

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG MÔ HÌNH XƠ GAN
VÀ ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG CỦA VIÊN NANG NHẮT GAN LINH
TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

*Đình Quốc Hưng¹, Bùi Thị Thu Hà², Nguyễn Thị Thanh Hằng²
Bùi Thị Thu Hiền², Trần Thị Thu Huyền², Trần Bá Hiếu²
Đoàn Việt Cường², Phạm Xuân Phong¹, Trần Thị Tuyết Nhung¹, Chử Văn Mến^{2*}*

Tóm tắt

Mục tiêu: Xây dựng mô hình xơ gan trên chuột BALB/c bằng CCl₄ với thời gian, liều lượng tối ưu của CCl₄, và đánh giá tác dụng điều trị xơ gan của viên nang Nhắt gan linh (NGL). **Phương pháp nghiên cứu:** Gây xơ gan trên chuột nhắt trắng BALB/c được tiêm dưới da CCl₄ với liều 160 mg/kg pha trong dầu olive với tỷ lệ 1:18 tương ứng với liều 2 mL/kg x 2 lần/tuần trong thời gian 4, 8 và 12 tuần. Chuột sau khi được gây xơ gan, cho uống NGL với các mức liều từ 150 - 450 mg/kg/ngày. Đánh giá hiệu quả điều trị xơ gan dựa trên các chỉ tiêu thay đổi trọng lượng, số lượng sống/chết, chỉ số xét nghiệm huyết học, sinh hóa máu, phân tích mô bệnh học. **Kết quả:** Mô hình xơ gan trên chuột nhắt bằng CCl₄ đã cho thấy mức độ xơ hóa gan ở giai đoạn 1/4; 2/4; 2/4 và 3/4 tương ứng với thời gian sử dụng CCl₄ từ 4, 8, và 12 tuần. Chuột được điều trị bằng NGL liều tương đương lâm sàng, gấp đôi và gấp ba liều lâm sàng đều có khả năng cải thiện tổn thương gan ở mức sinh hóa, tế bào. **Kết luận:** NGL chứng minh được tác dụng điều trị xơ gan trên mô hình xơ gan ở chuột BALB/c được tiêm dưới da CCl₄ liều với liều 2 mL/kg x 2 lần/tuần x 8 tuần.

Từ khóa: Mô hình xơ gan; Chuột BALB/c; Nhắt gan linh.

DEVELOPMENT OF LIVER CIRRHOSIS AND EVALUATION
OF NHAT GAN LINH CAPSULES' EFFECTS IN EXPERIMENTAL ANIMALS

Abstract

Objectives: To establish a liver fibrosis model in BALB/c mice using CCl₄ with optimal duration and dosage, and evaluate the therapeutic effects of NGL

¹Viện Y học Cổ truyền Quân đội

²Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Chử Văn Mến (chuvanmen@vmmu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 11/9/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 20/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.499>

capsules on liver fibrosis. **Methods:** Liver fibrosis was induced in BALB/c mice by subcutaneous injection of CCl₄ at a dose of 160mg/kg diluted in olive oil at a ratio of 1:18, corresponding to a dose of 2 mL/kg x 2 times per week for 4, 8, and 12 weeks. After liver fibrosis induction, the mice were orally administered NGL capsules at doses ranging from 150 - 450 mg/kg/day. The effectiveness of liver fibrosis treatment was assessed based on changes in body weight, survival rate, hematological and biochemical parameters, as well as histopathological analysis. **Results:** The CCl₄-induced liver fibrosis model in BALB/c mice demonstrated fibrotic stages of 1/4, 2/4, 2/4, and 3/4, corresponding to the duration of CCl₄ administration for 4, 8, and 12 weeks. Mice treated with NGL capsules at clinical equivalent dose, double and triple the clinical dose, all showed the ability to improve liver injury at the biochemical and cellular levels. **Conclusion:** NGL has demonstrated its therapeutic effects on liver fibrosis in the established model of liver fibrosis in BALB/c mice induced by subcutaneous injection of CCl₄ at a dose of 2 mL/kg x 2 times per week for 8 weeks.

Keywords: Liver fibrosis model; BALB/c; Nhat gan linh.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Xơ gan là nguyên nhân tử vong đứng thứ 11 trên thế giới, và thứ 10 tại Việt Nam với hơn 1 triệu ca tử vong theo thống kê năm 2015 [1]. Bệnh lý này được đặc trưng trên mô bệnh bởi sự xơ hóa lan tỏa, đảo lộn cấu trúc tế bào gan, hình thành các nốt có cấu trúc bất thường phát triển lan tỏa khắp các tiểu thùy gan sẽ dẫn đến suy giảm chức năng gan, tăng áp lực tĩnh mạch cửa và từ đó có thể gây ra biến chứng trên nhiều cơ quan như bệnh não gan, hội chứng gan thận, hội chứng gan phổi, xuất huyết tiêu hóa do giãn vỡ tĩnh mạch thực quản, ung thư hóa... có thể dẫn tới tử vong [2].

Hiện nay, chưa có phương pháp điều trị hiệu quả xơ hóa gan. Các phương pháp điều trị chỉ dừng lại ở điều trị triệu chứng hoặc ghép gan. Vì vậy việc xây dựng mô hình bệnh lý xơ gan trên động vật vẫn hết sức cần thiết để nghiên cứu sâu hơn về cơ chế bệnh sinh và áp dụng các phương pháp điều trị hiệu quả. Mô hình gây xơ gan bằng hóa chất được sử dụng rộng rãi và phổ biến bởi độ lặp lại cao, dễ thực hiện, chi phí không quá cao và đặc biệt, mô hình gây xơ gan bằng cacbon tetrachloride là lựa chọn mang những ưu điểm trên, đồng thời mô hình này còn mang nhiều đặc điểm tương đồng về

quá trình hình thành và phát triển xơ gan trên người [3]. Tại Việt Nam, đã có một số tác giả nghiên cứu xây dựng mô hình này trên chuột cống và chuột nhắt với mức liều khác nhau của cacbon tetrachloride trong các khoảng thời gian khác nhau. Tuy nhiên, các nghiên cứu chưa đi sâu vào tối ưu thời gian gây xơ gan và tối ưu mức độ tổn thương giải phẫu bệnh trên động vật thực nghiệm tương ứng với các tổn thương xơ gan trên người [4, 5, 6].

Nhiều vị thuốc, bài thuốc y học cổ truyền đã được chứng minh là không độc với gan và có tác dụng bảo vệ tế bào gan, hạ men gan, chống xơ hóa tế bào gan ở các bệnh nhân viêm gan mạn và xơ gan, đồng thời dựa trên cơ sở biện chứng luận trị, Viện Y học cổ truyền (YHCT) Quân đội đã và đang ứng dụng điều trị có hiệu quả. Ứng dụng phép biện chứng này để điều trị các bệnh nhân xơ gan các giai đoạn (đặc biệt là giai đoạn cuối) sau thời gian điều trị 1 tháng các chứng trạng như mệt mỏi, đầy bụng, chán ăn, phù, cổ trướng, vàng da... giảm có ý nghĩa thống kê. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm: *Nghiên cứu xây dựng mô hình xơ gan và đánh giá tác dụng của viên nang Nhất gan linh trên động vật thực nghiệm.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Chuột nhắt trắng dòng BALB/c thuần chủng 8 - 10 tuần tuổi, được cung cấp bởi Học viện Quân y. Viên nang NGL do Viện YHCT Quân đội cung cấp.

** Hoá chất, thiết bị nghiên cứu:*

- Dụng cụ: Kim tiêm 1mL, Eppendorf 1,5mL, Ống falcon 15mL, 50mL, Pipetman 1000mL, Bộ dụng cụ mổ: Kéo, kẹp, ghim,...

- Thiết bị: Cân điện tử phân tích Presica 205A SCS, cân điện tử TE3102S Sartorius (Đức), tủ lạnh - 20°C, 4°C, -80°C...

- Hóa chất: Carbon tetrachloride - CCl₄ dạng lỏng (cung cấp bởi công ty Sigma, Hoa Kỳ), dầu olive...

2. Phương pháp nghiên cứu

** Phương pháp gây dựng mô hình xơ gan:*

Chuột nhắt trắng BALB/c được nuôi trong điều kiện phòng thí nghiệm, không khí tự nhiên được chia thành 4 lô mỗi lô 15 con.

- Nhóm 1T: Tiêm dưới da CCl₄ với liều 160 mg/kg pha trong dầu olive với tỷ lệ 1:18 tương ứng với liều 2 mL/kg x 2 lần/tuần x 4 tuần.

- Nhóm 2T: Tiêm dưới da CCl₄ với liều 160 mg/kg pha trong dầu olive với tỷ lệ 1:18 tương ứng với liều 2 mL/kg x 2 lần/tuần x 8 tuần.

- Nhóm 3T: Tiêm dưới da CCl₄ với liều 160 mg/kg pha trong dầu olive với tỷ lệ 1:18 tương ứng với liều 2mL/kg x 2 lần/tuần x 12 tuần.

- Nhóm ĐC: Chuột được cho ăn uống bình thường.

Chỉnh liều CCl₄ trong quá trình tiêm để giảm tỷ lệ chết:

- Trọng lượng chuột thay đổi 0 - 2 gam: Giữ nguyên liều.

- Trọng lượng chuột tăng 2 - 4 gam: Tăng liều đầu 0,01mL.

- Trọng lượng chuột tăng > 5 gam: Tăng liều đầu 0,02mL.

- Trọng lượng chuột giảm 2 - 4 gam: Giảm liều đầu 0,01mL.

- Trọng lượng chuột giảm > 5 gam: Giảm bằng nửa liều đầu.

Máu chuột và mẫu gan sẽ được thu thập ở các thời điểm 1, 2 và 3 tháng để đánh giá các chỉ số huyết học, sinh hóa và giải phẫu bệnh.

* *Phương pháp đánh giá hiệu quả điều trị xơ gan của viên nang NGL:*

Chuột nhất trắng xơ gan bằng CCl₄ được phân ngẫu nhiên thành 7 nhóm:

+ Nhóm I (n = 15 con): Chuột nhất xơ gan, uống viên nang NGL với liều tương đương liều lâm sàng là 150 mg/kg/ngày.

+ Nhóm II (n = 15 con): Chuột nhất xơ gan, uống viên nang NGL với liều gấp đôi liều lâm sàng là 300 mg/kg/ngày.

+ Nhóm III (n = 15 con): Chuột nhất xơ gan, uống viên nang NGL với liều gấp ba liều lâm sàng là 450 mg/kg/ngày.

+ Nhóm IV (n = 15 con): Chuột nhất xơ gan, cho uống dịch chiết Sài hồ với liều tương đương liều lâm sàng, quy đổi ra gram dược liệu/kg/ngày.

+ Nhóm V (n = 15 con): Chuột nhất xơ gan, cho uống dịch chiết Hoàng bá với liều tương đương liều lâm sàng, quy đổi ra gram dược liệu/kg/ngày.

+ Nhóm VI (n = 15 con): Chuột nhất xơ gan, uống cho uống Syllimarín với liều tương đương liều lâm sàng.

+ Nhóm VII (n = 15 con): Cho uống nước cất theo nhu cầu.

* *Các chỉ tiêu đánh giá:*

- Đánh giá thay đổi trọng lượng chuột, tình trạng toàn thân.

- Đánh giá số lượng sống/chết.

- Đánh giá sự thay đổi chỉ số huyết học.

- Đánh giá sự thay đổi albumin, lipid máu, bilirubin, hoạt độ enzym ALT, AST.

- Phân tích hình ảnh mô bệnh học tổn thương gan sau khi uống viên nang NGL với thời gian là 30 ngày.

** Xử lý số liệu:*

Tất cả các kết quả được trình bày dưới dạng $\bar{X} \pm SD$. Ý nghĩa thống kê được xác định với kiểm định T-test và $p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê.

4. Đạo đức nghiên cứu

Quá trình thực hiện thí nghiệm tuân thủ các quy định của Viện Nghiên cứu Y-Dược học Quân sự, Học viện Quân y về chăm sóc động vật thí nghiệm và bảo đảm an toàn phòng thí nghiệm.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Kết quả gây mô hình xơ gan

** Thời gian gây xơ gan trên chuột nhắt trắng bằng CCl₄:*

Thông qua giai đoạn khảo sát xây dựng mô hình xơ gan, cho thấy sau thời gian tiêm dưới da CCl₄ sau 1 - 3 tháng với liều với liều 160 mg/kg pha trong dầu olive với tỷ lệ 1:18 tương ứng với liều 2 mL/kg x 2 lần/tuần, mô hình xơ gan trên chuột nhắt đã cho

thấy mức độ xơ hóa gan theo thời gian sử dụng hóa chất. Sau 1 tháng tiêm dưới da CCl₄: Chuột hình thành xơ hóa gan ở giai đoạn 1/4. Sau 2 tháng tiêm dưới da CCl₄: Chuột hình thành xơ hóa gan ở giai đoạn 2/4 trên toàn bộ số chuột gây mô hình. Sau 3 tháng tiêm dưới da CCl₄: Chuột hình thành xơ hóa gan ở giai đoạn 2/4 và 3/4, có một số chuột chết sau 3 tháng gây xơ gan. Nên có thể lựa chọn mức liều trên kéo dài 2 tháng để gây mô hình xơ gan ổn định trên chuột.

** Các tổn thương cơ bản trên mô hình xơ gan chuột bằng CCl₄:*

- Tình trạng toàn thân: Sau khi sử dụng CCl₄, trọng lượng chuột các nhóm sử dụng CCl₄ chỉ có sự thay đổi nhẹ theo thời gian và giảm mạnh so với nhóm đối chứng ($p < 0,05$). Ngoài ra, chuột có hiện tượng lông xù, hoạt động chậm chạp, ở khoảng thời gian cuối 3 tháng, chuột ủ rũ, giảm vận động rõ rệt.

- Xét nghiệm huyết học và sinh hóa: Số lượng bạch cầu giảm ở nhóm CCl₄ so với nhóm đối chứng ($p < 0,05$). Hoạt độ các enzyme gan ALT, AST; nồng độ bilirubin trong huyết tương chuột tiêm dưới da CCl₄ đều tăng so với nhóm đối chứng. Triglyceride có biểu hiện giảm ở các nhóm tiêm CCl₄.

Bảng 1. Ảnh hưởng của CCl₄ tới các chỉ số huyết học của chuột.

Chỉ tiêu nghiên cứu	Nhóm nghiên cứu ($\bar{X} \pm SD$), n = 15			
	ĐC	1T	2T	3T
Bạch cầu (G/L)	7,09 ± 0,81	4,69 ± 0,54*	4,11 ± 0,47*	3,41 ± 0,39*
Hồng cầu (T/L)	8,40 ± 0,96	8,04 ± 0,92	8,80 ± 1,01	8,61 ± 0,99
Tiểu cầu (G/L)	835,53 ± 95,69	803,81 ± 92,06	829,58 ± 72,11	796,28 ± 91,20
Hemoglobin (g/L)	121,80 ± 13,95	124,53 ± 14,26	126,50 ± 14,49	124,52 ± 14,26
Hematocrit (%)	40,34 ± 4,62	40,53 ± 4,64	41,72 ± 4,78	41,39 ± 4,74

(*: p < 0,05 so với nhóm đối chứng).

Bảng 2. Ảnh hưởng của CCl₄ tới các chỉ số sinh hóa của chuột.

Chỉ tiêu nghiên cứu	Nhóm nghiên cứu ($\bar{X} \pm SD$), n = 15			
	ĐC	1T	2T	3T
ALT(U/L)	34,39 ± 8,52	103,80 ± 16,47*	102,71 ± 16,34*	124,02 ± 18,79*
AST(U/L)	57,30 ± 18,02	102,72 ± 23,22*	98,22 ± 22,70*	228,00 ± 37,57*
Albumin (g/l)	23,03 ± 2,64	23,20 ± 2,66	21,23 ± 2,43	21,82 ± 2,38
Bilirubin (μmol/L)	6,31 ± 0,72	13,82 ± 1,58*	16,00 ± 1,83*	13,53 ± 1,55*
Cholesterol (mmol/L)	2,74 ± 0,31	2,50 ± 0,24	2,55 ± 0,29	2,58 ± 0,24
Triglyceride (mmol/L)	1,71 ± 0,20	1,32 ± 0,15**	1,30 ± 0,15*	1,12 ± 0,13**

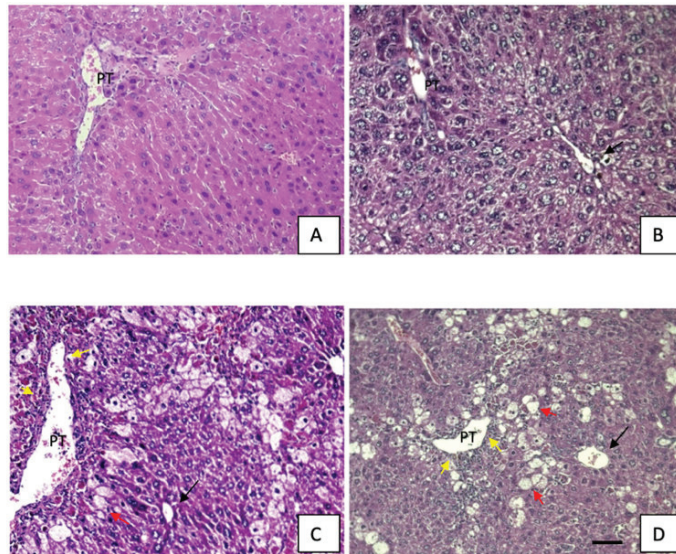
(*: p < 0,05; **: p < 0,01 so với nhóm đối chứng).

- Giải phẫu bệnh: Gan chuột nhóm điều trị nhạt màu, mất sự nhẵn bóng, bề mặt sần sùi và ngoài ra còn có hiện tượng hình thành các nốt đốm đỏ trên bề mặt gan sau 3 tháng sử dụng CCl₄. Khi đi sâu vào cấu trúc bên trong gan, các nhóm chuột sử dụng CCl₄ có các tế bào gan bị thoái hóa mỡ, hoại tử và xơ hóa rải rác tập trung ở khoảng cửa trong nhu mô gan và hình thành các dải xơ nối, mức độ tổn thương tăng theo thời gian sử dụng hóa chất. Sau 1 tháng sử dụng CCl₄, xơ tập trung ở khoảng cửa (giai đoạn 1/4), sau 2 và 3 tháng,

sự hoại tử tập trung ở khoảng cửa và xơ xung quanh khoảng cửa và xuất hiện xơ khoảng cửa và xơ nối khoảng cửa với khoảng cửa (giai đoạn 2/4), một số chuột sau 3 tháng tiến triển xơ giai đoạn 3/4; hình ảnh hoại tử nằm dọc theo các tế bào gan bị thoái hóa mỡ. Ngoài ra, còn có hiện tượng ứ mật trong các tế bào gan từ sau 2 tháng sử dụng CCl_4 . Kết quả hình ảnh về sự hoại tử gan và ứ mật phù hợp với kết quả về hoạt độ ALT và AST, tăng Bilirubin, giảm Triglyceride. Tuy nhiên, hình ảnh nhu mô gan cho thấy các tế bào gan bị thoái hóa mỡ và hoại

tử nặng ở nhóm 3 tháng, nhưng khả năng còn bù nên một số chỉ số chưa thay albumin, cholesterol.

- Siêu cấu trúc: Kết quả nhuộm H&E cho thấy, các tế bào gan ở nhóm đối chứng bình thường, sau 1 tháng sử dụng CCl_4 , một số tế bào gan bị thoái hóa mỡ, nằm rải rác trên nhu mô gan. Sự thoái hóa mỡ tăng sau 2 và 3 tháng sử dụng CCl_4 , các tế bào gan bị thoái hóa mỡ xung quanh tiểu thùy gan. Ngoài ra, sau 2 tháng sử dụng CCl_4 , nhìn rõ xuất hiện hoại tử xung quanh khoảng cửa, sau 3 tháng, hoại tử còn nằm dọc theo các tế bào gan bị thoái hóa mỡ.



Hình 1. Cấu trúc vi thể gan chuột các nhóm nhuộm H&E.

A: Đối chứng B: Tiêm CCl_4 sau 1 tháng
C: Tiêm CCl_4 sau 2 tháng D: Tiêm CCl_4 sau 3 tháng

PT: khoảng cửa, mũi tên đen: tĩnh mạch trung tâm,

mũi tên đỏ: tế bào gan bị thoái hóa mỡ, mũi tên vàng: hoại tử, — 50 microm.

2. Đánh giá hiệu quả điều trị của viên nang NGL

- Kết quả đánh giá trọng lượng chuột sau khi được phân nhóm điều trị so với nhóm chứng được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả xác định trọng lượng của các nhóm chuột.

Thời gian (Tuần)		NGL1	NGL2	NGL3	Silymarin	Hoàng Bá	Sài Hồ	Chứng
W0	Mean	28,53	28,82	28,83	28,98	28,72	28,61	28,69
	SD	3,08	2,84	3,26	3,19	2,71	2,74	3,06
W1	Mean	29,05	30,31	29,82	28,98	28,72	28,61	28,60
	SD	3,33	3,47	3,41	3,19	2,71	2,74	3,28
W2	Mean	31,48	32,12	31,60	30,28	29,86	29,62	28,01
	SD	3,60	3,68	3,62	3,05	2,82	2,58	3,21
W3	Mean	31,89	33,35	32,81	30,92	30,65	30,67	29,89
	SD	3,65	3,82	3,76	2,36	2,46	2,50	3,42
W4	Mean	32,71	34,22	33,67	31,52	31,16	31,04	30,52
	SD	3,75	3,92	3,86	1,96	2,09	2,07	3,49
W5	Mean	33,23	33,65	33,11	31,94	31,49	31,39	30,20
	SD	3,95	4,00	3,94	1,79	2,14	1,39	1,51

Kết quả cho thấy trọng lượng của 3 nhóm điều trị bằng NGL cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng không điều trị sau 5 tuần ($p < 0,05$).

- Chỉ số máu khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm. Điều này có thể do chức năng thận, tủy xương còn tốt.

Bảng 4. Ảnh hưởng của CCl₄ tới các chỉ số huyết học của chuột.

Chỉ tiêu nghiên cứu		Bạch cầu (G/L)	Hồng cầu (T/L)	Tiểu cầu (G/L)	Hemoglobin (g/L)	Hematocrit (%)
Chứng W0	TB	8,11	8,1	739,58	121,5	36,72
	SD	0,47	1,01	72,11	14,49	4,78
Chứng W5	TB	6,06	7,55	722,51	114,9	34,46
	SD	0,66	0,82	78,6	12,5	3,75
NGL1 W0	TB	8,13	8,12	736,62	120,9	36,7
	SD	0,53	0,99	76,28	15,32	5,1
NGL1 W5	TB	8,1	8,11	830,2	126,82	36,88
	SD	0,96	0,96	98,71	15,08	4,39
NGL2 W0	TB	8,12	8,09	737,75	121,4	36,79
	SD	0,45	0,91	64,71	12,63	4,58
NGL2 W5	TB	8,56	8,09	760,23	126,46	36,33
	SD	1,02	0,96	90,39	15,04	4,32
NGL3 W0	TB	8,09	8,08	738,73	121,32	36,77
	SD	0,47	0,97	70,73	14,21	4,92
NGL3 W5	TB	7,33	6,81	737,53	118,92	36,11
	SD	0,87	0,81	87,69	14,14	4,29
Silymarine W0	TB	8,12	8,11	740,22	121,64	36,89
	SD	0,47	0,96	68,45	13,77	4,78
Silymarine W5	TB	7,18	6,67	722,84	116,55	35,39
	SD	0,91	0,84	91,29	14,72	4,47
Hoàng bá W0	TB	8,15	8,05	737,35	120,95	36,72
	SD	0,47	0,85	65,42	12,06	4,55
Hoàng bá W5	TB	8,07	8,08	727,28	126,38	36,75
	SD	1,05	1,05	107,17	16,37	4,76
Sài hồ W0	TB	8,11	8,05	736,37	120,99	36,83
	SD	0,52	0,97	74,15	14,48	5,45
Sài hồ W5	TB	8,88	8,39	788,60	131,18	37,68
	SD	0,92	0,87	81,72	13,59	3,90

Hoạt độ các enzyme gan ALT, AST; nồng độ bilirubin trong huyết tương chuột không được điều trị tăng rõ rệt so với các nhóm được điều trị bằng NGL. Các chỉ số sinh hóa khác chưa khác biệt đáng kể.

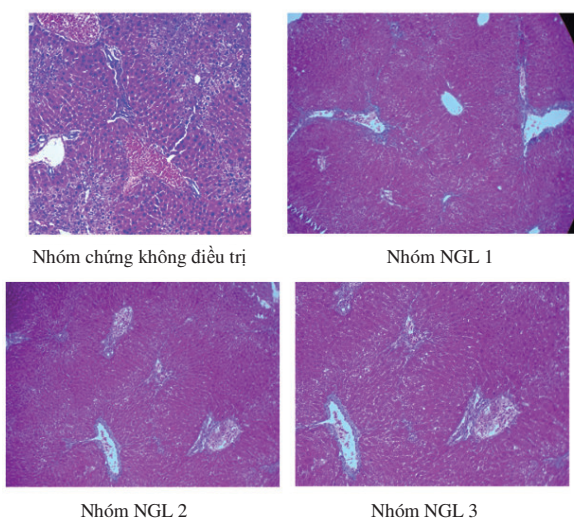
Bảng 5. Các chỉ số sinh hóa của các nhóm chuột.

Chỉ tiêu		ALT (U/L)	AST (U/L)	Albumin (g/L)	Bilirubin (μ mol/L)	Cholesterol (mmol/L)	Triglyceride (mmol/L)
Chứng	TB	122,71	198,22	19,23	13	2,35	1,2
W0	SD	16,35	22,7	2,43	1,83	0,29	0,15
Chứng	TB	219,38	379,91	18,55	13,26	2,31	1,14
W5	SD	23,86	41,33	2,02	1,44	0,25	0,13
NGL1	TB	122,35	197,91	19,28	12,98	2,36	1,21
W0	SD	16,67	22,91	2,6	1,93	0,32	0,17
NGL1	TB	120,33*	192,76*	18,12	5,57*	2,47	1,22
W5	SD	14,31	22,92	2,15	0,66	0,29	0,14
NGL2	TB	123,05	198,65	19,3	13,08	2,38	1,2
W0	SD	15,88	22,52	2,45	1,94	0,31	0,14
NGL2	TB	121,89*	203,53*	19,27	6,78*	2,84	1,29
W5	SD	14,49	24,2	2,29	0,81	0,34	0,16
NGL3	TB	123,35	198,86	19,36	13,09	2,38	1,21
W0	SD	16,76	23,06	2,43	1,92	0,29	0,15
NGL3	TB	124,98*	211,70*	20,41	6,46*	2,28	1,1
W5	SD	14,86	25,17	2,43	0,77	0,27	0,13
Sài hồ	TB	123,34	198,94	19,42	13,10	2,40	1,22
W0	SD	18,71	24,50	2,92	2,04	0,24	0,15
Sài hồ	TB	156,44	241,12	19,99	7,04	2,94	1,34
W5	SD	13,10	21,88	2,07	0,73	0,30	0,14
Hoàng bá	TB	123,12	199,69	19,38	13,11	2,40	1,24
W0	SD	15,52	22,51	2,45	1,85	0,29	0,11
Hoàng bá	TB	139,90	212,08	18,06	5,55	2,46	1,21
W5	SD	15,53	24,88	2,34	0,72	0,32	0,16
Silymarin	TB	124,20	200,52	19,43	13,14	2,39	1,21
W0	SD	16,18	22,30	2,35	1,85	0,31	0,17
Silymarin	TB	122,49	207,48	20,00	6,33	2,23	1,08
W5	SD	15,47	26,20	2,53	0,80	0,28	0,14

Đặc điểm hình thái mô học gan, nhận thấy được sự khác biệt rõ ràng về màu sắc, và hình thái của gan sau điều trị so với nhóm chứng. Gan chuột nhóm điều trị có màu tươi, ít hạt trên bề mặt, ngược với nhóm chứng không điều trị.

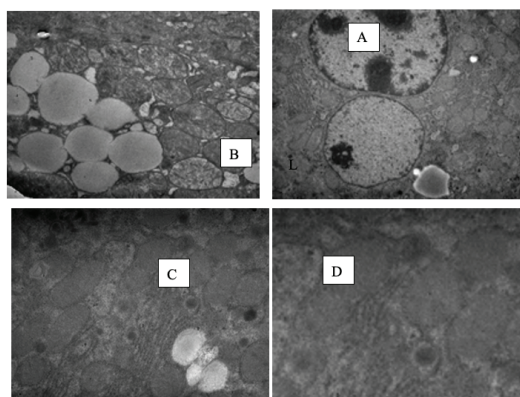
Phù hợp với hình ảnh đại thể, hình ảnh vi thể trên nhóm điều trị bằng NGL cho thấy tổn thương xơ gan giai đoạn 2 có xu hướng ổn định hoặc giảm dần vì ít hình ảnh tổn thương tế bào. Điều này có thể lý giải cho hình ảnh đại thể ít hạt trên bề mặt.

Kết quả hình ảnh về tổn thương gan phù hợp với kết quả về hoạt độ ALT và AST của các nhóm.



Hình 2. Cấu trúc vi thể gan chuột ở các nhóm.

- Các nhóm chuột được điều trị bằng NGL cũng cho thấy rất ít các hạt mỡ bên trong tế bào, khác biệt rõ ràng với nhóm không điều trị.



Hình 3. Cấu trúc vi thể gan các nhóm dưới kính hiển vi điện tử truyền qua.
A: Chứng không điều trị; B: NGL 1; C: NGL 2; D: NGL 3.

KẾT LUẬN

Tiêm dưới da CCl_4 sau 1 - 3 tháng với liều 160 mg/kg pha trong dầu olive với tỷ lệ 1:18 tương ứng với liều 2 mL/kg x 2 lần/tuần, mô hình xơ gan trên chuột nhất đã cho thấy mức độ xơ hóa gan theo thời gian sử dụng hóa chất. Sau 1 tháng tiêm dưới da CCl_4 : Chuột hình thành xơ hóa gan ở giai đoạn 1/4. Sau 2 tháng tiêm dưới da CCl_4 : Chuột hình thành xơ hóa gan ở giai đoạn 2/4 trên toàn bộ số chuột gây mô hình. Sau 3 tháng tiêm dưới da CCl_4 : Chuột hình thành xơ hóa gan ở giai đoạn 2/4 và 3/4, có một số chuột chết sau 3 tháng gây xơ gan. Vì vậy, có thể lựa chọn mức liều trên kéo dài 2 tháng để gây mô hình xơ gan ổn định trên chuột.

Tiêm dưới da CCl_4 sau 2 tháng với liều 160 mg/kg pha trong dầu olive với tỷ lệ 1:18 tương ứng với liều 2 mL/kg x 2 lần/tuần x 8 tuần, chuột được điều trị bằng NGL liều tương đương lâm sàng, gấp đôi và gấp ba liều lâm sàng đều có khả năng cải thiện tổn thương gan ở mức sinh hóa, tế bào. Trong nghiên cứu này, hoạt độ các enzyme gan ALT, AST; nồng độ bilirubin trong huyết tương chuột không được điều trị tăng rõ rệt so với các nhóm được điều trị bằng NGL. Các chỉ số sinh hóa khác chưa khác biệt đáng kể.

Khi xét về đặc điểm hình thái mô học gan, nhận thấy được sự khác biệt rõ ràng về màu sắc, và hình thái của gan sau điều trị so với nhóm chứng. Gan chuột nhóm điều trị có màu tươi, ít hạt trên bề mặt, ngược với nhóm chứng không điều trị. Các nhóm chuột được điều trị bằng NGL cũng cho thấy rất ít các hạt mỡ bên trong tế bào, khác biệt rõ ràng với nhóm không điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Devarbhavi H, Eaton J, Kamath PS Asrani SK. Burden of liver diseases in the world. *Journal of Hepatology*. 2019; 70(1):151-171.
2. Matthias Pinter, Michael Trauner, Markus Peck-Radosavljevic, and Wolfgang Sieghart. Cancer and liver cirrhosis: Implications on prognosis and management. *ESMO Open*. 2016; 1(2):e000042.
3. Bruno Cogliati, et al. Sara Crespo Yanguas. Experimental models of liver fibrosis. *Arch Toxicol*. 2016; 90(5): 1025-1048.
4. Trần Hồng Diễm. Xây dựng mô hình và thử nghiệm điều trị bệnh xơ hóa gan bằng liệu pháp tế bào gốc trên chuột nhắt trắng (*Mus musculus* var. Albino). Luận văn Thạc sỹ Sinh học. Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh 2010:18-19.

5. Nguyễn Thị Thanh Lan, Nguyễn Trọng Tuấn và Đái Thị Xuân Trang Phan Kim Định. Khảo sát khả năng bảo vệ gan của cao methanol lá mơ leo (*Paederia scandens* L.) trên chuột tổn thương gan bằng carbon tetrachloride. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 2018; 54(7A):94-100.
6. Nguyễn Thị Uyên và CS. Tác dụng bảo vệ tế bào gan của cao định chuẩn quả me rừng trên mô hình gây tổn thương gan bằng carbon tetrachlorid. *Tạp chí Dược liệu*. 2019; 24(2).
7. Chiung M Chen, MA Young-Hee Yoon. Liver cirrhosis mortality in the United States: National, State, and regional trends, 2000-2015. *National Institutes of Health, Surveillance*. 2018; report #111.
8. Garcia-Tsao G, Pagliaro L D'Amico G. Natural history and prognostic indicators of survival on cirrhosis: A systematic review of 118 studies. *Journal of Hepatology*. 2006; 44(1):217-231.
9. Robert LT, et al Joseph TD. Portal hypertension and cirrhosis. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*, 10e, Ed.: McGraw - Hill Education, Chapter 37.
10. World Health Organization. World Hepatitis day: Increased knowledge key to prevention and treatment of Hepatitis in Viet Nam. 2016.
11. Wen-Ce Zhou, Quan-Bao Zhang, and Liang Qiao. Pathogenesis of liver cirrhosis. *World Journal of Gastroenterology*. 2014; 20(23): 7312-7324.