
8	Xa tiền	<i>Semen Plantaginís</i>	110
9	Xuyên khung	<i>Rhizoma Ligustici watliehii</i>	110
10	Kê huyết đằng	<i>Caulis Spatholobi suberecti</i>	100
11	Nam mộc hương	<i>Radix Saussurea lappae</i>	100
12	Sài hồ nam	<i>Radix Bupleuri chinensis</i>	90
13	Hoàng lực	<i>Fructus Zanthoxylum nitidi</i>	70

Các vị thuốc sử dụng trong nghiên cứu được bào chế theo đúng tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V [45].

- Phụ liệu:

+ Chất chống đông vón: magnesium stearat, bột talc, calcium carbonat; Chất ổn định: polyvinyl pyrrolidon (PVP K30);

+ Chất làm dày: hydroxypropyl methyl cellulose; Chất làm bóng: polyethylen glycol 6000; Phẩm màu: titanium dioxid, brown HT, iron oxid black;

+ Chất bảo quản: sodium benzoat; Chất độn: microcrystallin cellulose.

- Bảo quản thuốc nơi khô ráo, tránh ánh sáng mặt trời trực tiếp, nhiệt độ ≤ 30 độ C. Số lô sản xuất: 012023. Ngày sản xuất: 27/04/2023. Hạn sử dụng: 27/04/2026.

- Thuốc được bào chế dưới dạng viên nén bao phim, hàm lượng 639,3 mg.

- Thành phẩm: Lọ 60 viên. Số ĐKSP: 1007/2022/ĐKSP. Sản phẩm nghiên cứu đạt tiêu chuẩn cơ sở.

- Viên nén Bảo đường can PC được sản xuất bởi Công ty TNHH Bách Thảo Dược.

- Công ty chịu trách nhiệm sản phẩm: Công ty TNHH Đông Nam Dược Bảo Đường Can PC.

- Liều dùng: Trẻ em trên 12 tuổi và người lớn uống mỗi lần 3 viên, 2 lần/ngày, trong hoặc ngay sau ăn, tương đương 0,92 g/kg/ngày động vật (hệ số quy đổi 12)

- Chuẩn bị mẫu thử trong nghiên cứu độc tính cấp: Hoà tan 13 viên nén trong nước cất đến vừa đủ 25 ml. Dung dịch này dùng trong nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD₅₀ của viên nén Bảo đường can PC.

2.1.2. Thuốc, hóa chất và dụng cụ phục vụ nghiên cứu

- Thuốc, hoá chất phục vụ nghiên cứu

- Silymarin viên nang 54,1 mg, biệt dược Legalon[®] 70 Protect MADAUS (MADAUS GmbH - Đức). Hạn sử dụng: 31/7/2026. Số lô sản xuất: 32103013.

- Cồn ethanol 70^o của Công ty TNHH hoá chất và trang thiết bị Y tế Thuận Phát. Ngày sản xuất: 22/02/2022. Hạn sử dụng: 5 năm kể từ ngày sản xuất.

- Nước muối sinh lý Braun.

- Kit định lượng các enzym và chất chuyển hoá trong máu: ALT (alanin aminotransferase); AST (aspartat aminotransferase); GGT, bilirubin toàn phần; albumin của hãng Erba, định lượng trên máy sinh hóa bán tự động Erba của Ấn Độ.

- 5,5-Dithiol-bis(2-nitrobenzoic acid) (Sigma Aldrich, Germany).

- Acid thiobarbituric (Sigma Aldrich, Germany).

- Các hóa chất làm tiêu bản mô bệnh học đạt tiêu chuẩn thí nghiệm do Khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện E cung cấp.

- Dụng cụ, máy móc phục vụ nghiên cứu

- Bộ dụng cụ phẫu thuật.

- Cân phân tích LX 220A của hãng Precisa (Thụy Sĩ).

- Micropipet của hãng Eppendorf (Đức).

- Máy ly tâm Eba 20 của hãng Hettich (Đức).

- Máy sinh hoá bán tự động Erba Chem 5x Semi Auto Biochemistry Analyser (Đức).

- Máy HumanReader HS, Đức.

- Máy ly tâm Himac CT6e của hãng Himac, Nhật Bản.

- Kim đầu tù cho chuột uống.

- Cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1ml.

2.2. Thời gian và địa điểm tiến hành nghiên cứu

- Nghiên cứu được thực hiện tại: Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội.

- Thời gian: Tháng 02 đến tháng 08 năm 2024

2.3. Đối tượng, phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Đối tượng nghiên cứu

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss*, cả hai giống, khoẻ mạnh, cân nặng 25-30g do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Động vật thí nghiệm được nuôi trong điều kiện nhiệt độ duy trì $25 \pm 1^\circ\text{C}$, độ ẩm không khí và ánh sáng thích hợp. Động vật thí nghiệm được nuôi bằng thức ăn tiêu chuẩn dành riêng cho chuột nhắt và được uống nước tự do theo nhu cầu tại Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội.

2.3.2. Phương pháp nghiên cứu

2.3.2.1. Nghiên cứu độc tính cấp của viên nén Bảo đường can PC trên thực nghiệm

Nghiên cứu độc tính cấp của thuốc thử được tiến hành trên chuột nhắt trắng theo đường uống và xác định LD₅₀ theo phương pháp Litchfield-Wilcoxon [47],[49].

- Chuột nhắt trắng nhin đói qua đêm, được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống thuốc thử với liều tăng dần để xác định liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột (gây chết 0% chuột).

- Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết...) và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc thử. Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD₅₀ của thuốc thử. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 14 sau khi uống thuốc thử.

2.3.2.2. Nghiên cứu tác dụng bảo vệ chức năng gan trên mô hình gây tổn thương gan cấp tính bằng paracetamol của viên nén Bảo đường can PC trên thực nghiệm

Nghiên cứu được tiến hành dựa theo phương pháp đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào gan cấp tính [49-54].

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 (chứng sinh học, n=10): uống nước cất, 0,2 mL/10 g.
- Lô 2 (mô hình, n=10): uống nước cất 0,2 mL/10g
- Lô 3 (chứng dương, n=10): uống silymarin 70 mg/kg với thể tích 0,2 mL/10g.
- Lô 4 (n=10): uống viên Bảo đường can PC liều 0,92 g/kg/24h (liều tương đương với liều 3,84g/kg/ngày ở người, hệ số quy đổi 12) + paracetamol 400 mg/kg
- Lô 5 (n=10): uống viên Bảo đường can PC 2,76 g/kg/24h (liều tương đương với liều 18 viên/ngày ở người, hệ số quy đổi 12) + paracetamol 400 mg/kg.

Chuột được cho uống thuốc thử hoặc nước cất liên tục vào các buổi sáng trong 8 ngày. Đến ngày thứ 8, sau khi uống thuốc thử 2h (chuột được nhin đói 16-18h trước đó), tiến hành gây tổn thương tế bào gan bằng cách cho chuột từ lô 2 đến lô 5

uống paracetamol liều 400 mg/kg. Các chỉ số nghiên cứu được xác định sau 48 giờ gây độc bằng paracetamol:

- Lấy máu động mạch cảnh để định lượng các enzym AST, ALT, GGT và albumin, bilirubin toàn phần.
- Lấy gan để xác định trọng lượng, quan sát hình ảnh tổn thương đại thể.
- Định lượng malondialdehyd (MDA) và glutathion (GSH) trong gan chuột ở tất cả các lô nghiên cứu.
- Kiểm tra ngẫu nhiên cấu trúc vi thể của 6 mẫu gan chuột mỗi lô, đánh giá tổn thương giải phẫu bệnh theo bảng điểm [54]:

Điểm	Tổn thương
0	Bình thường, không hoại tử tế bào gan.
1	Tổn thương tối thiểu đến nhẹ. 1 ổ tổn thương, giới hạn trong vùng trung tâm tiểu thùy. Dưới 1/4 số tiểu thùy bị hoại tử.
2	Tổn thương nhẹ đến trung bình. 1 hoặc nhiều ổ tổn thương, ở trung tâm và lân cận. 1/2 số tiểu thùy bị hoại tử.
3	Tổn thương trung bình đến nặng. Nhiều ổ tổn thương. Số tiểu thùy bị hoại tử < 3/4 và > 1/2.
4	Tổn thương nặng. Nhiều ổ tổn thương. Số tiểu thùy bị hoại tử > 3/4.
5	Tổn thương rất nặng (toàn bộ tiểu thùy). Mất tế bào gan từ tĩnh mạch trung tâm đến ranh giới với tiểu thùy lân cận.

2.3.2.3. Nghiên cứu tác dụng bảo vệ tế bào gan của thuốc thử trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 (chứng sinh học, n=10): uống nước cất, thể tích 20 mL/kg/ngày
- Lô 2 (mô hình, n=10): uống ethanol + uống nước cất thể tích 20 mL/kg/ngày
- Lô 3 (chứng dương, n=10): uống ethanol + uống silymarin liều 70 mg/kg/ngày

- Lô 4 (n=10): uống ethanol + uống viên Bảo đường can PC liều 0,92 g/kg/24h (liều tương đương với liều dự kiến dùng trên lâm sàng, hệ số quy đổi 12)

- Lô 5 (n=10): uống ethanol + uống viên Bảo đường can PC 2,76 g/kg/24h (liều gấp 3 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng, hệ số quy đổi 12)

Chuột từ lô 2 đến lô 5 được uống ethanol hằng ngày theo nồng độ tăng dần từng tuần (10%, 20%, 30%, 40%) với thể tích cho uống là 10 mL/kg thể trọng chuột. Một giờ sau khi uống ethanol, chuột được uống nước cất/thuốc thử hoặc chúng dương tương ứng theo từng lô. Chuột được uống ethanol và nước cất/thuốc thử/chúng dương liên tục trong 4 tuần. Chuột lô 1 được uống nước cất, thể tích 20 mL/kg/ngày [44].

Tại thời điểm kết thúc nghiên cứu, lấy máu động mạch cảnh ở tất cả các lô chuột để định lượng các chỉ số sinh hoá. Lấy gan để cân trọng lượng, làm xét nghiệm mô bệnh học và định lượng malondialdehyd (MDA) và glutathion (GSH) trong gan.

Các chỉ số đánh giá:

- Cân nặng của chuột được xác định tại thời điểm trước nghiên cứu, sau 1 tuần, 2 tuần, 3 tuần và 4 tuần gây mô hình và uống thuốc thử.

- Xét nghiệm hoạt độ AST, ALT, GGT, nồng độ albumin và bilirubin toàn phần trong máu chuột nhất trắng.

- Định lượng hàm lượng malondialdehyd (MDA) và glutathion (GSH) trong gan chuột nhất trắng.

- Mô bệnh học: kiểm tra ngẫu nhiên cấu trúc vi thể gan của 30% số chuột ở mỗi lô [55]. Các xét nghiệm vi thể được thực hiện tại Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện E (do TS. Nguyễn Công Trung đọc kết quả vi thể).

2.4. Đạo đức trong nghiên cứu

- Nghiên cứu được thực hiện trên chuột nhất trắng, số lượng động vật sử dụng trong các mô hình thí nghiệm được hạn chế ở mức tối thiểu, đủ để thu được kết quả đảm bảo độ tin cậy và đủ xử lý thống kê.

- Những chuột chết trong quá trình làm thí nghiệm (nếu có) và số chuột sau khi thí nghiệm hoàn thành đều được xử lý theo đúng quy định.

- Việc lựa chọn động vật thí nghiệm, điều kiện nuôi, chăm sóc và sử dụng động vật đều tuân thủ chặt chẽ theo “Hướng dẫn nội dung cơ bản thẩm định kết quả nghiên cứu lâm sàng thuốc tân dược, thuốc cổ truyền, vắc xin và sinh phẩm y tế” của Bộ Y tế.

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

- Phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng SigmaPlot 12.0 (SYSTAT Software Inc, Richmond, CA, USA). Kết quả được biểu thị dưới dạng giá trị trung bình \pm SD. Sự khác biệt giữa các nhóm được đánh giá bằng phương pháp phân tích phương sai một yếu tố (ONE WAY ANOVA) sau đó sử dụng test hậu kiểm Student-Newman-Keuls để so sánh từng cặp.

- Các số liệu trong nghiên cứu độc tính cấp được xử lý thống kê theo phương pháp xác định LD₅₀ theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon.

- Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.6. Sai số và biện pháp khống chế sai số

- Sai số các phương pháp thu thập số liệu.

- Các phương pháp được áp dụng để hạn chế tối đa các sai số có thể xảy ra trong quá trình thu thập, phân tích và xử lý số liệu:

+ Động vật nghiên cứu được lựa chọn tương đối đồng đều, khỏe mạnh, không có dị tật hay dấu hiệu bất thường.

+ Thời gian thực hiện các bước thí nghiệm giữa các lô chuột là thống nhất cùng một thời điểm.

+ Số liệu được đo đạc cẩn thận và chính xác bằng các dụng cụ, máy móc tại phòng thí nghiệm đã được chuẩn hóa và có độ chính xác cao.

+ Xử lý số liệu bằng phần mềm chuyên dụng trên máy tính.

+ Các tiêu chuẩn và chỉ tiêu rõ ràng để đưa ra kết quả chính xác và sát với mục tiêu

+ Lưu trữ số liệu, thông tin bằng sổ ghi chép, chụp ảnh.

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đánh giá độc tính cấp của viên nén Bảo đường can PC trên động vật thực nghiệm.

Bảng 3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp theo liều của Bảo đường can PC

Lô chuột	n	Chế độ liều (viên/kg)	Số lượng chuột chết	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	13 viên/kg	0	Không
Lô 2	10	26 viên/kg	0	Không
Lô 3	10	24,9g/kg/ngày	0	Không

Nhận xét: Các lô chuột uống liều từ 13 viên/kg đến liều tối đa 24,9g/kg/ngày không có biểu hiện độc tính cấp. Từ Bảng 3.1 tính được liều dung nạp tối đa (luôn nhỏ hơn liều chết 50%) của Bảo đường can PC cao gấp 27,1 lần liều dùng dự kiến trên người (tính người lớn trưởng thành 50 kg, hệ số ngoại suy trên chuột nhất 12, liều dự kiến trên người là 3,84g/kg/ngày).

3.2. Đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào gan trên mô hình viêm gan cấp bằng paracetamol của Bảo đường can PC trên động vật thực nghiệm

3.2.1. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC lên cân nặng gan chuột

Bảng 3.2 Ảnh hưởng của Bảo đường can PC

lên cân nặng gan chuột trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol

Lô nghiên cứu	n	Trọng lượng gan tương đối
Chứng sinh học	10	0,47 ± 0,07*
Mô hình	10	0,76 ± 0,15
Silymarin 70 mg/kg/ngày	10	0,65 ± 0,10
Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày	10	0,64 ± 0,09*
Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày	10	0,71 ± 0,11

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ so với lô mô hình (Student's t-test)

Nhận xét: Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.2 cho thấy, trọng lượng gan chuột ở lô mô hình tăng cao đáng kể so với lô chứng sinh học ($p < 0,05$). Trọng lượng gan chuột ở các lô uống silymarin và Bảo đường can có xu hướng giảm so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được quan sát thấy ở lô uống thuốc thử liều cao ($p < 0,05$).

3.2.2. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến chức năng gan của chuột nhắt trắng gây tổn thương gan bằng paracetamol

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC lên hoạt độ AST, ALT trong máu trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol

Lô nghiên cứu	n	AST (UI/L)	ALT (UI/L)
Chứng sinh học	10	141,36 ± 36,60***	60,55 ± 19,15***
Mô hình	10	578,86 ± 151,21	401,71 ± 126,42
Silymarin 70 mg/kg/ngày	10	405,33 ± 102,03*	302,33 ± 81,69
Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày	10	415,00 ± 135,14*	393,75 ± 90,41
Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày	10	263,00 ± 69,43***	243,50 ± 79,52*

* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ so với lô mô hình (Student's t-test)

Nhận xét: Kết quả ở bảng 3.3 cho thấy:

- Lô mô hình: Hoạt độ các enzym gan tăng cao rõ rệt so với lô 1 ($p < 0,001$).
- Lô silymarin 70 mg/kg/ngày: Hoạt độ các enzym gan có xu hướng giảm so với lô 2, trong đó hoạt độ AST giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).
- Lô Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày: Hoạt độ transaminase có xu hướng giảm so với lô 2, trong đó hoạt độ AST giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).
- Lô Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày: Hoạt độ AST, ALT đều giảm có ý nghĩa thống kê so với lô 2 với giá trị $p < 0,001$ và 0,05, tương ứng

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC lên nồng độ MDA trong gan trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol

Lô nghiên cứu	n	MDA (nmol/100 mg gan)
Chứng sinh học	10	33,79 ± 4,84*
Mô hình	10	40,07 ± 6,84
Silymarin 70 mg/kg/ngày	10	32,04 ± 6,16*
Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày	10	31,99 ± 5,10*
Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày	10	30,75 ± 5,64**

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: so với lô mô hình

Nhận xét: Số liệu ở Bảng 3.4 cho thấy, nồng độ MDA tăng cao rõ rệt ở lô mô hình so với lô chứng sinh học (p<0,05). Silymarin và Bảo đường can PC ở cả 2 mức liều nghiên cứu đều làm giảm đáng kể nồng độ MDA so với lô mô hình (p<0,05 hoặc 0,01). Không có sự khác biệt khi so sánh nồng độ MDA trong dịch đồng thể gan giữa hai lô uống Bảo đường can PC (p>0,05).

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC lên nồng độ GSH trong gan trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol

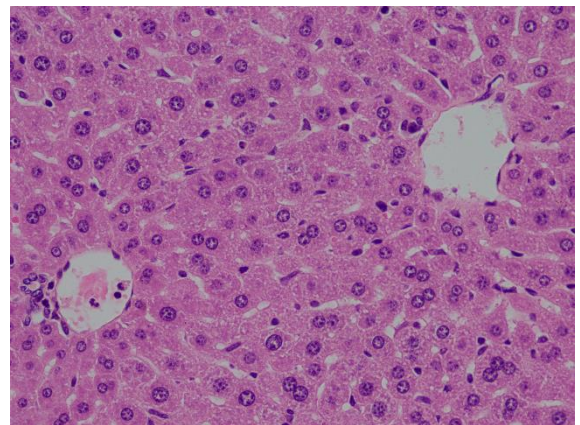
Lô nghiên cứu	n	GSH (µg/100 mg gan)
Chứng sinh học	10	1072,79 ± 119,36**
Mô hình	10	818,46 ± 161,90
Silymarin 70 mg/kg/ngày	10	894,80 ± 258,02
Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày	10	982,72 ± 196,26
Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày	10	962,27 ± 116,41

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: so với lô mô hình

Nhận xét: Kết quả ở Bảng 3.5 cho thấy, Bảo đường can PC ở cả hai mức liều nghiên cứu có xu hướng làm tăng nồng độ GSH trong dịch đồng thể gan, tuy nhiên sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô mô hình (p>0,05).

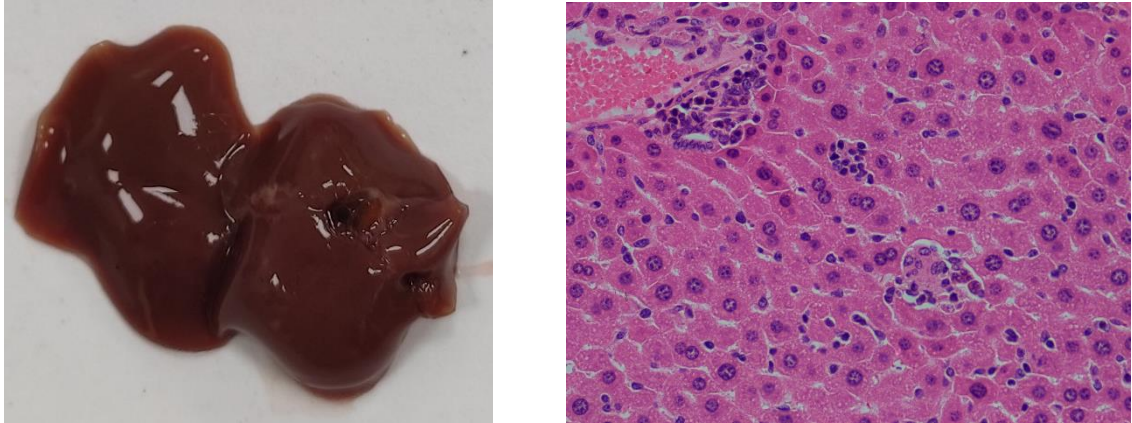
Bảng 3.2. Điểm tổn thương gan trên hình ảnh vi thể trên mô hình gây viêm gan cấp bằng paracetamol

Lô nghiên cứu	n	Điểm tổn thương						Tổng điểm
		Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	Mẫu 4	Mẫu 5	Mẫu 6	
Chứng sinh học	10	0	1	1	1	1	0	4
Mô hình	10	3	3	1	1	3	3	14
Silymarin 70 mg/kg/ngày	10	1	0	3	3	0	1	8
Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày	10	0	3	0	3	3	0	9
Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày	10	1	0	2	2	0	1	6



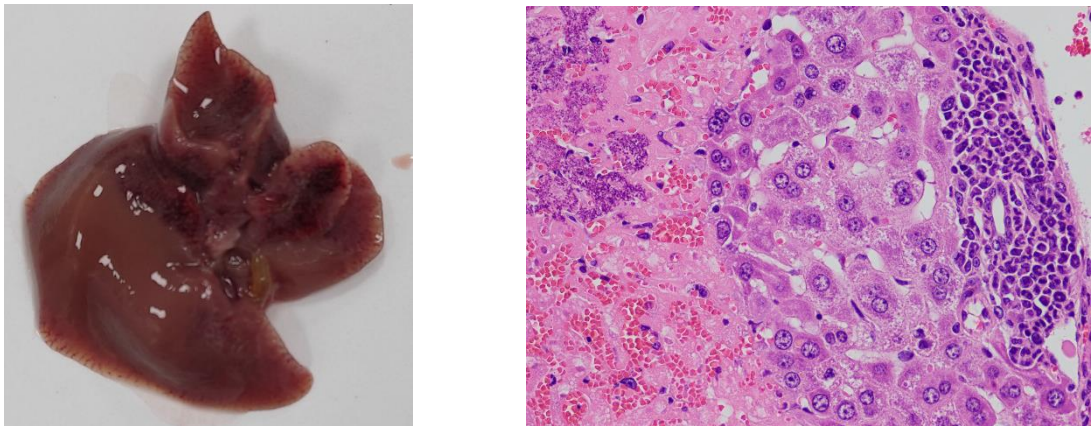
Hình 28. Hình ảnh gan lô chứng sinh học (#BVG01) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy ứ mật (Điểm 0)



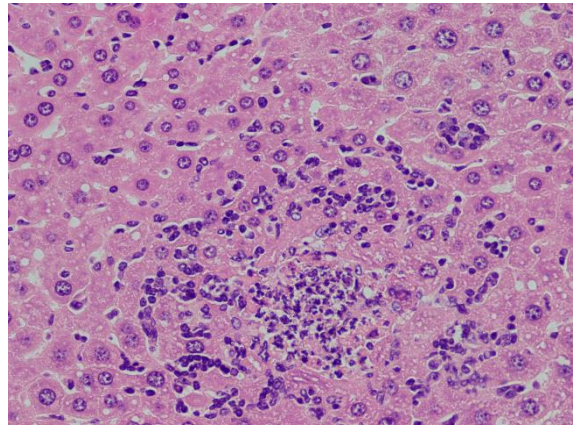
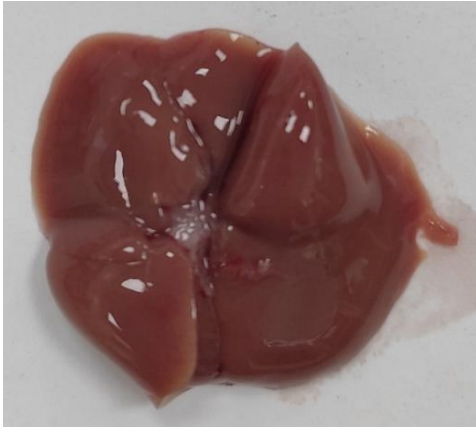
Hình 29. Hình ảnh vi thể gan lô chứng sinh học (#BVG02) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy ứ mật (Điểm 1)



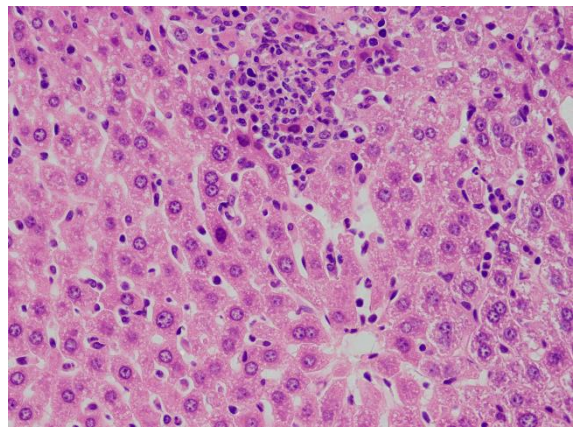
Hình 30. Hình ảnh gan lô mô hình (#BVG18) (HE × 400)

Mô gan hoại tử lan rộng chiếm 60% diện tích, nhiều ổ viêm khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan, không ứ mật (Điểm 3)



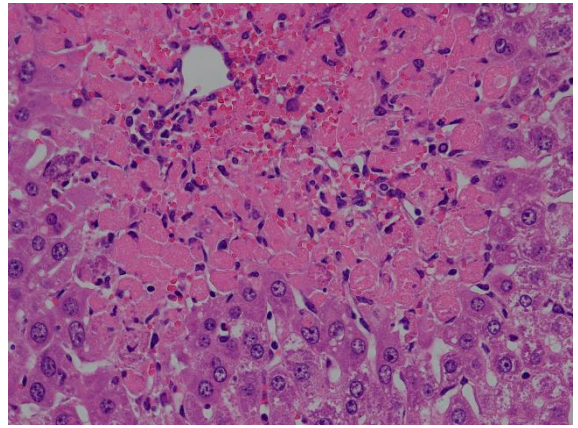
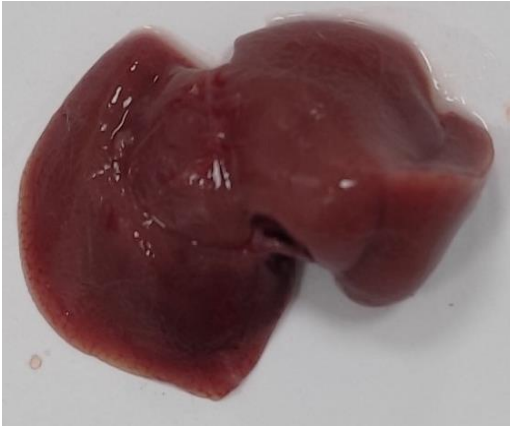
Hình 31. Hình ảnh gan lô mô hình (#BVG22) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan. Không thấy ứ mật (Điểm 1)



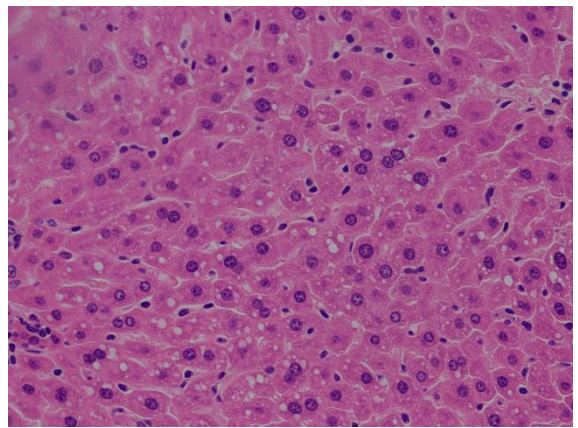
Hình 32. Hình ảnh gan lô silymarin (#BVG23) (HE × 400)

Mô gan có hoại tử viêm khu trú với nhiều bạch cầu đa nhân trung tính, chiếm 2% diện tích gan, hình thái hoại tử không phù hợp hoại tử do thuốc. Có tăng xâm nhập viêm khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy ứ mật hoặc xơ gan (Điểm 1)



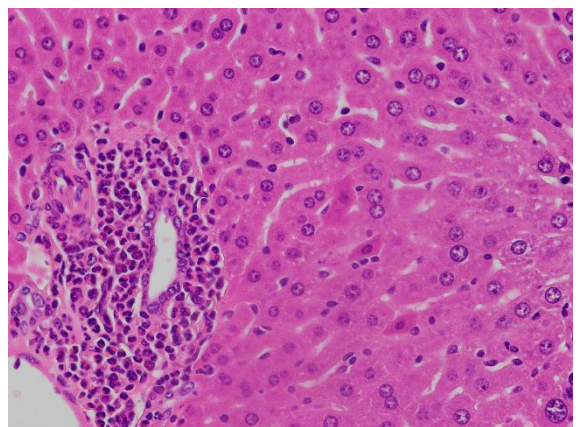
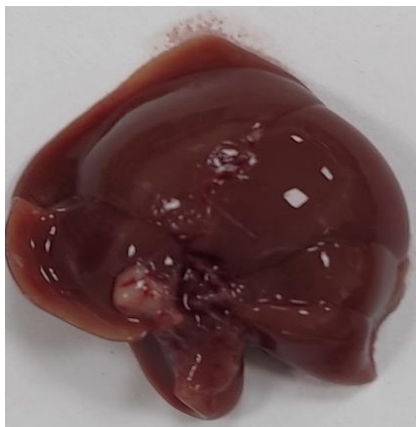
Hình 33. Hình ảnh gan lô uống silymarin (#BVG25) (HE × 400)

Mô gan hoại tử lan rộng chiếm 40% diện tích, nhiều ổ viêm khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan, không ứ mật (Điểm 3)



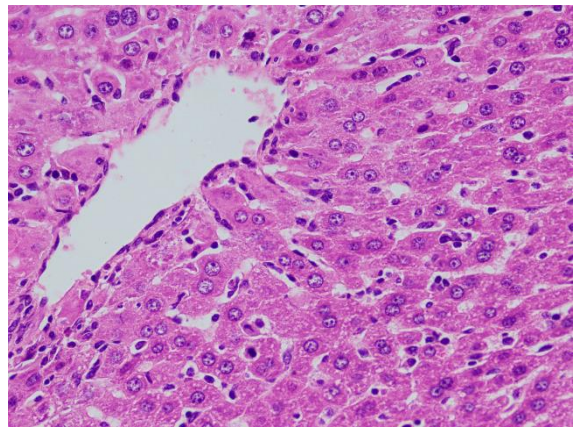
Hình 34. Hình ảnh gan lô uống silymarin (#BVG27) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy ứ mật (Điểm 0)



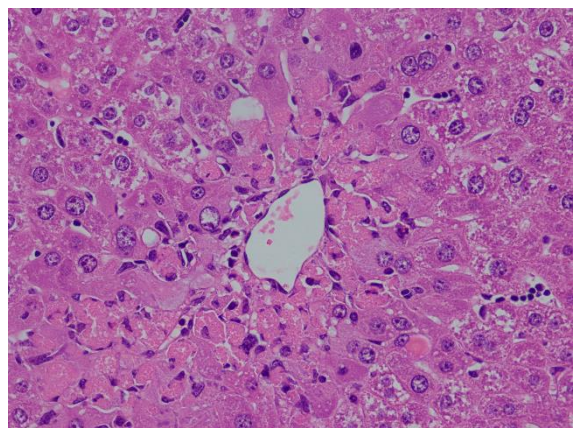
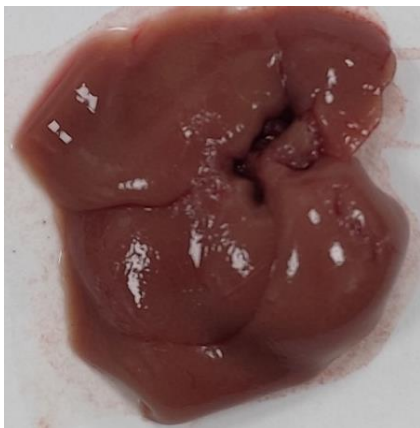
Hình 35. Hình ảnh gan lô uống Bảo đường can PC 2,76 g/kg (#BVG35) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy ứ mật (Điểm 1)



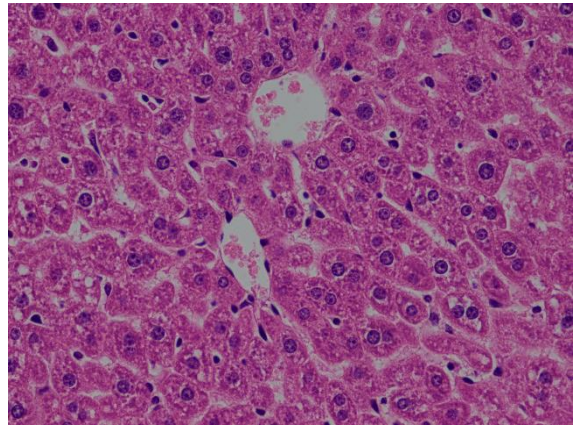
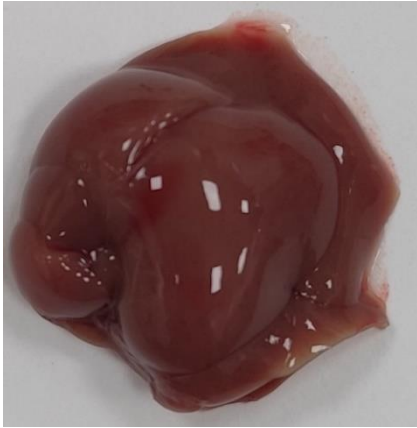
Hình 36. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 2,76 g/kg (#BVG37) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy ứ mật (Điểm 0)



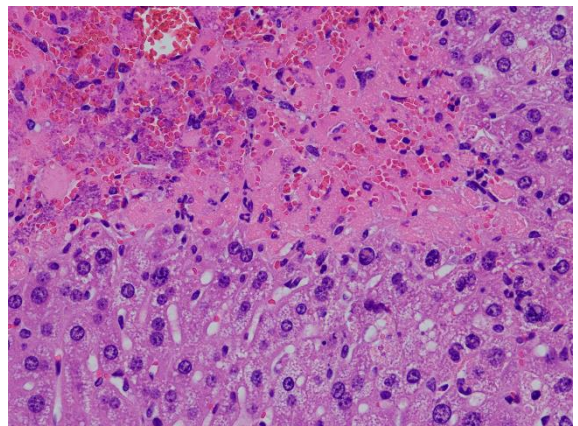
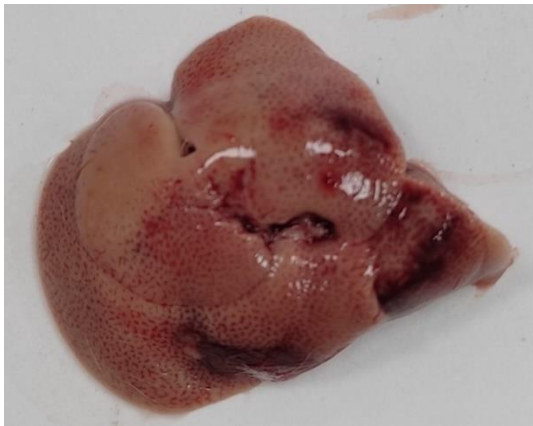
Hình 37. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 2,76 g/kg (#BVG39) (HE × 400)

Mô gan có hoại tử vùng, chiếm 5% diện tích. Viêm rõ ở khoảng 50% khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy ứ mật hoặc xơ gan (Điểm 2)



**Hình 38. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày(#BVG46)
(HE × 400)**

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy ứ mật (Điểm 0)

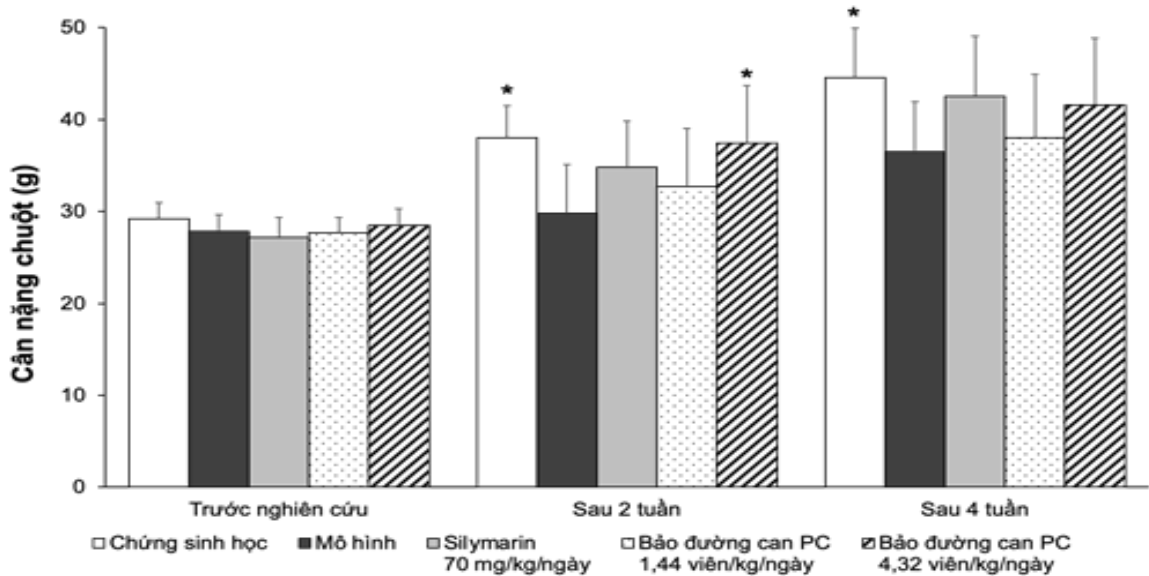


**Hình 39. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày(#BVG48)
(HE × 400)**

Mô gan hoại tử lan rộng chiếm 60% diện tích, nhiều ổ viêm khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan, không ứ mật (Điểm 3)

3.3. Đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào gan trên mô hình viêm gan bằng ethanol của viên nén Bảo đường can PC lên động vật thực nghiệm:

3.3.1. Ảnh hưởng của viên nén Bảo đường can PC lên cân nặng gan chuột trên mô hình viêm gan bằng ethanol



Biểu đồ 1. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC trên cân nặng của chuột nhất trắng trên mô hình viêm gan bằng ethanol

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: so với lô mô hình

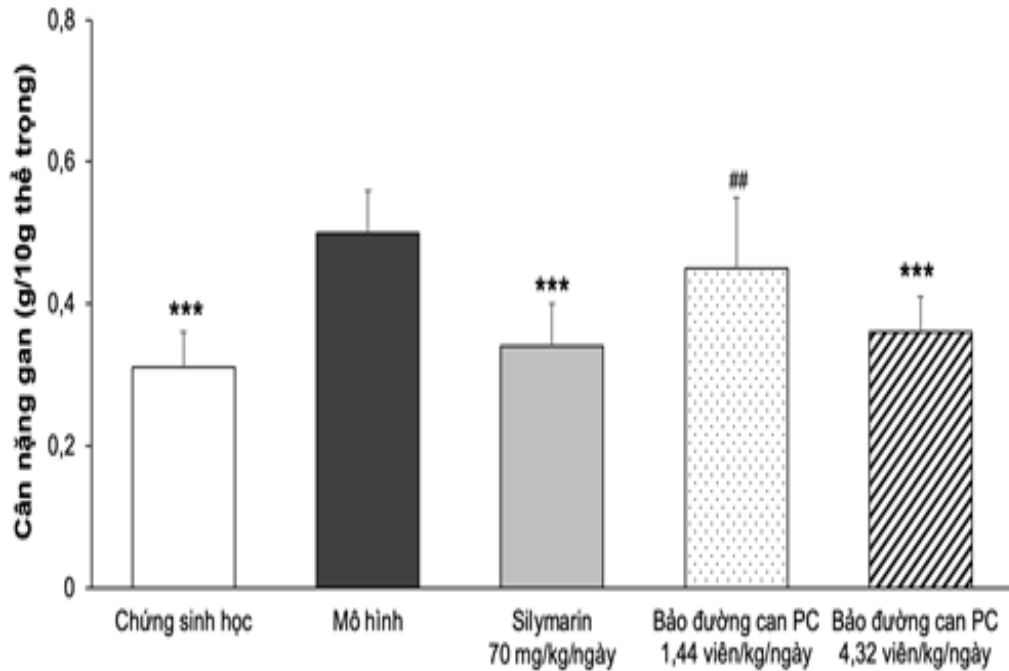
Nhận xét: Kết quả Biểu đồ 1 cho thấy:

- Tại thời điểm trước khi gây mô hình, cân nặng chuột không có sự khác biệt giữa các lô nghiên cứu ($p > 0,05$).

- Sau 2 tuần và 4 tuần gây mô hình, cân nặng của chuột lô chứng sinh học tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p < 0,05$).

- Tại thời điểm sau 2 tuần gây mô hình, cân nặng chuột của lô uống silymarin liều 70 mg/kg/ngày và lô uống Bảo đường can PC liều 0,92 g/kg/ngày không có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p > 0,05$). Cân nặng chuột của lô uống Bảo đường can PC liều 2,76 g/kg/ngày tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p > 0,05$).

- Tại thời điểm sau 4 tuần gây mô hình, cân nặng chuột của lô uống silymarin liều 70 mg/kg/ngày và lô uống Bảo đường can PC liều 0,92 g/kg/ngày và 2,76 g/kg/ngày không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p > 0,05$).



Biểu đồ 2. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến cân nặng gan trên mô hình viêm gan bằng ethanol

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: so với lô mô hình

$p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$: so với lô uống Bảo đường can PC liều 2,76 g/kg/ngày

Nhận xét: Kết quả biểu đồ 2 cho thấy:

- Tại thời điểm kết thúc nghiên cứu, cân nặng gan tương đối của chuột lô mô hình tăng rõ rệt so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

- Silymarin 70 mg/kg/ngày và Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày làm giảm có ý nghĩa thống kê trọng lượng gan tương đối của chuột so với lô mô hình ($p < 0,001$).

- Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày có xu hướng làm giảm trọng lượng gan tương đối của chuột so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.3.2. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến chức năng gan của chuột nhắt trắng gây tổn thương gan bằng ethanol

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến hoạt độ AST và ALT trong máu chuột nhắt trắng trên mô hình viêm gan bằng ethanol

Lô chuột	n	Hoạt độ AST (UI/L)	Hoạt độ ALT (UI/L)
Chứng sinh học	10	118,80 ± 19,18**	47,60 ± 6,65*
Mô hình	10	163,00 ± 30,82	60,90 ± 7,84
Silymarin 70 mg/kg/ngày	10	126,40 ± 20,00**	49,60 ± 6,22*
Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày	10	141,20 ± 28,46*	52,80 ± 14,63
Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày	10	121,60 ± 14,26**	43,90 ± 10,63**

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: so với lô mô hình

#p<0,05; ##p<0,01; ###p<0,001: so với lô uống Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày

Nhận xét: Kết quả Bảng 3.7 cho thấy:

- Tại thời điểm kết thúc nghiên cứu, xét nghiệm đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan hoạt độ AST và ALT trong máu chuột lô mô hình tăng rõ rệt so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p<0,05.

- Silymarin liều 70 mg/kg/ngày và Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày và liều 2,76 g/kg/ngày làm giảm có ý nghĩa thống kê hoạt độ AST trong máu chuột so với lô mô hình (p<0,05).

- Silymarin liều 70 mg/kg/ngày và Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày làm giảm hoạt độ ALT trong máu chuột so với lô mô hình, có ý nghĩa thống kê (p<0,05). Lô chuột uống Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày có xu hướng giảm hoạt độ ALT trong máu chuột so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến hoạt độ GGT trong máu chuột nhắt trắng trên mô hình viêm gan bằng ethanol

Lô chuột	n	Hoạt độ GGT (UI/L)
Chứng sinh học	10	7,40 ± 0,87***
Mô hình	10	13,32 ± 3,03
Silymarin 70 mg/kg/ngày	10	9,50 ± 1,64***
Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày	10	10,54 ± 2,18**
Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày	10	9,03 ± 1,77***

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: so với lô mô hình

#p<0,05; ##p<0,01; ###p<0,001: so với lô uống Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày

Nhận xét: Kết quả Bảng 3.8 cho thấy:

- Tại thời điểm kết thúc nghiên cứu, hoạt độ GGT trong máu chuột lô mô hình tăng rõ rệt so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p<0,001.

- Silymarin 70 mg/kg/ngày và Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày và 2,76 g/kg/ngày làm giảm có ý nghĩa thống kê hoạt độ GGT trong máu chuột so với lô mô hình (p<0,001).

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến nồng độ bilirubin toàn phần và nồng độ albumin trong máu chuột nhắt trắng trên mô hình viêm gan bằng ethanol

Lô chuột	n	Nồng độ bilirubin toàn phần ($\mu\text{mol/L}$)	Nồng độ albumin (g/dl)
Chứng sinh học	10	8,67 \pm 0,62	2,40 \pm 0,27
Mô hình	10	8,46 \pm 0,76	2,72 \pm 0,15
Silymarin 70 mg/kg/ngày	10	8,80 \pm 0,97	2,52 \pm 0,23
Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày	10	8,41 \pm 0,82	2,63 \pm 0,30
Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày	10	8,55 \pm 0,73	2,69 \pm 0,31

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 : so với lô mô hình

#p<0,05; ##p<0,01; ###p<0,001: so với lô Bảo đường can PC 2,76 g/kg

Nhận xét: Kết quả Bảng 3.9 cho thấy nồng độ bilirubin toàn phần và nồng độ albumin trong máu chuột không có sự khác biệt giữa các lô nghiên cứu (p>0,05).

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến nồng độ MDA trong gan chuột nhắt trắng trên mô hình viêm gan bằng ethanol

Lô chuột	n	Nồng độ MDA (nmol/100 mg gan)	Nồng độ GSH ($\mu\text{g}/100$ mg gan)
Chứng sinh học	10	25,45 \pm 4,92**	1068,35 \pm 180,52**
Mô hình	10	38,47 \pm 3,23	711,95 \pm 204,48
Silymarin 70 mg/kg/ngày	10	29,90 \pm 7,69*	1055,72 \pm 187,54**
Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày	10	33,42 \pm 10,41	914,92 \pm 239,69
Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày	10	26,98 \pm 6,37*	1099,82 \pm 219,80**

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: so với lô mô hình

[#]p<0,05; ^{##}p<0,01; ^{###}p<0,001: so với lô uống Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày

Nhận xét: Kết quả Bảng 3.10 cho thấy:

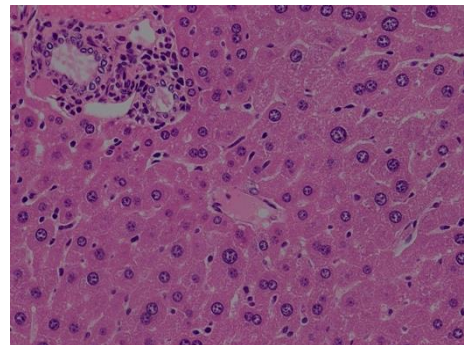
- Tại thời điểm kết thúc nghiên cứu, nồng độ MDA trong gan chuột lô mô hình tăng so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p<0,01. Nồng độ GSH trong gan chuột lô mô hình giảm so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p<0,01.

- Silymarin 70 mg/kg/ngày và Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày làm giảm có ý nghĩa thống kê nồng độ MDA và tăng có ý nghĩa thống kê nồng độ GSH trong gan chuột so với lô mô hình (p<0,05).

- Bảo đường can PC liều 0,92 g/kg/ngày có xu hướng làm giảm nồng độ MDA và tăng nồng độ GSH trong gan chuột so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

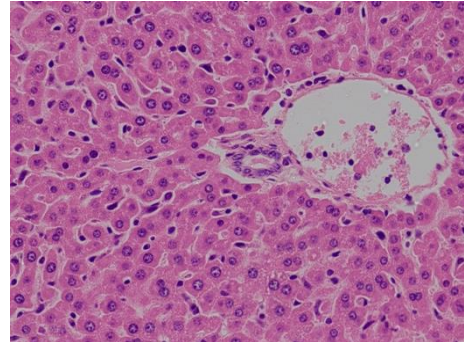
3.3.3. Hình ảnh đại thể và vi thể gan của chuột nhắt trắng trên mô hình viêm gan bằng ethanol

Ảnh hưởng của viên nén Bảo đường can PC đến hình ảnh vi thể gan của chuột nhắt trắng: Mô gan của chuột lô chứng sinh học rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy, không thấy xơ gan hoặc hoại tử, không thấy thoái hóa mỡ, không thấy ứ mật. Mô gan của chuột lô mô hình có rải rác ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy, mô gan thoái hóa hốc nặng. Mô gan của chuột uống silymarin và Bảo đường can PC cả 2 mức liều có rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy và mô gan có thoái hóa hốc nhẹ.



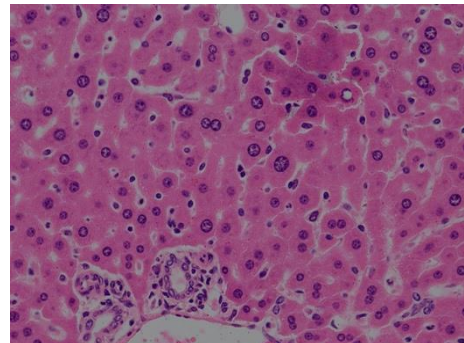
Hình 40. Hình ảnh gan lô chứng sinh học (chuột #01) (HE × 400) trên mô hình viêm gan bằng ethanol

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật. Mô gan trong giới hạn bình thường



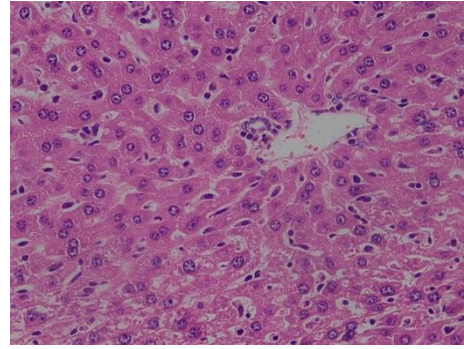
Hình 41. Hình ảnh vi thể gan lô chứng sinh học (chuột #03) (HE × 400) trên mô hình viêm gan bằng ethanol

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật. Mô gan trong giới hạn bình thường



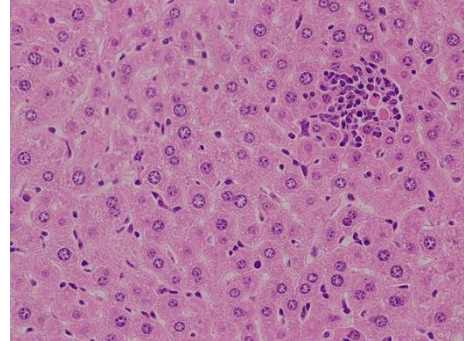
Hình 42. Hình ảnh vi thể gan lô chứng sinh học (chuột #04) (HE × 400) trên mô hình viêm gan bằng ethanol

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật. Mô gan trong giới hạn bình thường



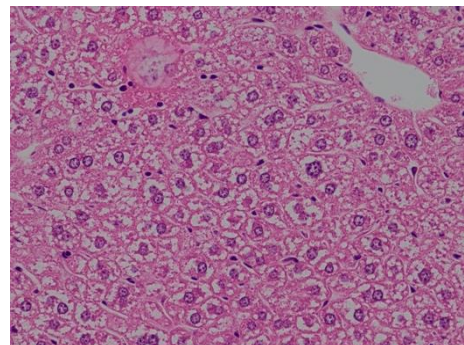
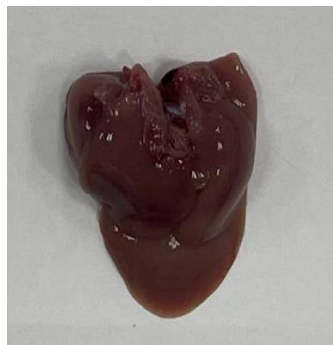
Hình 43. Hình ảnh gan lô mô hình (chuột #13) (HE × 400) trên mô hình viêm gan bằng ethanol

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan có thoái hóa hốc nặng. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



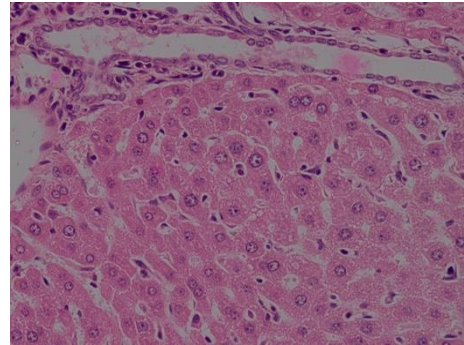
Hình 44. Hình ảnh gan lô mô hình (chuột #15) (HE × 400) trên mô hình viêm gan bằng ethanol

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy với thành phần tế bào viêm chủ yếu là lympho bào, ít bạch cầu đa nhân. Mô gan có thoái hóa hốc nhẹ. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



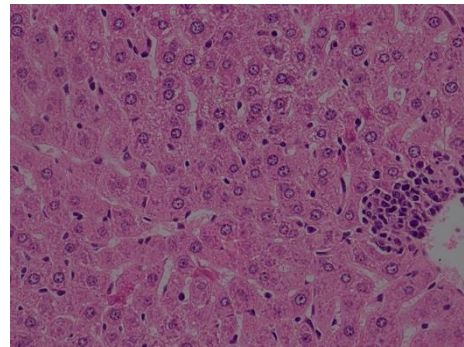
Hình 45. Hình ảnh gan lô mô hình (chuột #18) (HE × 400) trên mô hình viêm gan bằng ethanol

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan thoái hóa hốc nặng. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



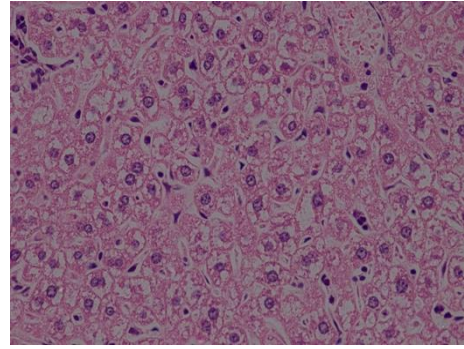
Hình 46. Hình ảnh gan lô silymarin (chuột #21) (HE × 400) trên mô hình viêm gan bằng ethanol

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan có thoái hóa hốc nhẹ. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



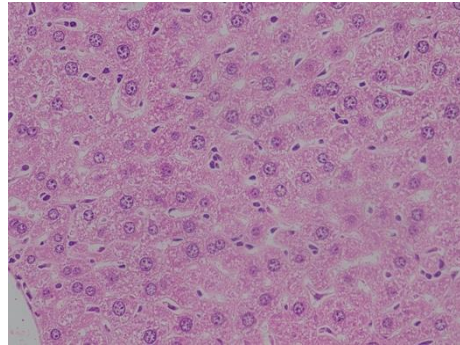
Hình 47. Hình ảnh gan lô uống silymarin (chuột #22) (HE × 400) trên mô hình viêm gan bằng ethanol

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan có thoái hóa hốc nhẹ. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



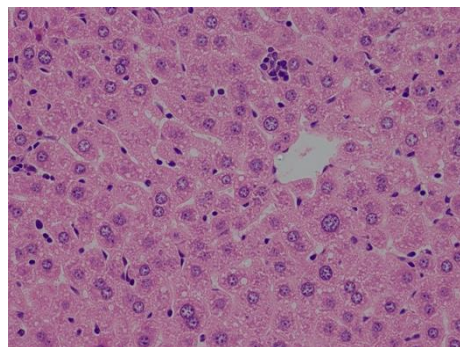
Hình 48. Hình ảnh gan lô uống silymarin (chuột #23) (HE \times 400) trên mô hình viêm gan bằng ethanol

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan thoái hóa hóc nặng. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



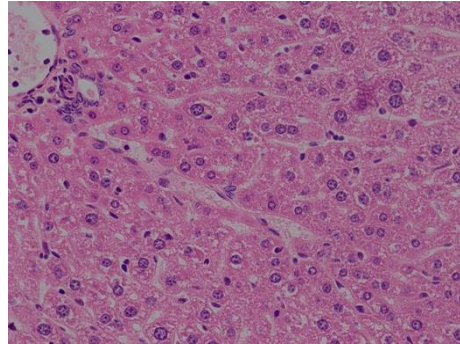
Hình 49. Hình ảnh gan lô uống Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày(chuột #32) (HE \times 400) trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan thoái hóa hóc nặng. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



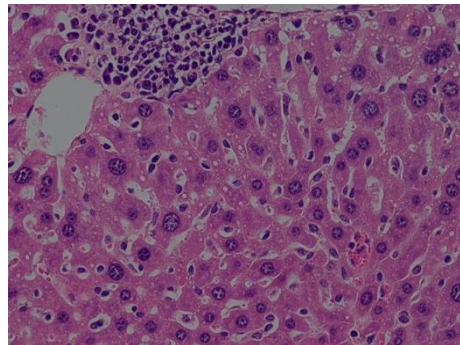
Hình 50. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol (chuột #34) (HE \times 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan thoái hóa hốc nhẹ. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



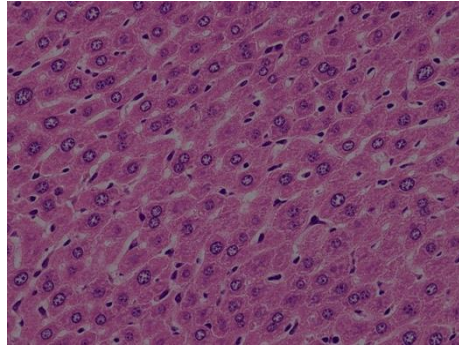
Hình 51. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 0,92 g/kg/ngày trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol (chuột #35) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan thoái hóa hốc nhẹ. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



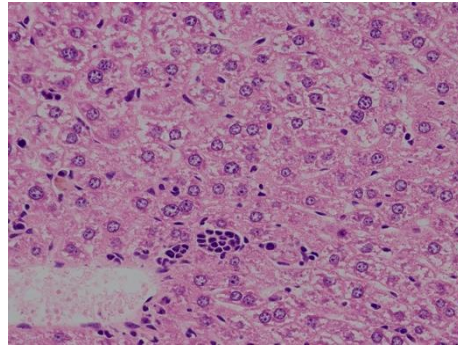
Hình 52. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol (chuột #41) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan có thoái hóa hốc nhẹ. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



Hình 53. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày trên mô hình gây viêm gan bằng ethanol (chuột #42) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan thoái hóa hốc nhẹ. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



Hình 54. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 2,76 g/kg/ngày trên mô hình viêm gan bằng ethanol (chuột #43) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan thoái hóa hốc nặng. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

Hiện nay, với quan điểm kết hợp Y học hiện đại và Y học cổ truyền trong điều trị bệnh, các thuốc có nguồn gốc từ dược liệu đã và đang được đưa vào sử dụng rộng rãi tại Việt Nam. Nước ta có nguồn dược liệu phong phú, nhân dân ta có kinh nghiệm sử dụng thuốc từ dược liệu lâu đời. Trong dân gian có rất nhiều vị thuốc, nhất là những vị thuốc thảo dược có tác dụng thanh can đã được sử dụng từ lâu, có những thuốc hoặc bài thuốc có tác dụng bảo vệ tế bào gan từ nguồn dược liệu sẵn có, với hiệu quả cao, ít độc, rẻ tiền và dễ sử dụng. Bảo đường can PC là bài thuốc nghiệm phương của lương y Nguyễn Phùng, lương y Nguyễn Trọng Chung thừa kế và áp dụng trong điều trị bệnh có tác dụng điều trị cải thiện chức năng gan trên bệnh nhân đạt hiệu quả nhất định. TS.BS Trần Đức Hữu sử dụng có hiệu quả trên lâm sàng và nghiên cứu chuyên dạng thành viên nén Bảo đường can PC nhưng chưa có nghiên cứu nào về tác dụng dược lý và độc tính của bài thuốc. Vậy Bảo đường can PC có tác dụng thật sự trong điều trị bệnh viêm gan, xơ gan như kinh nghiệm dân gian hay không? Đề tài luận văn thạc sĩ được tiến hành để chứng minh cơ sở khoa học của việc sử dụng Bảo đường can PC trong dân gian, hướng tới mục tiêu có thể đưa viên nén Bảo đường can PC vào sản xuất thuốc, góp phần đáp ứng yêu cầu điều trị các bệnh về gan hiện nay.

4.1 . Độc tính cấp của viên nén Bảo đường can PC trên mô hình động vật thực nghiệm.

Thuốc muốn được sử dụng phải đảm bảo an toàn và có hiệu lực. Một thuốc dù có hiệu lực mạnh đến đâu, nhưng nếu không đảm bảo an toàn thì cũng không được sử dụng. Để chứng minh thuốc có tính an toàn hay không, phải nghiên cứu độc tính của thuốc. Đây là bước rất quan trọng trong nghiên cứu phát triển thuốc. Theo hướng dẫn của WHO, tất cả các thuốc có nguồn gốc từ dược liệu hay hóa chất đều phải đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn trên động vật trước khi đưa vào thử nghiệm trên người [56]. Độc tính cấp cung cấp các thông tin về triệu chứng, thời gian, mức độ ngộ độc của động vật thực nghiệm sau khi dùng mẫu thử đơn

liều hoặc đa liều trong 24 giờ, thường được tiến hành theo đường dùng giống với đường dùng trong lâm sàng.

Khi thử độc tính cấp cần xác định liều an toàn, liều dung nạp tối đa, liều gây độc tính có thể quan sát được, liều thấp nhất có thể gây chết động vật thực nghiệm và LD₅₀ (liều gây chết 50% số động vật thực nghiệm) nếu có [57].

Chuột nhắt trắng được uống Bảo đường can PC từ liều thấp nhất đến liều cao nhất với thể tích 25 ml/kg/lần, 3 lần trong 24 giờ. Theo dõi thấy chuột uống Bảo đường can PC ở các mức liều không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau khi uống sản phẩm nghiên cứu. Mặc dù chuột nhắt trắng đã được uống Bảo đường can PC đến liều rất cao (24,9g/kg/ngày), cao gấp 27,1 lần liều dùng dự kiến trên người (tính người lớn trưởng thành 50 kg, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt 12, liều dự kiến trên người là 3,84g/kg/ngày), nhưng với mức liều này không có chuột nào chết và không quan sát thấy biểu hiện ngộ độc ở chuột. Vì vậy, chưa xác định được độc tính cấp và chưa tính được LD₅₀ của Bảo đường can PC trên chuột nhắt trắng theo đường uống.

4.2 Tác dụng bảo vệ tế bào gan của viên nén Bảo đường can PC lên mô hình động vật thực nghiệm.

4.2.1. Tác dụng bảo vệ tế bào gan của Bảo đường can PC trên mô hình chuột nhắt trắng gây tổn thương gan bằng paracetamol

Để đánh giá khả năng bảo vệ và phục hồi tổn thương gan của thuốc, 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.

Hiện nay đã có một số nghiên cứu trên thế giới xây dựng thành công mô hình gây viêm gan virus B [58],[59], viêm gan virus C [59],[60],[61], viêm gan virus D [62] trên chuột suy giảm miễn dịch thông qua việc cấy ghép tế bào gan người vào gan của chủng chuột này có thể tạo ra gan chuột nhân hóa (human liver chimeric

mice) và gây nhiễm virus viêm gan trên chính những con chuột đã được cấy ghép này [59],[63]. Trong điều kiện nghiên cứu tại Việt Nam, chúng tôi chưa thể áp dụng mô hình nghiên cứu này.

Hiện nay, để nghiên cứu thuốc có tác dụng trên gan, các tác giả trong và ngoài nước thường dùng các mô hình gây viêm gan bằng thuốc hoặc hóa chất, đánh giá tác dụng của thuốc thử qua tác dụng đối kháng với tác dụng gây tổn thương do các chất độc trên gan. Nghiên cứu có thể tiến hành theo hai hướng: tác dụng bảo vệ tế bào gan (gây độc gan sau khi dùng thuốc thử nghiệm) hoặc tác dụng tăng phục hồi tổn thương gan (gây độc gan trước khi dùng thuốc thử nghiệm) [18].

Có nhiều loại thuốc/ hóa chất được các tác giả sử dụng để gây mô hình viêm gan trong các nghiên cứu như PAR, carbon tetrachlorid [64], [65], D- galactosamin [66], erythromycin estolat [67],[68], aflatoxin B1 [69], thioacetamid [70] Tất cả các mô hình trên đều đã được chứng minh rõ ràng về cơ chế gây tổn thương gan [71], việc lựa chọn mô hình nào tùy thuộc vào mục tiêu và điều kiện nghiên cứu thực tế.

Trong đề tài này chúng tôi chọn mô hình gây viêm gan cấp bằng PAR liều cao. PAR là thuốc hạ sốt, giảm đau thông thường được sử dụng rất rộng rãi. Đây là thuốc được dùng để điều trị triệu chứng trong nhiều bệnh, có thể mua dễ dàng mà không cần kê đơn, vì vậy tình trạng lạm dụng thuốc hoặc sử dụng quá liều dẫn đến độc tính của thuốc thường xảy ra [72].

Theo thống kê tại Mỹ, ngộ độc do PAR chiếm khoảng 39% các trường hợp viêm gan cấp do thuốc [73]. Paracetamol gây tổn thương gan điển hình, khả năng gây độc gan trên thực nghiệm đã được chứng minh và dễ tiến hành, tần suất gặp tổn thương trên thực tế là rất lớn [74]. Vì vậy, để đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào gan của Bảo đường can PC, chúng tôi lựa chọn mô hình gây tổn thương gan bằng PAR, phù hợp với thực tiễn lâm sàng hiện nay.

Về liều gây độc gan của PAR trên thực nghiệm: Trong mô hình gây độc gan bằng PAR 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.

Göksel sener và cộng sự (2006) tiêm màng bụng chuột PAR 900 mg/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 [75]. Theo Stephan U và cộng sự, liều PAR 150 mg/kg đường uống gây bán độc (subtoxic), liều 500 mg/kg gây độc tính rõ [76].

Sau khi tham khảo tài liệu của tác giả Nguyễn Thị Tuyết Mai về chọn liều gây độc [77], chúng tôi chọn liều PAR gây độc trên chuột nhất là 400 mg/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 là phù hợp với thực tiễn lâm sàng là người bệnh chủ yếu bị ngộ độc thuốc theo đường uống.

Chọn thuốc chứng dương trong nghiên cứu: Trong nghiên cứu này, silymarin được lựa chọn làm thuốc chứng dương để so sánh với tác dụng của các mẫu thử. Silymarin là một thuốc đã được chứng minh có tác dụng bảo vệ tế bào gan tốt thông qua một số nghiên cứu thực nghiệm trên mô hình gây độc gan bằng PAR [78], CCl₄ [79], D-galactosamin [80]... và nghiên cứu trên lâm sàng. Cơ chế bảo vệ tế bào gan của silymarin có được thông qua một số tác dụng như: chống oxy hóa [81], ức chế peroxid hóa lipid [82], chống viêm [83]. Chính vì những lý do trên chúng tôi đã sử dụng silymarin làm thuốc chứng dương trong nghiên cứu này.

Gan là tạng lớn của cơ thể, đảm nhận rất nhiều chức năng quan trọng và phức tạp của cơ thể. Gan còn là nơi chuyển hóa và thải trừ thuốc. Chính vì vậy, khi đưa thuốc từ bên ngoài vào trong cơ thể với mục đích chữa bệnh, chính thuốc cũng có thể là tác nhân gây độc với gan, gây tổn thương gan. Vì vậy, trong các nghiên cứu đánh giá độc tính của thuốc, rất cần thiết phải nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc tới cấu trúc và chức năng của gan.

Trong nghiên cứu này, các chỉ số được đánh giá bao gồm trọng lượng gan, enzym gan, hàm lượng MDA, GSH ở gan. Tăng trọng lượng gan là một trong những dấu hiệu có thể gặp trong các bệnh lý gan. Để đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan, thường định lượng nồng độ các enzym có nguồn gốc tại gan trong huyết thanh. Sự tăng nồng độ các enzym này thường gắn liền với độc tính của thuốc do

sự hủy hoại tế bào gan. ALT là enzym được tìm thấy nhiều nhất ở gan, khu trú trong bào tương của tế bào nhu mô gan. Khi tổn thương hủy hoại tế bào gan, thậm chí chỉ cần thay đổi tính thấm của màng tế bào gan, hoạt độ ALT đã tăng cao trong máu. Hoạt độ ALT thường được sử dụng như dấu ấn sinh học đặc hiệu cho các bệnh ở gan. Khác với ALT, AST không những có ở gan mà còn có ở các cơ quan khác như cơ tim, cơ vân, thận, não... Trong lâm sàng, hoạt độ AST thường được sử dụng như dấu ấn sinh học để chẩn đoán nhồi máu cơ tim cấp. Trong tế bào gan, AST có chủ yếu trong ty thể, chỉ 1/3 khi trú ở bào tương của tế bào. Khi tổn thương tế bào gan ở mức độ dưới tế bào, AST trong ty thể mới được giải phóng ra ngoài [25]. Xét nghiệm hoạt độ ALT đặc hiệu cho tổn thương tế bào gan hơn so với AST. Khi có hội chứng hủy hoại tế bào gan, ALT và AST thường tăng rất cao, > 10 – 100 lần, do đó có giá trị trong chẩn đoán viêm gan cấp.

Kết quả nghiên cứu cho thấy trọng lượng gan của chuột lô mô hình cao hơn so với lô chứng sinh học, hoạt độ enzym gan (AST, ALT và GGT) tăng rõ, chỉ số MDA tăng cao và giảm hàm lượng GSH so với lô chứng sinh học. Như vậy, nghiên cứu đã gây thành công mô hình gây tổn thương gan do PAR. Kết quả bảng 3.3 cho thấy, lô mô hình có hoạt độ các enzym gan tăng cao rõ rệt so với lô chứng sinh học ($p < 0,001$), lô uống silymarin: hoạt độ các enzym gan có xu hướng giảm so với lô mô hình, trong đó hoạt độ AST giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), lô uống Bảo đường can PC liều cao làm hoạt độ AST, ALT đều giảm, liều thấp hoạt độ transaminase có xu hướng giảm so với lô mô hình, trong đó hoạt độ AST giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Bảo đường can PC liều 2,76 g/kg thể hiện tác dụng hạ transaminase tốt hơn liều 0,92 g/kg.

Kết quả nghiên cứu tại bảng 3.4 cho thấy nồng độ MDA tăng cao rõ rệt ở lô mô hình so với lô chứng sinh học. Silymarin và Bảo đường can PC ở cả 2 mức liều nghiên cứu đều làm giảm đáng kể nồng độ MDA so với lô mô hình ($p < 0,05$ hoặc 0,01). Kết quả ở Bảng 3.5 cho thấy, Bảo đường can PC ở cả hai mức liều nghiên cứu có xu hướng làm tăng nồng độ GSH trong dịch đồng thể gan. Như vậy, tác dụng bảo vệ tế bào gan của Bảo Đường Can PC là do tác dụng đã được chứng minh của từng thành phần trong viên nén. Tóm lại, tác dụng của Bảo đường can PC là tác

dụng phụ thuộc liều, cụ thể mức liều 2,76 g/kg thể hiện tác dụng tốt hơn mức liều 0,92 g/kg.

4.2.2. Tác dụng bảo vệ tế bào gan của Bảo đường can PC trên mô hình chuột nhắt trắng gây viêm gan do ethanol

Bệnh gan gây ra khoảng 2 triệu ca tử vong mỗi năm và chiếm 4% các ca tử vong. Nguyên nhân chủ yếu là do các biến chứng từ xơ gan và ung thư tế bào biểu mô gan. Trong đó, virus và rượu là những nguyên nhân phổ biến gây xơ gan [84]. Hiện nay, việc phát triển các thuốc mới để bảo vệ tế bào gan là điều cần thiết. Kết quả nghiên cứu cho thấy Bảo đường can PC liều 0,92 g/kg/ngày có xu hướng tác dụng bảo vệ tế bào gan trên mô hình gây tổn thương gan do ethanol. Trong khi đó, Bảo đường can PC liều 2,76 g/kg/ngày có tác dụng bảo vệ tế bào gan thông qua làm giảm cân nặng gan tương đối; giảm hoạt độ các enzym gan và stress oxy hoá tại gan có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình; đồng thời cải thiện cấu trúc vi thể gan của chuột nhắt trắng gây viêm gan mạn do ethanol.

Hiện nay, trên thế giới, mô hình viêm gan mạn và xơ gan thực nghiệm được tiến hành trên nhiều loại động vật khác nhau (chuột nhắt, chuột cống, ...), bằng cách sử dụng hóa chất như carbon tetrachlorid, thioacetamid, dimethylnitrosamin, d-galactosamin, rượu, hoặc sử dụng các biện pháp như thắt đường mật, sử dụng chuột đột biến gen. Mỗi mô hình gây tổn thương gan có cơ chế riêng đặc hiệu. Nghiên cứu này sử dụng rượu để gây viêm gan mạn ở chuột nhắt như một mô hình mô phỏng quá trình trong bệnh gan rượu ở người, cung cấp một nghiên cứu phù hợp về cơ chế bệnh sinh [85]. Đầu tiên, rượu sẽ được chuyển hóa thành acetaldehyd dưới tác động của enzym dehydrogenase. Tiếp theo, enzym acetaldehyd dehydrogenase oxy hóa acetaldehyd thành acetat không ổn định, dễ dàng phân hủy thành nước và carbon dioxid. Sự hình thành của acetaldehyd gây phá hủy tế bào gan vì đây là một tác nhân phản ứng với ADN và tạo ra các chất làm tổn thương mô. Acetaldehyd và dẫn xuất MDA (malondialdehyd) đồng thời liên kết với protein, tạo thành các phức hợp MAA (acetaldehyde adducts), được nhận biết bởi các thụ thể tế bào gan, kích thích điều hòa của các cytokin [86]. Con đường thoái hóa thứ hai của rượu thông qua hệ thống microsom xúc tác bởi enzym CYP2E1, chịu trách nhiệm

chính cho sự phân hủy rượu ở người nghiện rượu. CYP2E1 được kích hoạt sẽ giải phóng các gốc oxy hóa hoạt động có nguồn gốc từ oxy (ROS), dẫn đến stress oxy hóa và chết tế bào [87]. Như vậy, ethanol là một tác nhân gây ra tình trạng viêm gan mạn.

Trong nghiên cứu này, các chỉ số được đánh giá bao gồm trọng lượng gan, enzym gan, hàm lượng MDA, GSH ở gan. Tăng trọng lượng gan là một trong những dấu hiệu có thể gặp trong các bệnh lý gan. Bên cạnh đó, định lượng hoạt độ AST, ALT và GGT đóng vai trò quan trọng trong đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan. Khi màng tế bào gan bị tổn thương do ethanol, các enzym này được giải phóng ra không gian ngoại bào và đi vào hệ tuần hoàn, do đó làm tăng nồng độ trong huyết thanh. Hơn nữa, tổn thương gan mạn thường đi kèm với tăng các stress oxy hóa được thể hiện bằng sự gia tăng của marker chỉ điểm cho sự peroxy hóa lipid là MDA và GSH. Kết quả nghiên cứu cho thấy trọng lượng gan của chuột lô mô hình cao hơn rõ rệt so với lô chứng sinh học, hoạt độ enzym gan (AST, ALT và GGT) tăng rõ, chỉ số MDA tăng cao và giảm hàm lượng GSH so với lô chứng sinh học. Như vậy, nghiên cứu đã gây thành công mô hình gây viêm gan mạn do ethanol.

Một số thành phần trong viên nén Bảo Đường Can PC đã được chứng minh có tác dụng bảo vệ tế bào gan trên mô hình động vật thực nghiệm. Cà gai leo được nghiên cứu từ rất lâu với tác dụng bảo vệ tế bào gan. Nghiên cứu của Nguyễn Phúc Thái chỉ ra rằng cà gai leo có tác dụng bảo vệ tế bào gan trên chuột nhắt trắng gây tổn thương gan bằng trinitrotoluen thông qua việc làm giảm trọng lượng gan, giảm hoạt độ enzym gan AST, ALT có ý nghĩa thống kê sơ với lô mô hình [88]. Tác dụng này của cà gai leo có thể chứng minh thông qua cơ chế chống oxy hoá [89]. Bên cạnh đó, diệp hạ châu cũng là dược liệu được sử dụng từ lâu để giải độc và bảo vệ tế bào gan [46]. Ngày nay, các nghiên cứu đã chứng minh rằng diệp hạ châu có tác dụng bảo vệ tế bào gan in vitro và in vivo thông qua cơ chế chống oxy hoá và chống viêm [90]. Ngoài ra, chi tử cũng đã được Mi-Kyung Nam và cộng sự chứng minh tác dụng bảo vệ tế bào gan trên chuột nhắt chủng C57BL/6 bị tổn thương gan do chế độ ăn giàu chất béo [91]. Actiso là vị dược liệu được đề cập với tác dụng bảo vệ tế bào gan [46]. O. Aksu và cộng sự đã chỉ ra rằng thành phần cynarin đóng vai trò

chính trong tác dụng bảo vệ tế bào gan của actiso [92]. Một số thành phần khác của Bảo Đường Can PC như hậu phác nam, xa tiền, kê huyết đằng cũng đã được chứng minh tác dụng bảo vệ tế bào gan trên các mô hình thực nghiệm [93 – 95].

Như vậy, tác dụng bảo vệ tế bào gan của Bảo Đường Can PC là do tác dụng đã được chứng minh của từng thành phần trong viên nén. Tóm lại, kết quả nghiên cứu cho thấy viên nén Bảo đường can PC liều 2,76 g/kg/ngày có tác dụng bảo vệ tế bào gan trên mô hình chuột nhắt trắng gây viêm gan mạn bằng ethanol.

KẾT LUẬN

Từ các kết quả nghiên cứu về độc tính cấp và tác dụng bảo vệ tế bào gan của Bảo đường can PC trên thực nghiệm, chúng tôi rút ra một số kết luận như sau:

1. Nghiên cứu độc tính cấp của Bảo đường can PC

- Chưa xác định được LD₅₀ trên chuột nhắt trắng của Bảo đường can PC theo đường uống.

- Bảo đường can PC không gây biểu hiện độc tính cấp khi chuột uống đến liều 24,9g/kg/ngày.

- Liều dung nạp tối đa (luôn nhỏ hơn liều chết 50%) của Bảo đường can PC cao gấp 27,1 lần liều dùng dự kiến trên người (*tính người lớn trưởng thành 50 kg, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt 12, liều dự kiến trên người là 3,84g/kg/ngày*).

2. Nghiên cứu tác dụng bảo vệ tế bào gan của Bảo đường can PC

2.1. Nghiên cứu tác dụng bảo vệ tế bào gan của Bảo đường can PC trên mô hình chuột nhắt trắng gây viêm gan do paracetamol

- Kết quả nghiên cứu tác dụng bảo vệ tế bào gan của viên nén Bảo đường can PC ở 2 mức liều 0,92 g/kg/ngày và 2,76 g/kg/ngày trên mô hình thực nghiệm gây viêm gan cấp bằng paracetamol cho thấy xu hướng cải thiện các chỉ số nghiên cứu so với lô mô hình, bao gồm: cân nặng gan tương đối, hoạt độ transaminase (AST, ALT) trong huyết thanh, nồng độ MDA và GSH trong dịch đồng thể gan, mức độ tổn thương gan trên vi thể. Tác dụng của Bảo đường can PC là tác dụng phụ thuộc liều, cụ thể mức liều 2,76 g/kg thể hiện tác dụng tốt hơn mức liều 0,92 g/kg.

2.2. Nghiên cứu tác dụng bảo vệ tế bào gan của Bảo đường can PC trên mô hình chuột nhắt trắng gây viêm gan do ethanol

- Bảo đường can PC liều 2,76 g/kg/ngày có tác dụng bảo vệ tế bào gan thông qua làm giảm cân nặng gan tương đối; giảm hoạt độ AST, ALT, GGT; giảm nồng độ MDA, tăng nồng độ GSH tại gan có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình và cải thiện cấu trúc vi thể gan của chuột nhắt trắng gây tổn thương gan do ethanol.

- Bảo đường can PC liều 0,92 g/kg/ngày có xu hướng tác dụng bảo vệ tế bào gan trên mô hình gây tổn thương gan do ethanol.

KIẾN NGHỊ

Từ các kết quả nghiên cứu về độc tính cấp và tác dụng bảo vệ tế bào gan của Bảo đường can PC trên thực nghiệm, chúng tôi đề xuất một số kiến nghị sau:

- Đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào gan của Bảo đường can PC trên một số mô hình thực nghiệm khác.
- Kiến nghị thử nghiệm Bảo đường can PC trên lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Ngọc Lanh, Văn Đình Hoa, Phan Thị Thu Anh và các cộng sự (2019). Sinh lý bệnh học, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 209-229, 390-409.
2. Vũ Bằng Đình, Đặng Kim Thanh (2005). Viêm gan virus và những hậu quả, Nhà xuất bản Y học, 382 - 400.
3. Bộ môn Hóa sinh, Trường Đại học Y Hà Nội (2001) “Hóa sinh gan”. Hóa sinh, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 277 – 284.
4. Bộ môn Sinh lý học, Trường Đại học Y Hà Nội (2006). “Các chức năng của gan”. Sinh lý học, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 360 – 363.
5. Nguyễn Văn Hưng và cộng sự (2018). Giải phẫu bệnh học, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 345-363.
6. Các bộ môn nội Trường Đại học Y Hà Nội (2012). Bài giảng bệnh học nội khoa, Nhà xuất bản Y học, Hà nội, tập 2, 63 - 87.
7. A I Cederbaum (2012). "Alcohol metabolism", Clinics in liver disease, 16(4), 667-685.
8. CS Lieber (1990). "Mechanism of ethanol induced hepatic injury", Pharmacology & therapeutics, 46(1), 1-41.
9. R Teschke, (2019). "Microsomal Ethanol-Oxidizing System: Success Over 50 Years and an Encouraging Future", Alcohol Clin Exp Res, 43(3), 386-400.
10. PM Dansette, E Bonierbale, C Minoletti et al (1998). "Drug-induced immunotoxicity", European journal of drug metabolism and pharmacokinetics, 23(4), 443-451.
11. D Larrey (2000). "Drug-induced liver diseases", Journal of hepatology, 32, 77-88

12. WM Lee (2003). "Drug-induced hepatotoxicity", *New England Journal of Medicine*, 349(5), 474-485
13. P Abete, C Napoli, G Santoro et al (1999), "Age-related decrease in cardiac tolerance to oxidative stress", *J Mol Cell Cardiol*, 31(1), 227-236.
14. R D Cristofaro, B Rocca, E Vitacolonna et al (2003). "Lipid and protein oxidation contribute to a prothrombotic state in patients with type 2 diabetes mellitus", *J Thromb Haemost*, 1(2), 250-256.
15. A Pole, M Dimri and G P Dimri (2016). "Oxidative stress, cellular senescence and ageing", *AIMS Molecular Science*, 3(3).
16. K H Cheeseman and T F Slater (1993). "An introduction to free radical biochemistry", *Br Med Bull*, 49(3), 481-493.
17. Nguyễn Thị Hà (1999). Gốc tự do và các chất chống oxy hóa, những vấn đề hóa sinh học hiện đại, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 195-217.
18. Nguyễn Thượng Dong và cộng sự (2006). Phương pháp nghiên cứu tác dụng của thuốc từ dược thảo, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 139- 150, 171-196, 279-286, 311-320.
19. G J Burton and E Jauniaux (2011). "Oxidative stress", *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*, 25(3), 287-299.
20. I S Young and J V Woodside (2001). "Antioxidants in health and disease", *J Clin Pathol*, 54(3), 176-86.
21. V Lobo, A Patil, A Phatak et al (2010). "Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health", *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118.
22. Nguyễn Sào Trung và cộng sự (2015). Bài giảng lý thuyết giải phẫu bệnh, Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch TP Hồ Chí Minh, 175-193, 271-282.
23. D Li and S L Friedman (1999). "Liver fibrogenesis and the role of hepatic stellate cells: new insights and prospects for therapy", *Journal of gastroenterology and hepatology*, 14(7), 618-633.

24. S Lotersztajn, B Julien, F Teixeira-Clerc et al (2005), "Hepatic fibrosis: molecular mechanisms and drug targets", *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 45, 605-628.
25. Lê Xuân Trường (2015). *Hóa sinh lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học, Thành phố Hồ Chí Minh, 105-141.
26. Nguyễn Lâm Việt, Ngô Quý Châu, Nguyễn Đạt Anh và cộng sự (2018). *Bệnh học nội khoa*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tập 2, 9-17.
27. Y Yu, Y Mao, C Chen et al (2017). "CSH guidelines for the diagnosis and treatment of drug-induced liver injury", *Hepatology international*, 11(3), 221-241.
28. Bộ Y Tế (2019), *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh viêm gan virus B*, Quyết định số 3310/QĐ-BYT ngày 29/7/2019 của Bộ trưởng Bộ Y tế.
29. Bộ Y Tế (2016), *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh viêm gan virus C*, Quyết định số 5012/QĐ-BYT ngày 20/09/2016 của Bộ trưởng Bộ Y tế.
30. Tuệ Tĩnh (1993), *Nam dược thần hiệu*, Nhà xuất bản Y học, 161 - 163.
31. Khoa Y học cổ truyền- Đại học Y Hà Nội (2005), *Bài giảng Y học cổ truyền tập II*, Trường Đại học Y Hà Nội, tr 218-225.
32. Khoa Y học cổ truyền- Đại học Y Hà Nội (2006), *Chuyên đề Nội khoa Y học cổ truyền*, Trường Đại học Y Hà Nội, tr 115-120.
33. Viện nghiên cứu y học dân tộc Thượng Hải (1993), "*Chữa bệnh nội khoa bằng YHCT Trung Quốc*", Nhà xuất bản Thanh Hóa, tr 47-52
34. Delgado-Montemayor C., Cordero-Pérez P., Salazar-Aranda R., & WaksmanMinsky N. (2015), "Models of hepatoprotective activity assessment", *Medicina universitaria*, 17(69), 222-228.
35. Kumar A., K Susmitha, Swathy B., Ramu E., & Venkatesh B. (2014), "A review on liver disorders and screening models of hepatoprotective agents", *Int J Allied Med Sci Clin Res*, 2, 136-150

36. Krithika R., Mohankumar R., Verma R. J., et al. (2009), "Isolation, characterization and antioxidative effect of phyllanthin against CCl₄-induced toxicity in HepG2 cell line", *Chemico-biological interactions*, 181(3), 351- 358
37. Thiesen L. C., Silva L. M. D., Santin J. R., et al. (2017), "Hepatoprotective effect of *Maytenus robusta* Reiss extract on CCl₄-induced hepatotoxicity in mice and HepG2 cells.", *Regul Toxicol Pharmacol.*, 86, 93-100.
38. Hart S. N., Li Y., Nakamoto K., et al. (2010), "A comparison of whole genome gene expression profiles of HepaRG cells and HepG2 cells to primary human hepatocytes and human liver tissues", *Drug Metabolism and Disposition*, 38(6), 988-994
39. Olinga P., & Schuppan D. (2013), "Precision-cut liver slices: a tool to model the liver ex vivo", *Journal of hepatology*, 58(6), 1252-1253
40. Gandolfi J. A., Wijeweera J., & Brendel K. (1996), "Use of precision-cut liver slices as an in vitro tool for evaluating liver function", *Toxicol Pathol*, 24 (1), 58-61
41. Iqbal A., Iqbal M. K., & Haque S. E. (2016), "Experimental hepatotoxicity inducing agents: A Review", *IJPR*, 6(11), 325
42. McGill M. R., Sharpe M. R., Williams C. D., et al. (2012), "The mechanism underlying acetaminophen-induced hepatotoxicity in humans and mice involves mitochondrial damage and nuclear DNA fragmentation", *The Journal of clinical investigation*, 122(4), 1574-1583.
43. Simeonova R., Kondeva-Burdina M., Vitcheva V., & Mitcheva M. (2014), "Some in vitro/in vivo chemically-induced experimental models of liver oxidative stress in rats. ", *BioMed Research International*
44. Trần Công Luận, Nguyễn Hoàng Minh, Đào Trần Mộng và cs (2017), Tác dụng bảo vệ tế bào gan của viên nang đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) trên mô hình gây tổn thương gan mạn tính bằng ethanol, *Tạp chí Nghiên cứu khoa học và Phát triển kinh tế Trường Đại học Tây Đô*, 2, 132-140

45. Bộ Y tế (2018), Dược điển Việt Nam I, II, tr. 142
46. Đỗ Tất Lợi (2006). Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Thời Đại.
47. OECD (2001). Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation, acute oral toxicity, Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment No 19.
48. Patricia V Turner, et al. (2011). Administration of Substances to Laboratory Animals: Routes of Administration and Factors to Consider. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 50(5), 600–613.
49. Van den Heuvel (1990). The international validation of a fixed-dose procedure as an alternative to the classical LD50 test. *Chem. Toxicol*, 28:469-482.
50. Hock FJ (2015). *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays*, fourth edition, Springer Reference.
51. Mohamad NE, Yeap SK, Beh BK, et al (2018). Coconut water vinegar ameliorates recovery of acetaminophen induced liver damage in mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(1), 195.
52. Gillessen A and Schmidt HHJ (2020). Silymarin as Supportive Treatment in Liver Diseases: A Narrative Review. *Adv Ther*, 37(4), 1 279-1301.
53. Muhammad-Azam F, Nur-Fazila SH, Ain-Fatin R, et al (2019). Histopathological changes of acetaminophen-induced liver injury and subsequent liver regeneration in BALB/C and ICR mice. *Vet World*, 12(11), 1682-1688.
54. Bruells C.S, Duschner P, Marx G, et al (2021). Acute liver injury following acetaminophen administration does not activate atrophic pathways in the mouse diaphragm. *Sci Rep*, 11, 6302.

55. José Altamirano, Rosa Miquel, Aezam Katoonizadeh et al (2014), A histologic scoring system for prognosis of patients with alcoholic hepatitis, *Gastroenterology*, 146, 1231-1239.
56. World Health Organization (2000). *Working group on the safety and efficacy of herbal medicine*, Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization.
57. Đỗ Trung Đàm (2015). *Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc*, Nhà xuất bản Y học, 101-112.
58. M T Bility, L Cheng, Z Zhang et al (2014). "Hepatitis B virus infection and immunopathogenesis in a humanized mouse model: induction of human-specific liver fibrosis and M2-like macrophages", *PLoS Pathog*, 10(3), 1-14.
59. K D Bissig, S F Wieland, Phu Tran et al (2010). "Human liver chimeric mice provide a model for hepatitis B and C virus infection and treatment", *The Journal of clinical investigation*, 120(3), 924-930.
60. M L Washburn, M T Bility, L Zhang et al (2011). "A humanized mouse model to study hepatitis C virus infection, immune response, and liver disease", *Gastroenterology*, 140(4),1334-1344.
61. N Fausto (2001). "A mouse model for hepatitis C virus infection", *Nat Med*, 7(8), 890-891.
62. K Giersch, M Helbig, T Volz et al (2014). "Persistent hepatitis D virus mono-infection in humanized mice is efficiently converted by hepatitis B virus to a productive co-infection", *J Hepatol*, 60(3), 538-544.
63. E Thomas and T J Liang (2016). "Experimental models of hepatitis B and C—new insights and progress", *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 13(6), 362-374.

64. Y Mahmoodzadeh, M Mazani and L Rezagholizadeh (2017). "Hepatoprotective effect of methanolic *Tanacetum parthenium* extract on CCl₄-induced liver damage in rats", *Toxicology reports*, 4, 455-462.
65. M D Shah, U J A D'Souza and M Iqbal (2017). "The potential protective effect of *Commelina nudiflora* L. against carbon tetrachloride (CCl₄)- induced hepatotoxicity in rats, mediated by suppression of oxidative stress and inflammation", *Environ Health Prev Med*, 22(1), 66-85.
66. Z Li, H Feng, Y Wang et al (2019). "Rosmarinic acid protects mice from lipopolysaccharide/d-galactosamine-induced acute liver injury by inhibiting MAPKs/NF-kappaB and activating Nrf2/HO-1 signaling pathways", *Int Immunopharmacol*, 67, 465-472.
67. S Venkateswaran, L Pari, P Viswanathan et al (1997). "Protective effect of Livex, a herbal formulation against erythromycin estolate induced hepatotoxicity in rats", *J Ethnopharmacol*, 57(3), 161-167.
68. L Pari and P Murugan (2004). "Protective role of tetrahydrocurcumin against erythromycin estolate-induced hepatotoxicity", *Pharmacological research*, 49(5), 481-486.
69. A Jha, R Krithika, D Manjeet et al (2013). "Protective effect of black tea infusion on aflatoxin-induced hepatotoxicity in mice", *Journal of clinical and experimental hepatology*, 3(1), 29-36.
70. T Marchyshak, T Yakovenko, I Shmarakov et al (2018). "The potential protective effect of oligoribonucleotides-d-mannitol complexes against thioacetamide-induced hepatotoxicity in mice", *Pharmaceuticals*, 11(3), 77-91.
71. T M Rahman and H J F Hodgson (2000). "Animal models of acute hepatic failure", *International journal of experimental pathology*, 81(2), 145-157.
72. Đào Văn Phan (2018). Dược lý học, Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam, 141-159, 353-354, 447-454.

73. G Ostapowicz, R J Fontana, F V Schiody et al (2002). "Results of a prospective study of acute liver failure at 17 tertiary care centers in the United States", *Ann Intern Med*, 137(12), 947-954.
74. P Ichaï and D Samuel (2011). "Epidemiology of liver failure", *Clinics and research in hepatology and gastroenterology*, 35(10), 610-617.
75. G Sener, H Z Toklu, A O Sehirli et al (2006). "Protective effects of resveratrol against acetaminophen-induced toxicity in mice", *Hepatol Res*, 35(1), 62-68.
76. S U Ruepp, R P Tonge, J Shaw et al (2002). "Genomics and proteomics analysis of acetaminophen toxicity in mouse liver", *Toxicological sciences*, 65(1), 135-150.
77. 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.
78. P Muriel, T Garciapina, V P Alvarez et al (1992). "Silymarin protects against paracetamol-induced lipid peroxidation and liver damage", *J Appl Toxicol*, 12(6), 439-442.
79. P Muriel and M Mourelle (1990). "Prevention by silymarin of membrane alterations in acute CCl₄ liver damage", *J Appl Toxicol*, 10(4), 275-279.
80. H Farghali, L Kamenikova, S Hynie et al (2000). "Silymarin effects on intracellular calcium and cytotoxicity: a study in perfused rat hepatocytes after oxidative stress injury", *Pharmacol Res*, 41(2), 231-237.
81. M P Miguez, I Anundi et al (1994). "Hepatoprotective mechanism of silymarin: no evidence for involvement of cytochrome P450 2E1", *Chem Biol Interact*, 91(1), 51-63.
82. E Bosisio, C Benelli and O Pirola (1992). "Effect of the flavanolignans of *Silybum marianum* L. on lipid peroxidation in rat liver microsomes and freshly isolated hepatocytes", *Pharmacol Res*, 25(2), 147-154.

83. K M Juma'a, S A Hussain, I T Numan et al (2009). "Dose-dependent Anti-inflammatory Effect of Silymarin in Experimental Animal Model of Acute Inflammation", Iraqi Journal of Pharmaceutical Sciences (P-ISSN: 1683- 3597, E-ISSN: 2521-3512), 18(Suppl.), 14-18.
84. Asrani SK, Devarbhavi H, Eaton J, et al (2019). Burden of liver diseases in the world. *Journal of hepatology*. 70(1), 151-71.
85. Trần Công Luận, Nguyễn Hoàng Minh, Đào Trần Mộng và cs (2017). Tác dụng bảo vệ tế bào gan của viên nang đĩnh lăng (*Polyscias fruticosa (L.) Harms*) trên mô hình gây tổn thương gan mạn tính bằng ethanol. Tạp chí Nghiên cứu khoa học và Phát triển kinh tế Trường Đại học Tây Đô, tập 2,132-140.
86. Ambade A, Mandrekar P. Oxidative stress and inflammation(2012): essential partners in alcoholic liver disease. *International journal of hepatology*. 853175.
87. Sakaguchi S, Takahashi S, Sasaki T, et al (2011). Progression of alcoholic and non-alcoholic steatohepatitis: common metabolic aspects of innate immune system and oxidative stress. *Drug metabolism and pharmacokinetics*. 26(1), 30-46.
88. Thai NP, Van Trung L, Hai NK, et al (1998). Protective efficacy of *Solanum hainanense* Hance during hepatotoxicity in male mice with prolonged and small oral doses of trinitrotoluene. *Journal of occupational health*. 40(4), 276-280.
89. Nguyen QV, Eun JB (2011). Antioxidant activity of solvent extracts from Vietnamese medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(13), 2798-811.
90. Geethangili M, Ding ST (2018). A Review of the Phytochemistry and Pharmacology of *Phyllanthus urinaria* L. *Frontiers in pharmacology*. 1109.
91. Nam MK, Choi HR, Cho JS, et al (2014). Hepatoprotective effects of *Gardenia jasminoides* ellis extract in nonalcoholic fatty liver disease induced by a high fat diet in C57BL/6 mice. *Natural Product Sciences*. 20(1), 65-70.

92. Aksu Ö, Altinterim B (2013). Hepatoprotective effects of artichoke (*Cynara scolymus*). *Bilim ve Genclik Dergisi*. 1(2), 44-49.
93. Niu L, Hou Y, Jiang M, et al (2021). The rich pharmacological activities of *Magnolia officinalis* and secondary effects based on significant intestinal contributions. *Journal of Ethnopharmacology*. 281:114524.
94. Diep TT (2004). Study on hepatoprotective effect of an extract from *Plantago asiatica* L. *Journal of Medicinal Materials*. 151-160.
95. Le VTT, Hung DV, Quy BM, et al (2022). Hepatoprotective Effect of *Millettia dielsiana*: In Vitro and In Silico Study. *Molecules*. 27(24).

Phụ lục 1

QUY TRÌNH SẢN XUẤT TÓM TẮT VIÊN NÉN BẢO ĐƯỜNG CAN PC

I. THÀNH PHẦN, ĐẶC ĐIỂM NGUYÊN LIỆU VÀ CÔNG THỨC SẢN XUẤT

Thành phần	Tên khoa học	Hàm lượng (miligam)	Tiêu chuẩn
Cà gai leo	<i>Herba Solani procumbensis</i>	2625	Đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam xuất bản lần thứ 5 [45].
Diệp hạ châu	<i>Herba Phyllanthi urinariae</i>	1500	
Hoàng đằng	<i>Caulis et Radix Fibraureae</i>	500	
Chi tử	<i>Gardenia jasminoides Ellis</i>	485	
Nhân trần	<i>Adenosma caeruleum R. Br.</i>	333	
Actiso	<i>Folium Cynarae scolymir</i>	250	
Hậu phác nam	<i>Cortex Magnoliae officinalis</i>	120	
Xa tiền	<i>Semen Plantaginis</i>	110	
Xuyên khung	<i>Rhizoma Ligustici watliehii</i>	110	
Kê huyết đằng	<i>Spatholobus harmandii Gagnep.</i>	100	
Nam mộc hương	<i>Saussurea lappa Clarke</i>	100	
Sài hồ nam	<i>Bupleurum chinense DC</i>	90	
Hoàng lục	<i>Zanthoxylum nitidum (Roxb.) DC</i>	70	

Tất cả các nguyên liệu được kiểm tra tại phòng kiểm nghiệm của công ty theo tiêu chuẩn của dược điển Việt Nam V. Yêu cầu phải đạt trước khi đưa vào sản xuất.

Ngày 6 viên, chia 2-3 lần (trương đương 38,4 g dược liệu)

II. XỬ LÝ NGUYÊN LIỆU:

1. Bào chế, chế biến:

Các nguyên liệu dược liệu được xử lý, chế biến theo dược điển Việt Nam V.

2. Chiết xuất cao đặc:

2.1. Phương pháp chiết xuất

Phương pháp chiết nước

2.2. Điều kiện chiết xuất

Số lần chiết: 2

Tỉ lệ dung môi: dược liệu = 7:1

Nhiệt độ chiết: 100°C

Thời gian chiết: 3h cho lần 1 và 2h cho lần 2

Để lắng và lọc trước khi cô cao

2.3. Cô cao

Phương pháp cô: cô hử, áp suất thường

Nhiệt độ cô: 100°C

Độ ẩm cao: cô về cao có độ ẩm 15 – 20%

3. Làm cao khô

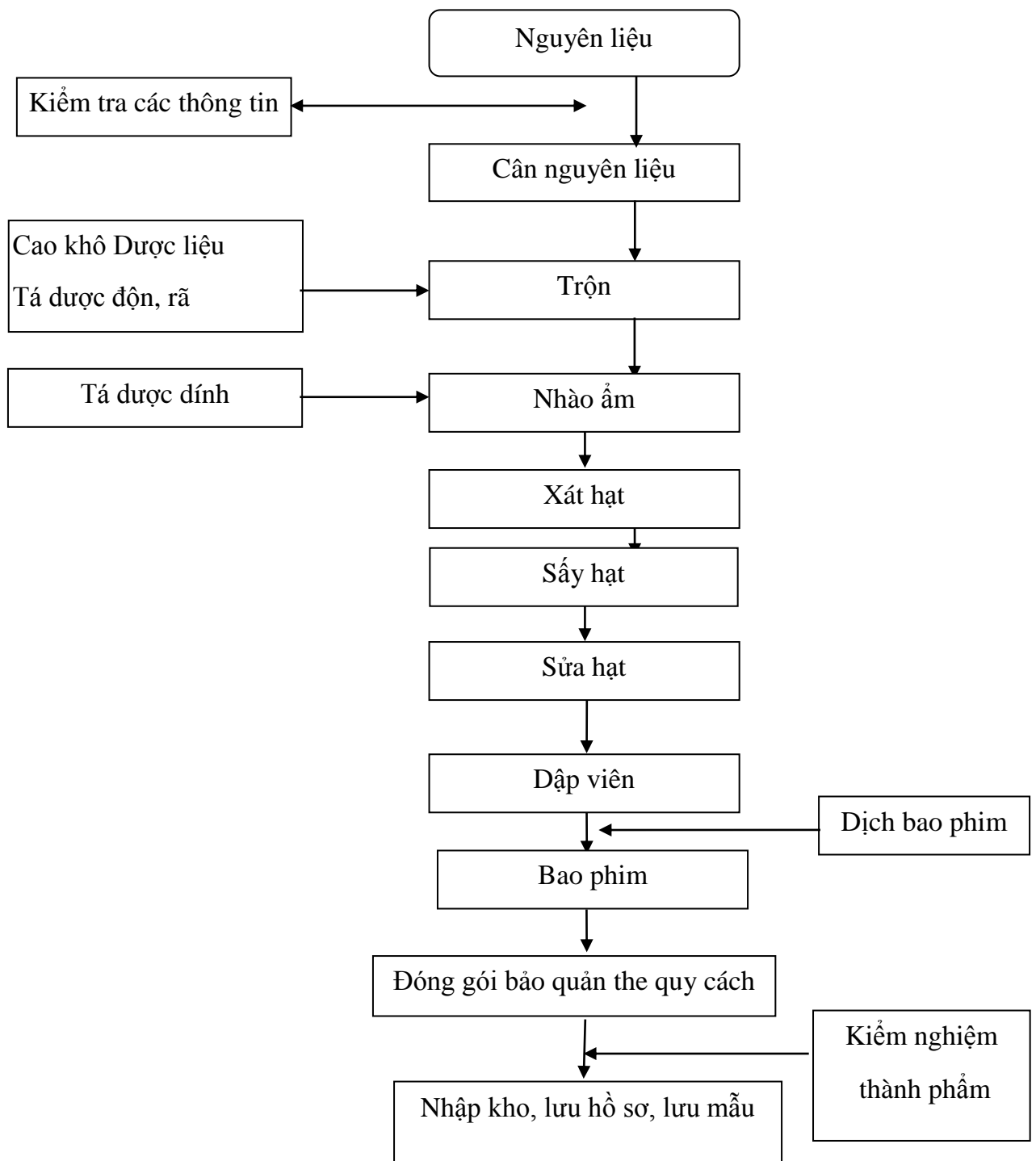
Cao đặc còn nóng được đổ mỏng ra khay lót nilon chống dính.

Sấy ở 80°C đến khô (khoảng 50-60h); cao khô độ ẩm \leq 2%.

Bánh cao khô được bẻ vỡ rồi nghiền thành bột mịn.

Tỉ lệ cao khô thu được đạt 8,5% so với dược liệu.

III. QUY TRÌNH BÀO CHẾ VIÊN NÉN BẢO ĐƯỜNG CAN PC



BẢN SAO

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

BỘ MÔN DƯỢC LÝ

Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

GIẤY XÁC NHẬN

V/v: Nghiên cứu tiền lâm sàng

Kính gửi: Công ty TNHH Đông Nam Dược Bảo Đường Can PC

Qua thời gian nghiên cứu tiền lâm sàng 01 sản phẩm của Công ty, thời gian tiến hành từ tháng 4 – 6/2024:

Sản phẩm nghiên cứu: Viên nén Bảo đường can PC

Nghiên cứu được tiến hành tại Bộ môn Dược lý – Trường Đại học Y Hà Nội, chúng tôi đã tiến hành các nghiên cứu sau với Viên nén Bảo đường can PC bao gồm:

- Độc tính cấp trên động vật thực nghiệm
- Tác dụng bảo vệ gan trên mô hình tổn thương gan thực nghiệm bằng paracetamol và ethanol.

Hà Nội, ngày 14 tháng 6 năm 2024

Trường Đại học Y Hà Nội xác nhận chữ ký của

TS.BS Trần Thanh Tùng là đúng

TL.Hiệu trưởng

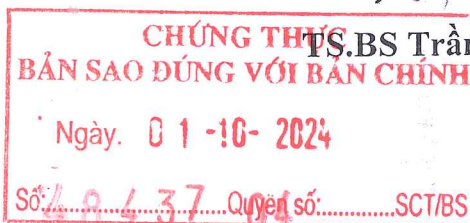
Phó trưởng phòng Tổ chức cán bộ

PHÓ TRƯỞNG BỘ MÔN DƯỢC LÝ

(Ký, ghi rõ họ tên)



Bùi Thị Huyền Ngân



TS.BS Trần Thanh Tùng



CÔNG CHỨNG VIÊN
Bùi Thị Thanh Lâm

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI
BỘ MÔN DƯỢC LÝ

BẢN SAO



**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ
TÁC DỤNG BẢO VỆ GAN CỦA VIÊN NÉN
BẢO ĐƯỜNG CAN PC TRÊN MÔ HÌNH GÂY
TỔN THƯƠNG GAN TRÊN THỰC NGHIỆM**

Nơi tiến hành nghiên cứu: Bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội

Thời gian nghiên cứu: 4/2024 - 6/2024

Nhóm nghiên cứu:

1. TS. Trần Thanh Tùng
2. TS. Trần Đức Hữu
3. TS. Mai Phương Thanh
4. TS. Nguyễn Thị Thanh Loan
5. BS. Nguyễn Thị Ngọc Ánh

Hà Nội, 2024

1. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1.1. Đối tượng nghiên cứu

1.1.1. Sản phẩm nghiên cứu

- Sản phẩm nghiên cứu: Viên nén Bảo đường can PC được sản xuất bởi Công ty TNHH Bách Thảo Dược. Công ty chịu trách nhiệm sản phẩm: Công ty TNHH Đông Nam Dược Bảo Đường Can PC. Lọ 60 viên. Số ĐKSP: 1007/2022/ĐKSP. Sản phẩm nghiên cứu đạt tiêu chuẩn cơ sở.

- Thành phần: Trong mỗi viên có chứa 639,3 mg cao khô chiết xuất từ hỗn hợp thảo mộc:

Cà gai leo	2625 mg	Hậu phác nam	120 mg
Diệp hạ châu	1500 mg	Xa tiền	110 mg
Hoàng đằng	500 mg	Xuyên khung	110 mg
Chi tử	485 mg	Kê huyết đằng	100 mg
Nhân trần	333 mg	Nam mộc hương	100 mg
Actiso	250 mg	Sài hồ nam	90 mg
		Hoàng lực	70 mg

Phụ liệu:

+ Chất chống đông vón: magnesium stearat, bột talc, calcium carbonat;
Chất ổn định: polyvinyl pyrrolidon (PVP K30);

+ Chất làm dày: hydroxypropyl methyl cellulose; Chất làm bóng: polyethylen glycol 6000; Phẩm màu: titanium dioxit, brown HT, iron oxid black;

+ Chất bảo quản: sodium benzoat; Chất độn: microcrystallin cellulose.

- Bảo quản thuốc nơi khô ráo, tránh ánh sáng mặt trời trực tiếp, nhiệt độ $\leq 30^{\circ}\text{C}$. Số lô sản xuất: 012023. Ngày sản xuất: 27/04/2023. Hạn sử dụng: 27/04/2026.

- Trẻ em trên 12 tuổi và người lớn uống mỗi lần 3 viên, 2 lần/ngày.

- Chuẩn bị mẫu thử trong nghiên cứu độc tính cấp: Hoà tan 13 viên nén trong nước cất đến vừa đủ 25 ml. Dung dịch này dùng trong nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD_{50} của viên nén Bảo đường can PC.

1.1.2. Hoá chất, dụng cụ và máy móc phục vụ nghiên cứu

Hoá chất phục vụ nghiên cứu

- Silymarin viên nang 54,1 mg, biệt dược Legalon[®] 70 Protect MADAUS (MADAUS GmbH - Đức). Hạn sử dụng: 31/7/2026. Số lô sản xuất: 32103013.

- Cồn ethanol 70o của Công ty TNHH hoá chất và trang thiết bị Y tế Thuận Phát. Ngày sản xuất: 22/02/2022. Hạn sử dụng: 5 năm kể từ ngày sản xuất.

- Nước muối sinh lý Braun.

- Kit định lượng các enzym và chất chuyển hoá trong máu: ALT (alanin aminotransferase); AST (aspartat aminotransferase); GGT, bilirubin toàn phần; albumin của hãng Erba, định lượng trên máy sinh hóa bán tự động Erba của Ấn Độ.

- 5,5-Dithiol-bis(2-nitrobenzoic acid) (Sigma Aldrich, Germany).

- Acid thiobarbituric (Sigma Aldrich, Germany).

- Các hóa chất làm tiêu bản mô bệnh học đạt tiêu chuẩn thí nghiệm do Khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện E cung cấp.

Dụng cụ, máy móc phục vụ nghiên cứu

- Bộ dụng cụ phẫu thuật.

- Cân phân tích LX 220A của hãng Precisa (Thụy Sĩ).

- Micropipet của hãng Eppendorf (Đức).

- Máy ly tâm Eba 20 của hãng Hettich (Đức).

- Máy sinh hoá bán tự động Erba Chem 5x Semi Auto Biochemistry Analyser (Đức).

- Máy HumanReader HS, Đức.

- Máy ly tâm Himac CT6e của hãng Himac, Nhật Bản.

- Kim đầu tù cho chuột uống.

- Cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1ml.

1.1.3. Động vật thực nghiệm

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss*, cả hai giống, khoẻ mạnh, cân nặng 25-30g do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Động vật thí nghiệm được nuôi trong điều kiện nhiệt độ duy trì $25 \pm 1^\circ\text{C}$, độ ẩm không khí và ánh sáng thích hợp. Động vật thí nghiệm được nuôi bằng thức ăn tiêu chuẩn dành riêng cho chuột nhắt và được uống nước tự do theo nhu cầu tại Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội.

1.2. Phương pháp nghiên cứu

1.2.1. Nghiên cứu độc tính cấp của Bảo đường can PC

Nghiên cứu độc tính cấp của sản phẩm nghiên cứu được tiến hành trên chuột nhắt trắng theo đường uống và xác định LD_{50} theo phương pháp Litchfield-Wilcoxon [1-3].

- Chuột nhắt trắng nhin đoi qua đêm, được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống sản phẩm nghiên cứu với liều tăng dần để xác định liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột (gây chết 0% chuột).

- Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết...) và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống sản phẩm thử. Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD_{50} của sản phẩm thử. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 14 sau khi uống sản phẩm thử.

1.2.2. Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan của Bảo đường can PC trên mô hình chuột nhắt trắng gây viêm gan bằng paracetamol

Phương pháp gây mô hình: Uống paracetamol liều duy nhất 400 mg/kg [4, 5].

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô như sau:

- Lô 1 (chứng sinh học): uống nước cất, 0,2 mL/10 g.
- Lô 2 (mô hình): uống nước cất 0,2 mL/10g + paracetamol 400 mg/kg

- Lô 3 (chứng dương): uống silymarin 140 mg/kg + paracetamol 400 mg/kg

- Lô 4: uống Bảo đường can PC liều 1,44 viên/kg (liều tương đương với liều 6 viên/ngày ở người, hệ số quy đổi 12) + paracetamol 400 mg/kg

- Lô 5: uống Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg (liều tương đương với liều 18 viên/ngày ở người, hệ số quy đổi 12) + paracetamol 400 mg/kg

Chuột được cho uống sản phẩm thử hoặc nước cất liên tục vào các buổi sáng trong 10 ngày. Đến ngày thứ 10, sau khi uống thuốc thử 2 giờ (chuột được nhịn đói 16-18 giờ trước đó), tiến hành gây tổn thương tế bào gan bằng cách cho chuột từ lô 2 đến lô 5 uống paracetamol liều 400 mg/kg liều duy nhất. Các chỉ số nghiên cứu được xác định sau 48 giờ gây độc bằng paracetamol:

- Lấy máu động mạch cảnh chuột để xác định hoạt độ enzym AST, ALT.

- Lấy gan:

+ Cân trọng lượng gan

+ Xác định nồng độ MDA (malonyl dialdehyd), GSH (glutathion) trong dịch đồng thể gan.

+ Quan sát hình ảnh đại thể của gan ở các lô chuột

- Giải phẫu mô bệnh học gan của 30% số chuột mỗi lô. Các xét nghiệm vi thể được thực hiện tại Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện E (do TS. Nguyễn Công Trung đọc kết quả vi thể). Mức độ tổn thương gan trên hình ảnh vi thể được đánh giá dựa theo thang điểm như sau [6]:

điểm 0 = mô học bình thường.

điểm 1 = tổn thương/viêm tế bào gan khu trú nhẹ hoặc thưa thớt.

điểm 2 = tổn thương/viêm tế bào gan vùng 3 (zone 3) đáng chú ý.

điểm 3 = tổn thương/viêm tế bào gan vùng 3 (zone 3) nghiêm trọng.

1.2.3. Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan của Bảo đường can PC trên mô hình chuột nhất trắng gây viêm gan bằng ethanol

Chuột nhất trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (chứng sinh học): uống nước cất, thể tích 20 ml/kg/ngày
- Lô 2 (mô hình): uống ethanol + uống nước cất thể tích 20 ml/kg/ngày
- Lô 3 (chứng dương): uống ethanol + uống silymarin liều 70 mg/kg/ngày

- Lô 4: uống ethanol + uống Bảo đường can PC liều 1,44 viên/kg/ngày
(liều tương đương với liều 6 viên/ngày ở người, hệ số quy đổi 12)

- Lô 5: uống ethanol + uống Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg/ngày
(liều tương đương với liều 18 viên/ngày ở người, hệ số quy đổi 12)

Chuột từ lô 2 đến lô 5 được uống ethanol hàng ngày theo nồng độ tăng dần từng tuần (10%, 20%, 30%, 40%) với thể tích cho uống là 10 ml/kg cân nặng chuột. Một giờ sau khi uống ethanol, chuột được uống nước cất/Bảo đường can PC hoặc chứng dương tương ứng theo từng lô. Chuột được uống ethanol và nước cất/Bảo đường can PC/chứng dương liên tục trong 4 tuần. Chuột lô 1 được uống nước cất, thể tích 20 ml/kg/ngày [7].

Tại thời điểm kết thúc nghiên cứu, lấy máu động mạch cảnh ở tất cả các lô chuột để xác định các chỉ số sinh hoá. Lấy gan để cân trọng lượng, làm xét nghiệm mô bệnh học và định lượng nồng độ malondialdehyd (MDA) và glutathion (GSH) trong gan.

Các chỉ số đánh giá:

- Cân nặng của chuột được xác định tại thời điểm trước nghiên cứu, sau 2 tuần và 4 tuần gây mô hình và uống sản phẩm nghiên cứu.

- Xét nghiệm hoạt độ AST, ALT, GGT, nồng độ albumin và bilirubin toàn phần trong máu chuột nhất trắng.

- Định lượng nồng độ MDA (malonyl dialdehyd), GSH (glutathion) trong dịch đồng thể gan chuột nhất trắng [8],[9].

- Giải phẫu mô bệnh học gan của 30% số chuột mỗi lô. Các xét nghiệm vi thể được thực hiện tại Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện E (do TS. Nguyễn Công Trung đọc kết quả vi thể).

1.3. Phân tích và xử lý số liệu

Phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng SigmaPlot 12.0 (SYSTAT Software Inc, Richmond, CA, USA). Kết quả được biểu thị dưới dạng giá trị trung bình \pm SD. Sự khác biệt giữa các nhóm được đánh giá bằng phương pháp phân tích phương sai một yếu tố (ONE WAY ANOVA) sau đó sử dụng test hậu kiểm Student-Newman-Keuls để so sánh từng cặp.

Các số liệu trong nghiên cứu độc tính cấp được xử lý thống kê theo phương pháp xác định LD₅₀ theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon.

Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

2.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của Bảo đường can PC trên thực nghiệm

Chuột nhắt trắng được uống Bảo đường can PC từ liều thấp nhất đến liều cao nhất với thể tích 25 ml/kg/lần, 3 lần trong 24 giờ. Theo dõi thấy chuột uống Bảo đường can PC ở các mức liều không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau khi uống sản phẩm nghiên cứu.

Bảng 1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp theo liều của Bảo đường can PC

Lô chuột	n	Chế độ liều (viên/kg)	Số lượng chuột chết	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	13 viên/kg	0	Không
Lô 2	10	26 viên/kg	0	Không
Lô 3	10	39 viên/kg	0	Không

Kết quả Bảng 1 cho thấy: các lô chuột uống liều từ 13 viên/kg đến liều tối đa 39 viên/kg không có biểu hiện độc tính cấp. Từ Bảng 1 tính được liều dung nạp tối đa (luôn nhỏ hơn liều chết 50%) của Bảo đường can PC cao gấp 27,1 lần liều dùng dự kiến trên người (*tính người lớn trưởng thành 50 kg, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt 12, liều dự kiến trên người là 6 viên/ngày*).

2.2. Tác dụng bảo vệ gan của Bảo đường can PC trên mô hình chuột nhất trắng gây tổn thương gan bằng paracetamol

Bảng 2. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến trọng lượng gan chuột

Lô nghiên cứu	Cân nặng gan tương đối (g/10g thể trọng)
Chứng sinh học	0,47 ± 0,07*
Mô hình	0,76 ± 0,15
Silymarin	0,65 ± 0,10
Bảo đường can PC liều 1,44 viên/kg	0,71 ± 0,11
Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg	0,64 ± 0,09*

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: so với lô mô hình

Kết quả nghiên cứu ở Bảng 2 cho thấy, trọng lượng gan chuột ở lô mô hình tăng cao đáng kể so với lô chứng sinh học (p<0,05). Trọng lượng gan chuột ở các lô uống silymarin và Bảo đường can PC có xu hướng giảm so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được quan sát thấy ở lô uống thuốc thử liều cao (p<0,05).

Bảng 3. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến mức độ huỷ hoại tế bào gan

Lô nghiên cứu	AST (UI/L)	ALT (UI/L)
Chứng sinh học	141,36 ± 36,60***	60,55 ± 19,15***
Mô hình	578,86 ± 151,21	401,71 ± 126,42
Silymarin	405,33 ± 102,03*	302,33 ± 81,69
Bảo đường can PC liều 1,44 viên/kg	415,00 ± 135,14* [#]	393,75 ± 90,41 ^{##}
Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg	263,00 ± 69,43***	243,50 ± 79,52*

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: so với lô mô hình

[#]p<0,05; ^{##}p<0,01; ^{###}p<0,001: so với lô uống Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg/ngày

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy:

- Lô mô hình: hoạt độ các enzym gan tăng cao rõ rệt so với lô chứng sinh học ($p < 0,001$).

- Lô uống silymarin: hoạt độ các enzym gan có xu hướng giảm so với lô mô hình, trong đó hoạt độ AST giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

- Lô uống Bảo đường can PC:

+ Liều cao: hoạt độ AST, ALT đều giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với giá trị $p < 0,001$ và $0,05$, tương ứng.

+ Liều thấp: hoạt độ transaminase có xu hướng giảm so với lô mô hình, trong đó hoạt độ AST giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

+ Bảo đường can PC liều $4,32$ viên/kg thể hiện tác dụng hạ transaminase tốt hơn liều $1,44$ viên/kg.

Bảng 4. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến nồng độ MDA trong gan

Lô nghiên cứu	MDA (nmol/100 mg gan)
Chứng sinh học	$33,79 \pm 4,84^*$
Mô hình	$40,07 \pm 6,84$
Silymarin	$32,04 \pm 6,16^*$
Bảo đường can PC liều $1,44$ viên/kg	$31,99 \pm 5,10^*$
Bảo đường can PC liều $4,32$ viên/kg	$30,75 \pm 5,64^{**}$

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: so với lô mô hình

Số liệu ở Bảng 4 cho thấy, nồng độ MDA tăng cao rõ rệt ở lô mô hình so với lô chứng sinh học ($p < 0,05$). Silymarin và Bảo đường can PC ở cả 2 mức liều nghiên cứu đều làm giảm đáng kể nồng độ MDA so với lô mô hình ($p < 0,05$ hoặc $0,01$). Không có sự khác biệt khi so sánh nồng độ MDA trong dịch đồng thể gan giữa hai lô uống Bảo đường can PC ($p > 0,05$).

**Bảng 5. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến
nồng độ glutathion trong gan**

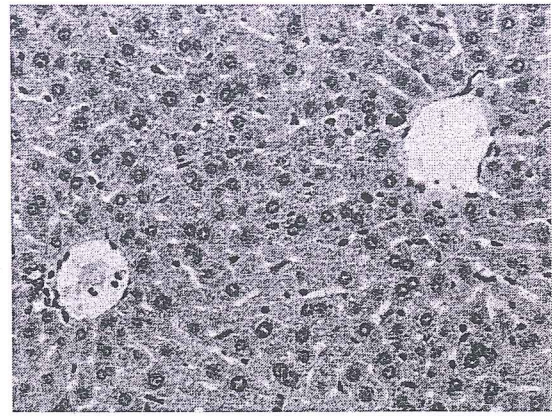
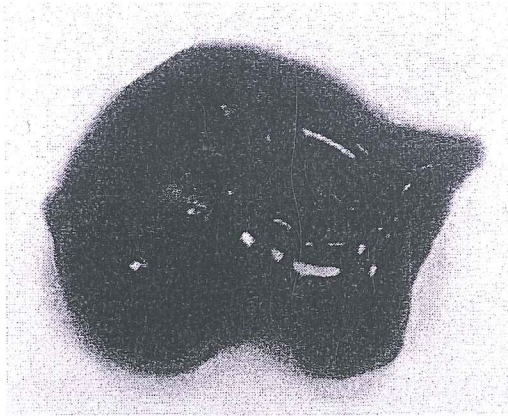
Lô nghiên cứu	GSH ($\mu\text{g}/100 \text{ mg gan}$)
Chứng sinh học	1072,79 \pm 119,36**
Mô hình	818,46 \pm 161,90
Silymarin	894,80 \pm 258,02
Bảo đường can PC liều 1,44 viên/kg	982,72 \pm 196,26
Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg	962,27 \pm 116,41

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: so với lô mô hình

Kết quả ở Bảng 5 cho thấy, Bảo đường can PC ở cả hai mức liều nghiên cứu có xu hướng làm tăng nồng độ GSH trong dịch đồng thể gan, tuy nhiên sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô mô hình (p>0,05).

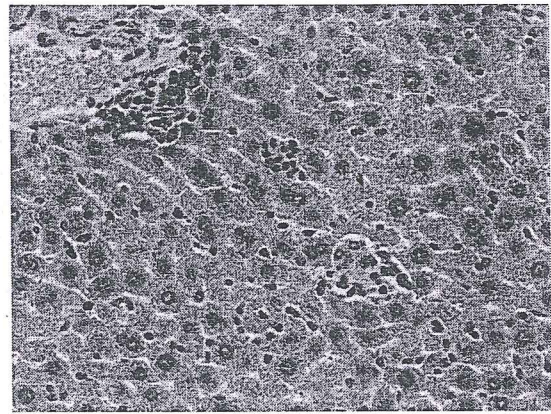
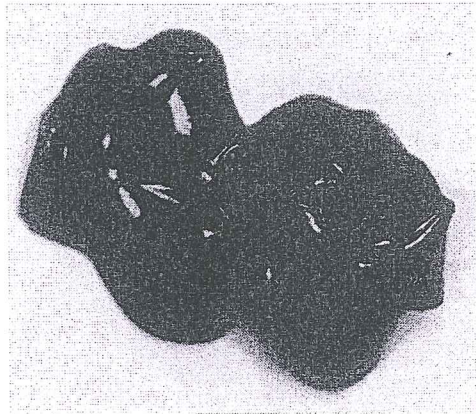
Bảng 6. Điểm tổn thương gan trên hình ảnh vi thể

Lô nghiên cứu	Điểm tổn thương			
	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	Tổng điểm
Chứng sinh học	0	1	1	2
Mô hình	3	3	1	7
Silymarin	1	0	3	4
Bảo đường can PC liều thấp	0	3	3	6
Bảo đường can PC liều cao	1	0	2	3



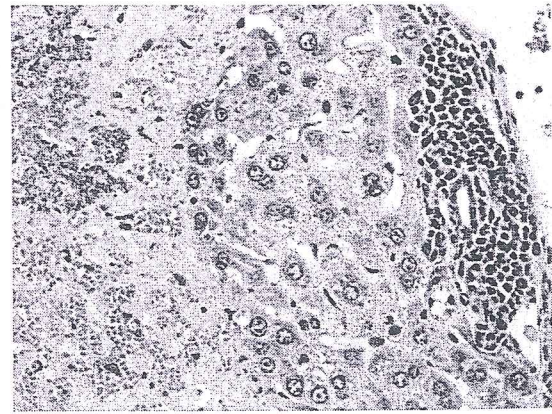
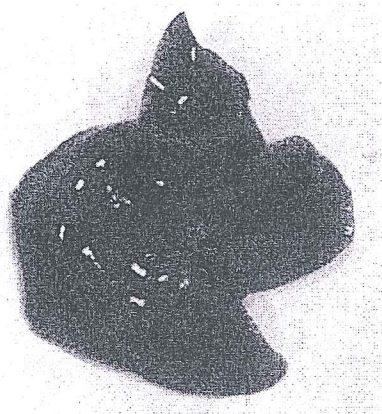
Hình 1. Hình ảnh gan lô chứng sinh học (#BVG01) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy ứ mật (Điểm 0)



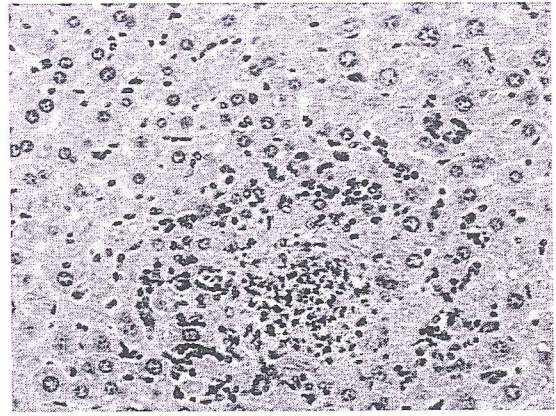
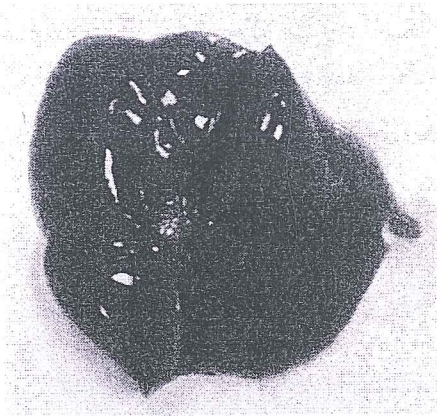
Hình 2. Hình ảnh vi thể gan lô chứng sinh học (#BVG02) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy ứ mật (Điểm 1)



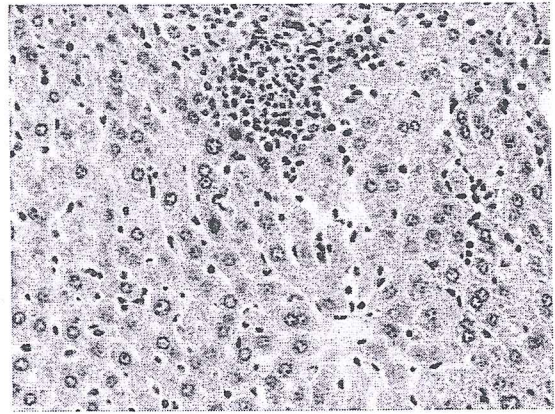
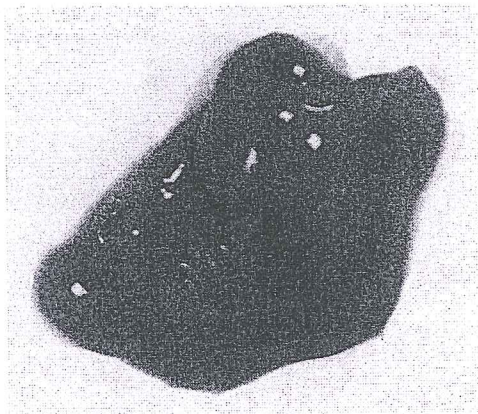
Hình 3. Hình ảnh gan lô mô hình (#BVG18) (HE × 400)

Mô gan hoại tử lan rộng chiếm 60% diện tích, nhiều ổ viêm khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan, không ứ mật (Điểm 3)



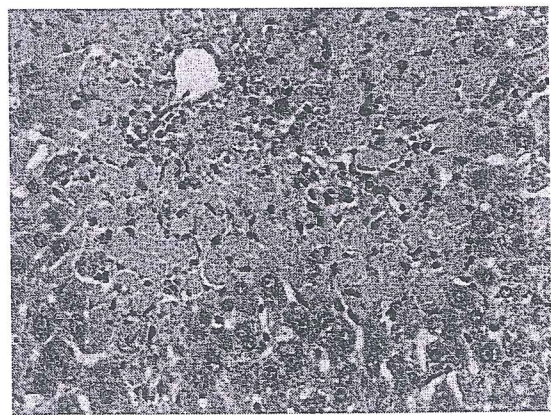
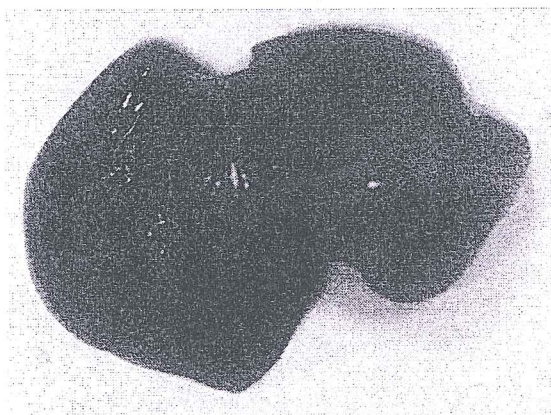
Hình 4. Hình ảnh gan lô mô hình (#BVG22) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan. Không thấy ứ mật (Điểm 1)



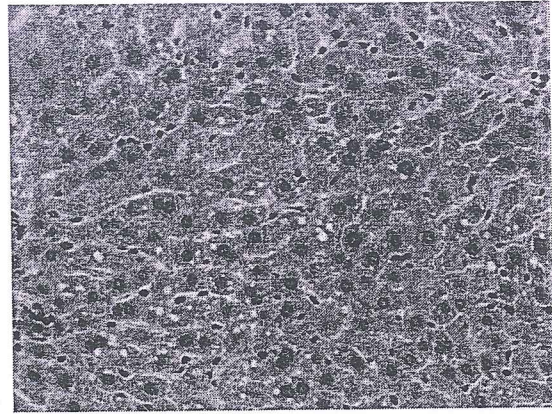
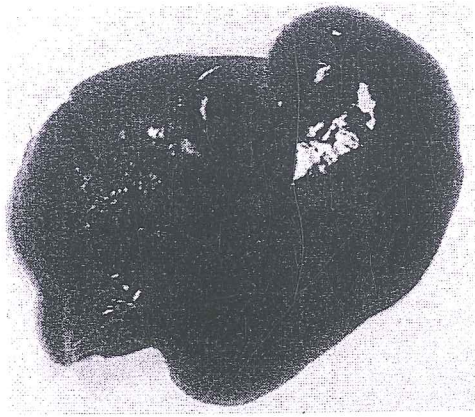
Hình 5. Hình ảnh gan lô silymarin (#BVG23) (HE × 400)

Mô gan có hoại tử viêm khu trú với nhiều bạch cầu đa nhân trung tính, chiếm 2% diện tích gan, hình thái hoại tử không phù hợp hoại tử do thuốc. Có tăng xâm nhập viêm khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy ứ mật hoặc xơ gan (Điểm 1)



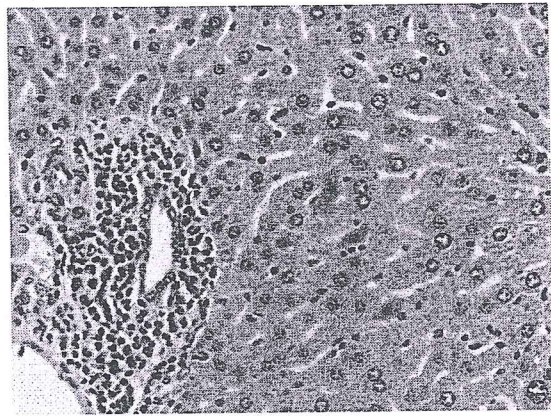
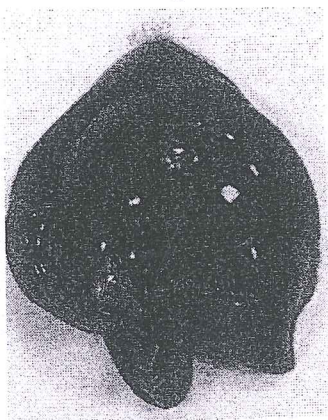
Hình 6. Hình ảnh gan lô uống silymarin (#BVG25) (HE × 400)

Mô gan hoại tử lan rộng chiếm 40% diện tích, nhiều ổ viêm khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan, không ứ mật (Điểm 3)



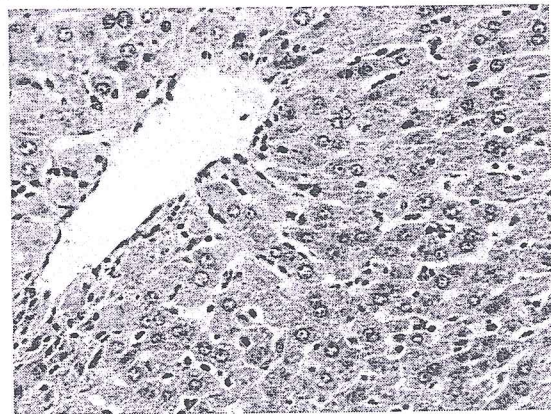
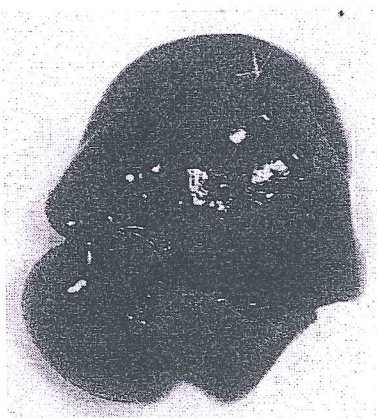
Hình 7. Hình ảnh gan lô uống silymarin (#BVG27) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy ứ mật (Điểm 0)



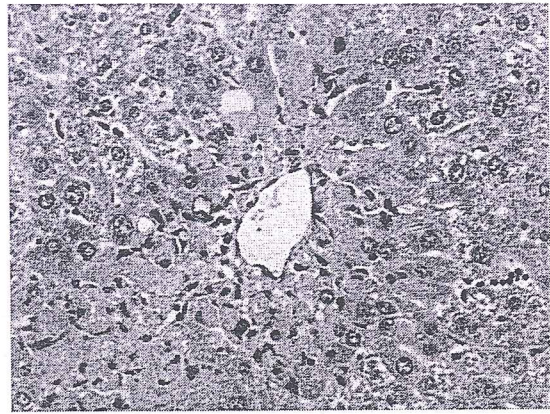
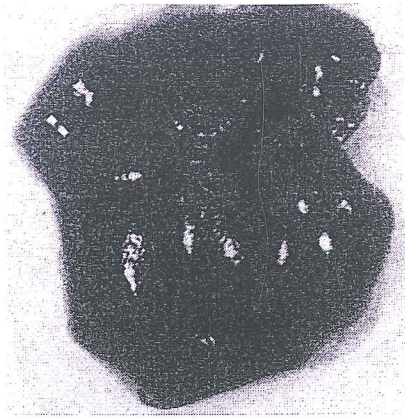
**Hình 8. Hình ảnh gan lô uống Bao đường can PC 4,32 viên/kg (#BVG35)
(HE × 400)**

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy ứ mật (Điểm 1)



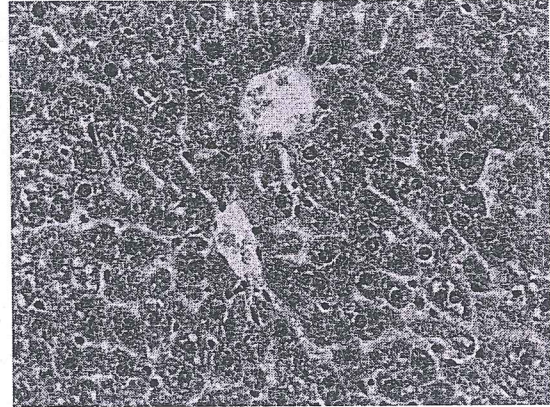
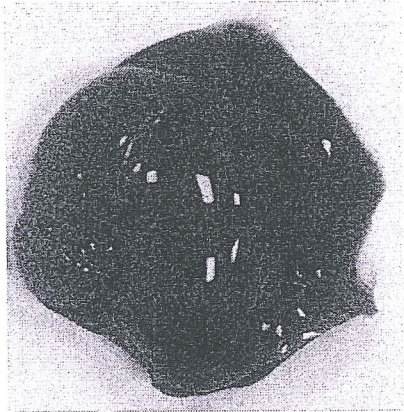
**Hình 9. Hình ảnh gan lô Bao đường can PC 4,32 viên/kg (#BVG37)
(HE × 400)**

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy ứ mật (Điểm 0)



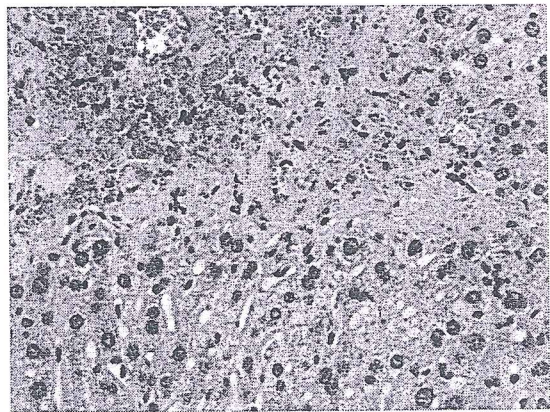
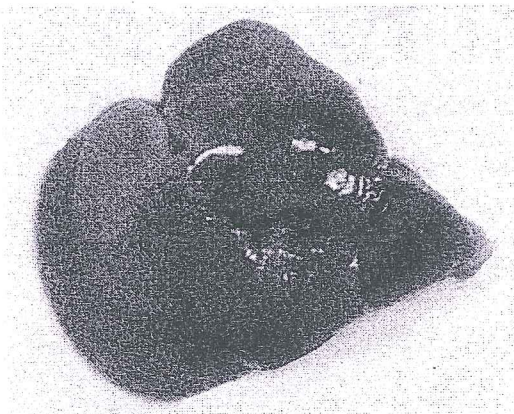
**Hình 10. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 4,32 viên/kg (#BVG39)
(HE × 400)**

Mô gan có hoại tử vùng, chiếm 5% diện tích. Viêm rõ ở khoảng 50% khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy ứ mật hoặc xơ gan (Điểm 2)



**Hình 11. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 1,44 viên/kg (#BVG46)
(HE × 400)**

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy ứ mật (Điểm 0)



**Hình 12. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 1,44 viên/kg (#BVG48)
(HE × 400)**

Mô gan hoại tử lan rộng chiếm 60% diện tích, nhiều ổ viêm khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan, không ứ mật (Điểm 3)

2.3. Tác dụng bảo vệ gan của Bảo đường can PC trên mô hình chuột nhất trắng gây tổn thương gan bằng ethanol

2.3.1. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến cân nặng chuột nhất gây tổn thương gan bằng ethanol

Bảng 7. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC trên cân nặng của chuột nhất trắng tại các thời điểm nghiên cứu

Lô chuột	Cân nặng (gam)		
	Trước nghiên cứu	Sau 2 tuần	Sau 4 tuần
Chứng sinh học	29,20 ± 1,75	38,00 ± 3,50*	44,60 ± 5,38*
Mô hình	27,80 ± 1,81	29,80 ± 5,33	36,50 ± 5,42
Silymarin liều 70 mg/kg/ngày	27,20 ± 2,15	34,80 ± 5,07	42,50 ± 6,57
Bảo đường can PC liều 1,44 viên/kg/ngày	27,70 ± 1,64	32,70 ± 6,36	38,00 ± 6,96
Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg/ngày	28,50 ± 1,78	37,40 ± 6,26*	41,60 ± 7,28

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: so với lô mô hình

Kết quả Bảng 7 cho thấy:

- Tại thời điểm trước khi gây mô hình viêm gan do ethanol, cân nặng chuột không có sự khác biệt giữa các lô nghiên cứu ($p>0,05$). Sau 2 tuần và 4 tuần gây mô hình, cân nặng của chuột lô chứng sinh học tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p<0,05$).

- Tại thời điểm sau 2 tuần gây mô hình, cân nặng chuột của lô uống silymarin liều 70 mg/kg/ngày và lô uống Bảo đường can PC liều 1,44 viên/kg/ngày không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p>0,05$). Cân nặng chuột của lô uống Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg/ngày tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p>0,05$).

- Tại thời điểm sau 4 tuần gây mô hình, cân nặng chuột của lô uống silymarin liều 70 mg/kg/ngày và lô uống Bảo đường can PC liều 1,44 và 4,32 viên/kg/ngày không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p>0,05$).

2.3.2. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến cân nặng gan chuột nhắt trắng gây tổn thương gan bằng ethanol

Bảng 8. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến cân nặng gan của chuột nhắt trắng

Lô chuột	Cân nặng gan tương đối (g/10g thể trọng)
Chứng sinh học	0,31 ± 0,05***
Mô hình	0,50 ± 0,06
Silymarin liều 70 mg/kg/ngày	0,34 ± 0,06***
Bảo đường can PC liều 1,44 viên/kg/ngày	0,45 ± 0,10##
Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg/ngày	0,36 ± 0,05***

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: so với lô mô hình

#p<0,05; ##p<0,01; ###p<0,001: so với lô uống Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg/ngày

Kết quả Bảng 8 cho thấy:

- Tại thời điểm kết thúc nghiên cứu, cân nặng gan tương đối của chuột lô mô hình tăng rõ rệt so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,001$.

- Silymarin liều 70 mg/kg/ngày và Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg/ngày làm giảm có ý nghĩa thống kê trọng lượng gan tương đối của chuột so với lô mô hình ($p<0,001$).

- Bảo đường can PC liều 1,44 viên/kg/ngày có xu hướng làm giảm trọng lượng gan tương đối của chuột so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$).

2.3.3. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến mức độ hủy hoại tế bào gan của chuột nhắt trắng gây tổn thương gan bằng ethanol

Bảng 9. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến hoạt độ AST và ALT trong máu chuột nhắt trắng

Lô chuột	Hoạt độ AST (UI/L)	Hoạt độ ALT (UI/L)
Chứng sinh học	118,80 ± 19,18**	47,60 ± 6,65*
Mô hình	163,00 ± 30,82	60,90 ± 7,84
Silymarin liều 70 mg/kg/ngày	126,40 ± 20,00**	49,60 ± 6,22*
Bảo đường can PC liều 1,44 viên/kg/ngày	141,20 ± 28,46*	52,80 ± 14,63
Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg/ngày	121,60 ± 14,26**	43,90 ± 10,63**

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: so với lô mô hình

#p<0,05; ##p<0,01; ###p<0,001: so với lô uống Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg/ngày

Kết quả Bảng 9 cho thấy:

- Tại thời điểm kết thúc nghiên cứu, xét nghiệm đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan hoạt độ AST và ALT trong máu chuột lô mô hình tăng rõ rệt so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p<0,05.

- Silymarin liều 70 mg/kg/ngày và Bảo đường can PC liều 1,44 viên/kg/ngày và liều 4,32 viên/kg/ngày làm giảm có ý nghĩa thống kê hoạt độ AST trong máu chuột so với lô mô hình (p<0,05).

- Silymarin liều 70 mg/kg/ngày và Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg/ngày làm giảm có ý nghĩa thống kê hoạt độ ALT trong máu chuột so với lô mô hình (p<0,05). Lô chuột uống Bảo đường can PC liều 1,44 viên/kg/ngày có xu hướng giảm hoạt độ ALT trong máu chuột so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

Bảng 10. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến hoạt độ GGT trong máu chuột nhắt trắng

Lô chuột	Hoạt độ GGT (UI/L)
Chứng sinh học	7,40 ± 0,87***
Mô hình	13,32 ± 3,03
Silymarin liều 70 mg/kg/ngày	9,50 ± 1,64***
Bảo đường can PC liều 1,44 viên/kg/ngày	10,54 ± 2,18**
Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg/ngày	9,03 ± 1,77***

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: so với lô mô hình

#p<0,05; ##p<0,01; ###p<0,001: so với lô uống Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg/ngày

Kết quả Bảng 10 cho thấy:

- Tại thời điểm kết thúc nghiên cứu, hoạt độ GGT trong máu chuột lô mô hình tăng rõ rệt so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p<0,001.

- Silymarin liều 70 mg/kg/ngày và Bảo đường can PC liều 1,44 viên/kg/ngày và liều 4,32 viên/kg/ngày làm giảm có ý nghĩa thống kê hoạt độ GGT trong máu chuột so với lô mô hình (p<0,001).

2.3.4. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến chức năng gan của chuột nhắt trắng gây tổn thương gan bằng ethanol

Bảng 11. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến nồng độ bilirubin toàn phần và nồng độ albumin trong máu chuột nhắt trắng

Lô chuột	Nồng độ bilirubin toàn phần (µmol/L)	Nồng độ albumin (g/dl)
Chứng sinh học	8,67 ± 0,62	2,40 ± 0,27
Mô hình	8,46 ± 0,76	2,72 ± 0,15
Silymarin liều 70 mg/kg/ngày	8,80 ± 0,97	2,52 ± 0,23
Bảo đường can PC liều 1,44 viên/kg/ngày	8,41 ± 0,82	2,63 ± 0,30
Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg/ngày	8,55 ± 0,73	2,69 ± 0,31

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 : so với lô mô hình

#p<0,05; ##p<0,01; ###p<0,001: so với lô Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg

Kết quả Bảng 11 cho thấy nồng độ bilirubin toàn phần và nồng độ albumin trong máu chuột không có sự khác biệt giữa các lô nghiên cứu (p>0,05).

2.3.5. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến nồng độ MDA và GSH trong gan chuột bị gây tổn thương gan bằng ethanol

Bảng 12. Ảnh hưởng của Bảo đường can PC đến nồng độ MDA trong gan chuột nhất trắng

Lô chuột	Nồng độ MDA (nmol/100 mg gan)	Nồng độ GSH (μ g/100 mg gan)
Chứng sinh học	25,45 \pm 4,92**	1068,35 \pm 180,52**
Mô hình	38,47 \pm 3,23	711,95 \pm 204,48
Silymarin liều 70 mg/kg/ngày	29,90 \pm 7,69*	1055,72 \pm 187,54**
Bảo đường can PC liều 1,44 viên/kg/ngày	33,42 \pm 10,41	914,92 \pm 239,69
Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg/ngày	26,98 \pm 6,37*	1099,82 \pm 219,80**

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: so với lô mô hình

#p<0,05; ##p<0,01; ###p<0,001: so với lô uống Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg/ngày

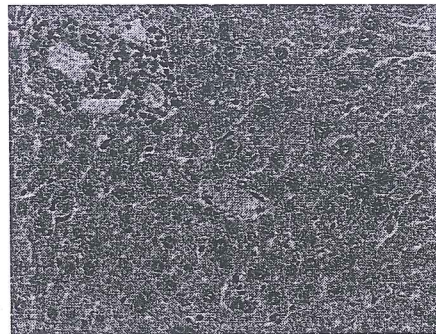
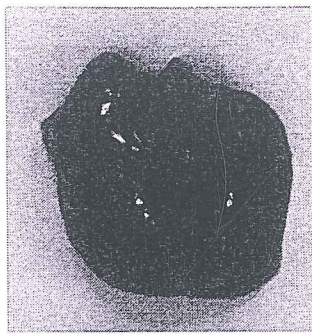
Kết quả Bảng 12 cho thấy:

- Tại thời điểm kết thúc nghiên cứu, nồng độ MDA trong gan chuột lô mô hình tăng so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,01$. Nồng độ GSH trong gan chuột lô mô hình giảm so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,01$.

- Silymarin liều 70 mg/kg/ngày và Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg/ngày làm giảm có ý nghĩa thống kê nồng độ MDA và tăng có ý nghĩa thống kê nồng độ GSH trong gan chuột so với lô mô hình ($p<0,05$).

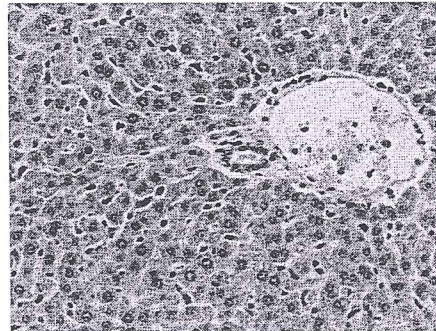
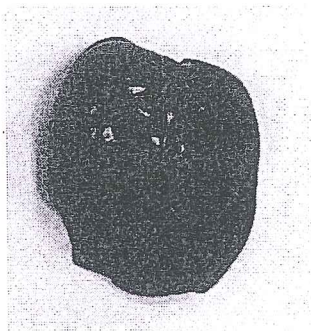
- Bảo đường can PC liều 1,44 viên/kg/ngày có xu hướng làm giảm nồng độ MDA và tăng nồng độ GSH trong gan chuột so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$).

2.3.6. Hình ảnh đại thể và vi thể gan của chuột nhắt trắng



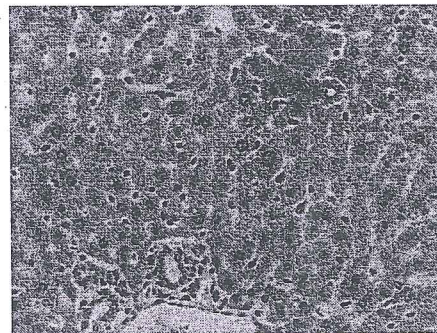
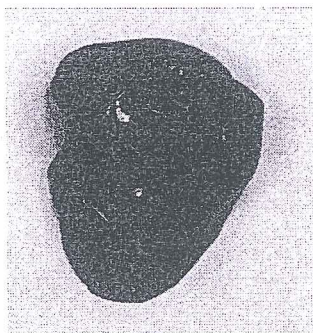
Hình 13. Hình ảnh gan lô chứng sinh học (chuột #01) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật. Mô gan trong giới hạn bình thường



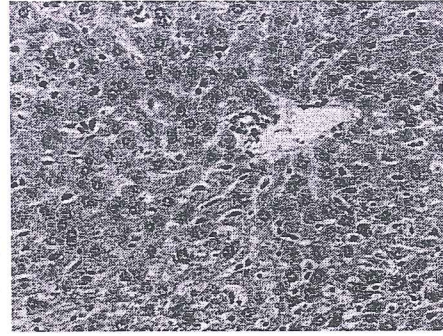
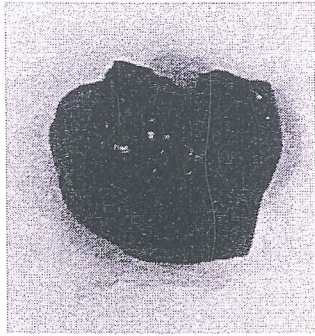
Hình 14. Hình ảnh vi thể gan lô chứng sinh học (chuột #03) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật. Mô gan trong giới hạn bình thường



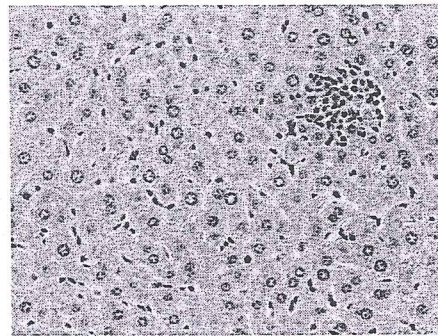
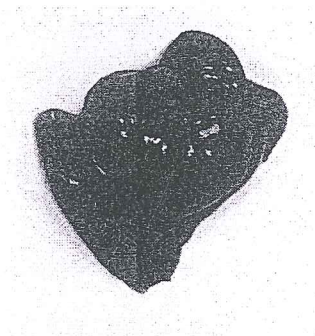
Hình 15. Hình ảnh vi thể gan lô chứng sinh học (chuột #04) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật. Mô gan trong giới hạn bình thường



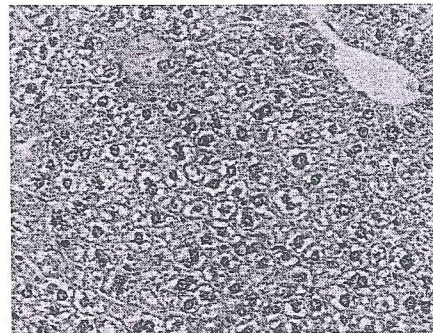
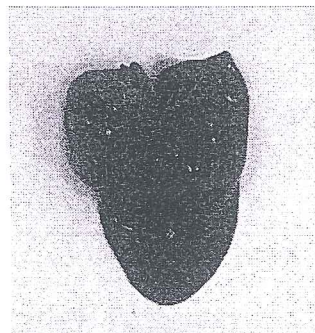
Hình 16. Hình ảnh gan lô mô hình (chuột #13) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan có thoái hóa hốc nặng. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



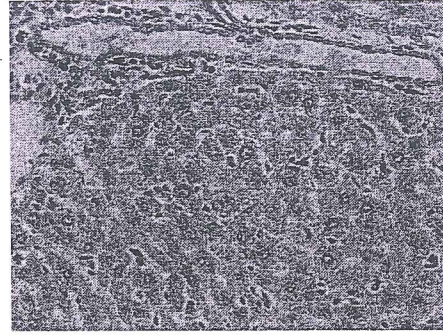
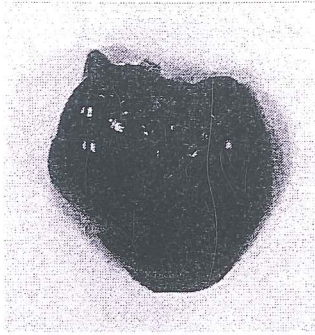
Hình 17. Hình ảnh gan lô mô hình (chuột #15) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy với thành phần tế bào viêm chủ yếu là lympho bào, ít bạch cầu đa nhân. Mô gan có thoái hóa hốc nhẹ. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



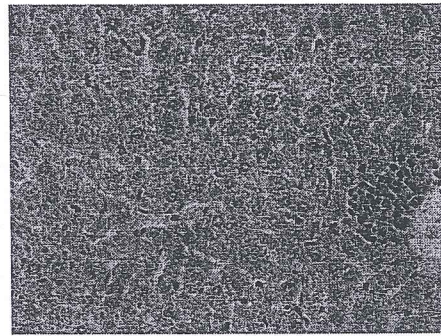
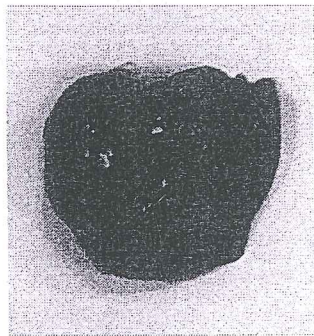
Hình 18. Hình ảnh gan lô mô hình (chuột #18) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan thoái hóa hốc nặng. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



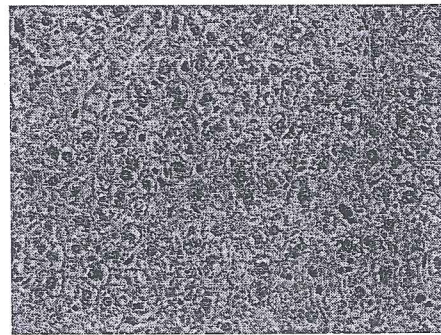
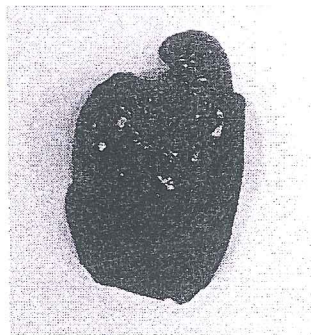
Hình 19. Hình ảnh gan lô silymarin (chuột #21) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan có thoái hóa hắc nhẹ. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



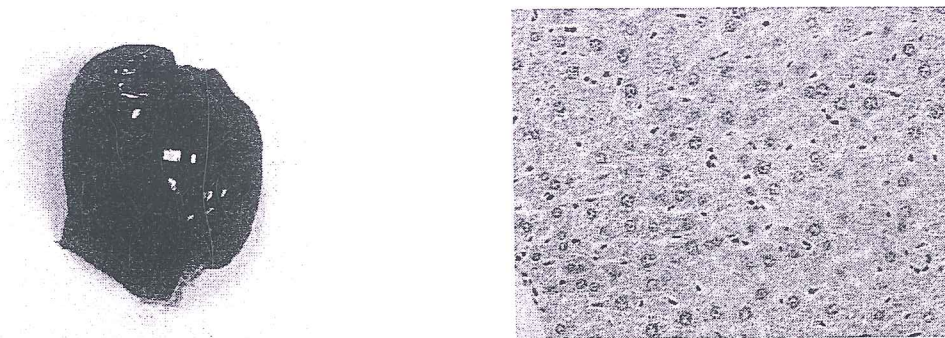
Hình 20. Hình ảnh gan lô uống silymarin (chuột #22) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan có thoái hóa hắc nhẹ. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



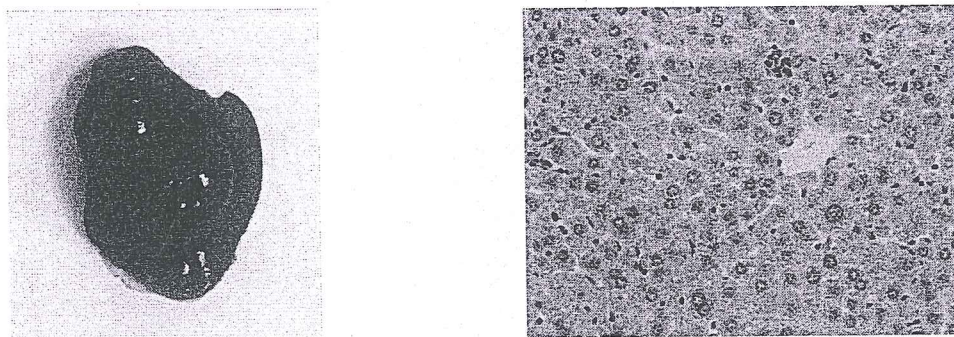
Hình 21. Hình ảnh gan lô uống silymarin (chuột #23) (HE × 400)

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan thoái hóa hắc nặng. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



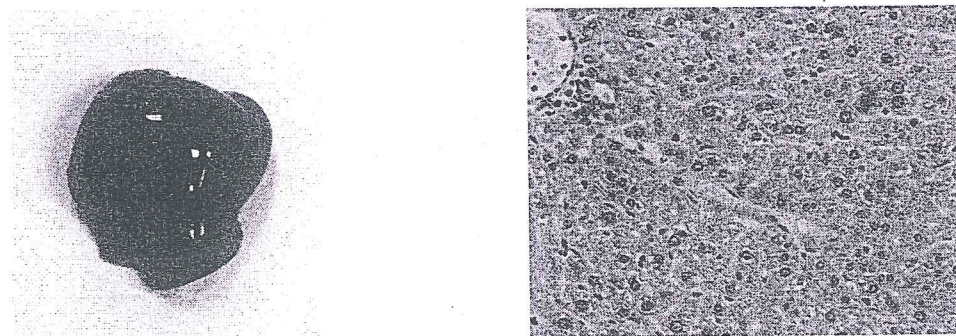
**Hình 22. Hình ảnh gan lô uống Bảo đường can PC 1,44 viên/kg
(chuột #32) (HE × 400)**

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan thoái hóa hốc nặng. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



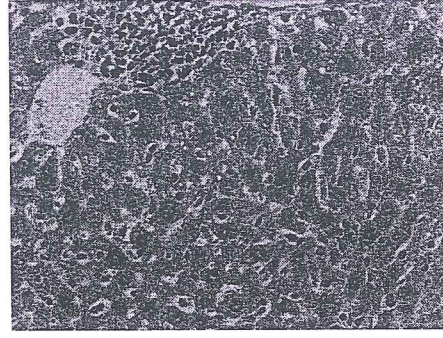
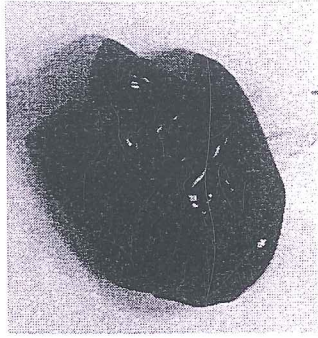
**Hình 23. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 1,44 viên/kg
(chuột #34) (HE × 400)**

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan thoái hóa hốc nhẹ. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



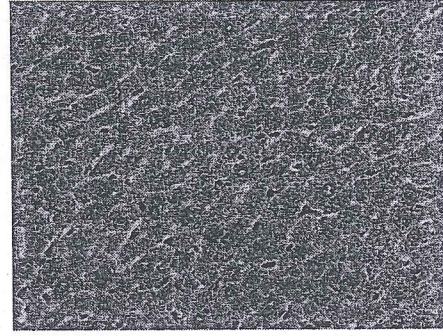
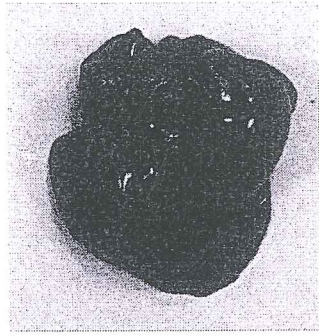
**Hình 24. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 1,44 viên/kg
(chuột #35) (HE × 400)**

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan thoái hóa hốc nhẹ. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



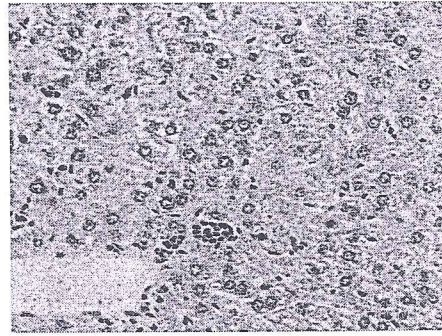
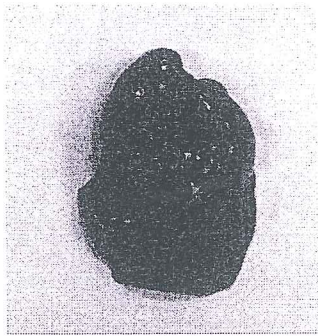
**Hình 25. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 4,32 viên/kg
(chuột #41) (HE × 400)**

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan có thoái hóa hốc nhẹ. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



**Hình 26. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 4,32 viên/kg
(chuột #42) (HE × 400)**

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan thoái hóa hốc nhẹ. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật



**Hình 27. Hình ảnh gan lô Bảo đường can PC 4,32 viên/kg
(chuột #43) (HE × 400)**

Mô gan rõ cấu trúc mô học, rải rác ít ổ viêm trong khoảng cửa và tiểu thùy. Mô gan thoái hóa hốc nặng. Không thấy xơ gan hoặc hoại tử. Không thấy thoái hóa mỡ. Không thấy ứ mật

KẾT LUẬN

Nghiên cứu độc tính cấp của Bảo đường can PC:

- Chưa xác định được LD₅₀ trên chuột nhắt trắng của Bảo đường can PC theo đường uống.

- Bảo đường can PC không gây biểu hiện độc tính cấp khi chuột uống đến liều 39 viên/kg.

- Liều dung nạp tối đa (luôn nhỏ hơn liều chết 50%) của Bảo đường can PC cao gấp 27,1 lần liều dùng dự kiến trên người (*tính người lớn trưởng thành 50 kg, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt 12, liều dự kiến trên người là 6 viên/ngày*).

Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan của Bảo đường can PC trên mô hình chuột nhắt trắng gây viêm gan do paracetamol:

- Kết quả nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan của viên nén Bảo đường can PC ở 2 mức liều 1,44 viên/kg/ngày và 4,32 viên/kg/ngày trên mô hình thực nghiệm gây viêm gan cấp bằng paracetamol cho thấy xu hướng cải thiện các chỉ số nghiên cứu so với lô mô hình, bao gồm: cân nặng gan tương đối, hoạt độ transaminase (AST, ALT) trong huyết thanh, nồng độ MDA và GSH trong dịch đồng thể gan, mức độ tổn thương gan trên vi thể. Tác dụng của Bảo đường can PC là tác dụng phụ thuộc liều, cụ thể mức liều 4,32 viên/kg thể hiện tác dụng tốt hơn mức liều 1,44 viên/kg.

Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan của Bảo đường can PC trên mô hình chuột nhắt trắng gây viêm gan do ethanol:

- Bảo đường can PC liều 4,32 viên/kg/ngày có tác dụng bảo vệ gan thông qua làm giảm cân nặng gan tương đối; giảm hoạt độ AST, ALT, GGT; giảm nồng độ MDA, tăng nồng độ GSH tại gan có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình và cải thiện cấu trúc vi thể gan của chuột nhắt trắng gây tổn thương gan do ethanol.

- Bảo đường can PC liều 1,44 viên/kg/ngày có xu hướng tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây tổn thương gan do ethanol.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **OECD (2001).** *Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation, acute oral toxicity*, Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assesment No 19.
2. **Patricia V Turner, et al. (2011).** Administration of Substances to Laboratory Animals: Routes of Administration and Factors to Consider. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 50(5), 600–613.
3. **Van den Heuvel (1990).** The international validation of a fixed-dose procedure as an alternative to the classical LD₅₀ test. *Chem. Toxicol*, 28:469-482.
4. **Bui Thi Quynh N, Van SN (2019).** IDDF2019-ABS-0218 Evaluation on the protection effect of the vismisco in the liver damage induced by paracetamol in mice experiment. *Gut*, 68, A55.
5. **Fan X, Wang L, Huang J, Lv H, Deng X, Ci X (2018).** Pterostilbene Reduces Acetaminophen-Induced Liver Injury by Activating the Nrf2 Antioxidative Defense System via the AMPK/Akt/GSK3 β Pathway. *Cell Physiol Biochem*, 49, 1943–1958.
6. **Sriphoosanaphan S, Rattanachaisit P, Somanawat K, et al (2023).** Calcitriol Protects against Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Mice. *Biomedicines*. 2023;11:1534.
7. **Trần Công Luận, Nguyễn Hoàng Minh, Đào Trần Mộng và cs (2017),** Tác dụng bảo vệ gan của viên nang đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) trên mô hình gây tổn thương gan mạn tính bằng ethanol, *Tạp chí Nghiên cứu khoa học và Phát triển kinh tế Trường Đại học Tây Đô*, 2, 132-140.

8. Rahman I, Kode A, Biswas SK (2006), Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method, *Nature protocols*, 1, 3159-3165.
9. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K (1979), Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Analytical biochemistry*, 95, 351-35.
10. José Altamirano, Rosa Miquel, Aezam Katoonizadeh et al (2014), A histologic scoring system for prognosis of patients with alcoholic hepatitis, *Gastroenterology*, 146, 1231-1239.

Hà Nội, ngày 14 tháng 6 năm 2024

Phó Trưởng Bộ môn Dược lý

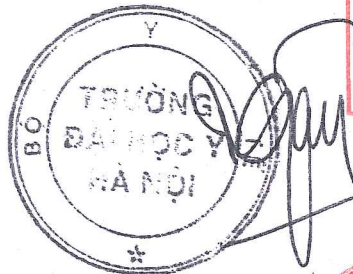
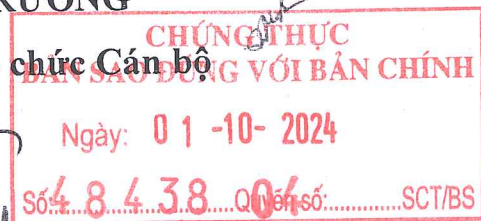
Trưởng nhóm nghiên cứu

TS. Trần Thanh Tùng

Trường Đại học Y Hà Nội xác nhận chữ ký
trên của TS. Trần Thanh Tùng là đúng.

TL. HIỆU TRƯỞNG

KT. Trưởng phòng Tổ chức Cán bộ



Bùi Chi Huyền



CÔNG CHỨNG VIÊN
Bùi Chi Khanh Tâm