

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG BẢO VỆ TẾ BÀO GAN CỦA VIÊN NANG CỨNG ARMYNAX TRÊN THỰC NGHIỆM

Trương Ngọc Dương; Nguyễn Văn Long*; Hoàng Văn Lương**

TÓM TẮT

Armyntax là sản phẩm được bào chế từ sâm Ngọc Linh sinh khối và cây Đở non đạt tiêu chuẩn cơ sở, đã được nghiên cứu về tính an toàn và một số tác dụng dược lý. Bài viết này trình bày kết quả nghiên cứu tác dụng bảo vệ tế bào gan trên thực nghiệm. Kết quả cho thấy: viên nang cứng armyntax có tác dụng làm giảm ALT và AST huyết tương, giảm MDA tạo ra ở gan, tăng GSH trong gan, giảm khối lượng gan bị viêm và giảm tổn thương gan trên mô hình chuột nhắt trắng gây độc bằng CCl₄. Kết quả này tương đương với nhóm gây độc dùng eganin.

* Từ khoá: Viên nang armyntax; Chống oxy hoá; Bảo vệ tế bào gan.

STUDY OF HEPATO-PROTECTIVE EFFECTS OF ARMYNAX CAPSULE ON EXPERIMENT

SUMMARY

Armyntax is the product prepared from Panax vietnamsis cell biomass and Cratoxylon prunifolium materials that meet institutional standard, has been investigated about safety and pharmacological effects. This report presents about the investigational results of the hepato-protective effects on experiment. The results showed that armyntax capsule reduced serum ALT and AST, reduced hepatic MDA, enhanced GSH in the liver, reduced the hepatitis, and reduced the hepatic injury on CCl₄-toxicated mice model. This result showed to be equivalent to those effects of Eganin on CCl₄-toxicated mice model.

* Key words: Armyntax capsule; Antioxidant; Hepato-protective effects.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Gan có vai trò sinh lý quan trọng trong duy trì sức khỏe con người. Gan đóng một vai trò chính yếu trong việc loại ra khỏi máu các sản phẩm độc hại ngoại sinh (từ môi trường) hay nội sinh (do cơ thể tạo ra). Gan chuyển hoá chúng thành những chất ít độc hoặc không độc mà cơ thể có thể loại bỏ dễ dàng. Tuy nhiên, có nhiều yếu tố làm ảnh hưởng đến chức năng gan như: điều kiện môi trường ô nhiễm, môi trường độc hại (công nhân nhà máy thuốc nổ, phân bón,

thuốc trừ sâu...), do virus, rượu và các bệnh về gan mật... dẫn đến làm suy giảm chức năng gan và viêm gan.

Nhiều nghiên cứu hiện nay cho thấy: đối tượng nhiễm chất độc hại làm hủy hoại tế bào gan đều có liên quan với gốc tự do. Gốc tự do có liên quan tới cơ chế gây độc tế bào gan của nhiều hóa chất. Xu hướng hiện nay là: sử dụng các chế phẩm nguồn gốc tự nhiên có tác dụng bảo vệ tế bào gan, nhằm hạn chế ảnh hưởng yếu tố độc hại [5, 7].

* Học viện Quân y

Phản biện khoa học: PGS. TS. Nguyễn Văn Minh

Một trong những dược liệu đã được Học viện Quân y nghiên cứu có tác dụng chống oxy hóa tốt đó là cây Đở ngon [2, 3]. Ngoài ra, Sâm Ngọc Linh sinh khối do Học viện Quân y sản xuất (đã được đánh giá tác dụng sinh học) có nhiều tác dụng như sâm Ngọc Linh tự nhiên, có tác dụng chống oxy hóa, bảo vệ tế bào gan tốt trên thực nghiệm [6].

Từ kết quả trên, Học viện Quân y đã nghiên cứu bào chế chế phẩm armynax từ cây Đở ngon và sâm Ngọc Linh sinh khối. Viên nang cứng armynax đạt tiêu chuẩn cơ sở và đã được đánh giá tính an toàn trên thực nghiệm. Đây là một chế phẩm mới, trước khi triển khai áp dụng trên người cần được nghiên cứu về tác dụng dược lý. Do đó, chúng tôi tiến hành đề tài này để đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào gan của armynax trên thực nghiệm.

NGUYÊN VẬT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên vật liệu và đối tượng nghiên cứu.

Viên nang cứng armynax do Học viện Quân y bào chế đạt tiêu chuẩn cơ sở.

Chuột nhắt trắng trưởng thành đủ tiêu chuẩn thí nghiệm, gồm 32 con, trọng lượng 18 - 22g. Động vật thí nghiệm được nuôi trong phòng thí nghiệm được lý.

Các hóa chất và kit xét nghiệm của hãng Sigma (Hoa Kỳ) và hãng Sysmex (Đức). Máy xét nghiệm hóa sinh.

2. Phương pháp nghiên cứu.

** Phương pháp đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào gan của armynax:*

Nghiên cứu tác dụng bảo vệ tế bào gan của armynax dựa trên mô hình gây độc bằng CCl_4 trên chuột nhắt trắng [4, 5]. Ngoài tác dụng gây hoại tử tế bào gan, trong quá trình chuyển hóa, CCl_4 được chuyển thành CCl_3 . Chất này hoạt động như một gốc tự do, oxy hóa màng tế bào và phá hủy màng tế bào nói chung, trong đó có tế bào gan. Từ những lý do trên, để đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào gan, ngoài việc đánh giá một số chỉ tiêu ALT, AST và mô bệnh học gan, chúng tôi còn đánh giá thêm các chỉ tiêu oxy hóa (MDA) và chống oxy hóa (GSH).

- Thiết kế thí nghiệm: chia ngẫu nhiên 32 chuột thành 4 nhóm, mỗi nhóm 8 con.

+ Nhóm 1 (chứng sinh học): chuột được uống nước cất liều 0,1 ml/10g thể trọng, tiêm bắp dầu lạc liều 0,1 ml/10g thể trọng.

+ Nhóm 2 (chứng gây độc, không trị): chuột được uống nước cất, tiêm bắp dung dịch CCl_4 0,05% (pha trong dầu lạc theo tỷ lệ 5 ml CCl_4 : 100 ml dầu lạc) liều 0,1 ml/10g thể trọng.

+ Nhóm 3 (gây độc và uống viên nang cứng armynax): chuột được uống viên nang cứng armynax liều 400 mg/kg thể trọng/24 giờ, tiêm bắp CCl_4 như nhóm 2.

+ Nhóm 4 (gây độc và uống eganin): chuột được uống eganin đã pha loãng để có liều tương đương 400 mg/kg thể trọng/24 giờ, tiêm bắp CCl_4 như nhóm 2.

- Cách tiến hành và đánh giá: cho chuột thí nghiệm uống với thể tích ở tất cả các nhóm như nhau (0,1 ml/10g thể trọng), cho uống hàng ngày vào một giờ cố định (8 giờ sáng), trong 6 ngày liên tục. Chiều ngày thứ 6, tiến hành gây độc bằng CCl_4 , tiêm bắp liều 0,5 ml/kg (tính theo thể tích CCl_4 nguyên chất) cho nhóm 2, nhóm 3 và nhóm 4. Nhóm 1 tiêm bắp dầu lạc (vì dầu lạc là dung môi để pha CCl_4 dùng cho thí nghiệm). Thể tích tiêm CCl_4 ở tất cả các nhóm là 0,1 ml/10g thể trọng. Pha loãng CCl_4 bằng dầu lạc với tỷ lệ thích hợp để được thể tích tiêm cũng như liều CCl_4 nguyên chất như đã nêu trên.

Sau khi gây độc 16 giờ, giết chuột theo phương pháp kéo giãn đốt sống cổ. Mổ nhanh lấy gan, rửa sạch bằng nước muối sinh lý lạnh và nhanh chóng xác định các chỉ tiêu MDA, GSH trong gan, hoạt độ ALT và AST, xác định mức độ tăng khối lượng gan của các nhóm, đánh

giá hình ảnh đại thể của gan qua quan sát bằng mắt thường và bằng soi kính lúp. Hình ảnh vi thể của gan được đánh giá qua tiêu bản nhuộm HE, đọc tiêu bản trên kính hiển vi tại Bộ môn Giải phẫu bệnh, Học viện Quân y.

* Phương pháp xử lý thống kê:

Phân tích, xử lý kết quả nghiên cứu bằng các thuật toán thống kê, sử dụng phần mềm Statview 5.0.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ

BÀN LUẬN

1. Sự thay đổi nồng độ MDA và GSH.

Bảng 1: Nồng độ MDA ở gan chuột uống armynax và eganin.

NHÓM NGHIÊN CỨU	n	MDA (mmol/g mô gan)	TĂNG SO VỚI CHỨNG SINH HỌC
Chứng sinh học (1)	8	7,91 ± 1,50	-
Chứng gây độc (2)	8	14,64 ± 2,45	85,08%
Armynax (3)	8	10,92 ± 2,84	38,05%
Eganin (4)	8	11,75 ± 3,86	48,54%
p		p _{2-1, 3-1, 4-1} < 0,01; p _{3-2, 4-2} < 0,05; p ₄₋₃ > 0,05	

Ở 2 nhóm gây độc uống armynax và eganin, nồng độ MDA trong gan chuột giảm hơn so với nhóm chứng gây độc ($p < 0,05$), nhưng vẫn còn cao hơn so với nhóm chứng sinh học ($p < 0,01$). Nồng độ MDA ở hai nhóm uống armynax và eganin không có sự khác biệt ($p > 0,05$).

Bảng 2: Nồng độ GSH ở gan chuột dùng armynax và egamin.

NHÓM NGHIÊN CỨU	n	GSH (mg/g mô gan)	GIẢM SO VỚI CHỨNG SINH HỌC
Chứng sinh học (1)	8	1,009 ± 0,220	-
Chứng gây độc (2)	8	0,517 ± 0,177	48,76%
Armynax (3)	8	0,684 ± 0,172	32,21%
Eganin (4)	8	0,725 ± 0,210	28,14%
p		p _{2-1, 3-1, 4-1} < 0,01; p _{3-2, 4-2} < 0,05; p ₄₋₃ > 0,05	

Ở 2 nhóm chuột gây độc được uống armynax và eganin, nồng độ GSH trong gan chuột tăng hơn so với nhóm chứng gây độc nhưng không trị. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Nồng độ GSH ở 2 nhóm dùng armynax và eganin không có sự khác biệt ($p > 0,05$). Tuy nhiên, ở cả 3 nhóm chuột được gây độc bằng CCl_4 , nồng độ GSH trong gan thấp hơn so với nhóm chứng sinh học. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

2. Sự thay đổi hoạt độ ALT, AST của nhóm chuột uống armynax và nhóm chuột uống eganin.

Bảng 3: Thay đổi hoạt độ ALT ở các nhóm nghiên cứu.

NHÓM NGHIÊN CỨU	n	HOẠT ĐỘ ALT (U/l)	TĂNG SO VỚI CHỨNG SINH HỌC
Chứng sinh học (1)	8	51,88 ± 15,72	-
Chứng gây độc (2)	8	181,38 ± 30,51	249,61%
Eganin (3)	8	161,25 ± 24,16	210,81%
Armynax (4)	8	156,88 ± 25,86	202,39%
p		$p_{2-1, 3-1, 4-1} < 0,01;$ $p_{3-2, 4-2} < 0,05; p_{4-3} > 0,05$	

Sau khi gây độc bằng CCl₄, hoạt độ ALT trong máu tăng rõ rệt so với nhóm chứng (p < 0,01). Trong khi đó, chuột được uống eganin và armynax, hoạt độ ALT ở 2 nhóm này chỉ tăng từ 3 - 4 lần so với nhóm chứng sinh học. Hoạt độ ALT ở nhóm chứng gây độc tăng khoảng 4 lần so với nhóm chứng sinh học (p < 0,01).

Bảng 4: Sự thay đổi hoạt độ AST ở các nhóm nghiên cứu.

NHÓM NGHIÊN CỨU	n	HOẠT ĐỘ AST (U/l)	TĂNG SO VỚI CHỨNG SINH HỌC
Chứng sinh học (1)	8	41,38 ± 7,27	-
Chứng gây độc (2)	8	162,38 ± 33,63	292,41%
Eganin (3)	8	145,50 ± 31,09	251,61%
Armynax (4)	8	147,63 ± 36,41	256,76%
p		$p_{2-1, 3-1, 4-1} < 0,01;$ $p_{3-2, 4-2} < 0,05; p_{4-3} > 0,05$	

Sau khi gây độc bằng CCl₄, hoạt độ AST trong máu tăng rõ rệt so với nhóm chứng (p < 0,01). Trong khi đó, chuột được uống eganin và armynax, tình trạng hủy hoại tế bào gan hạn chế hơn so với nhóm chuột gây độc nhưng không trị. Hoạt độ AST ở 2 nhóm này chỉ tăng từ 3 - 4 lần so với nhóm chứng sinh học. Hoạt độ AST ở nhóm gây độc nhưng không uống thuốc tăng khoảng 4 lần so với nhóm chứng (p < 0,01).

3. Sự thay đổi mô bệnh học gan chuột ở các nhóm nghiên cứu.

Bảng 5: Thay đổi trọng lượng gan ở các nhóm nghiên cứu.

NHÓM NGHIÊN CỨU	n	TRỌNG LƯỢNG GAN (mg/100g trọng lượng cơ thể)	TĂNG SO VỚI CHỨNG SINH HỌC
Chứng sinh học (1)	8	481,28 ± 84,31	-
Chứng gây độc (2)	8	636,65 ± 126,31	32,25%
Eganin (3)	8	543,81 ± 86,71	12,99%
Armynax (4)	8	566,45 ± 106,53	17,67%
p		$p_{2-1, 3-1, 3-2, 4-1, 4-2} < 0,05;$ $p_{4-3} > 0,05$	

So với nhóm chứng không gây độc, trọng lượng gan chuột ở tất cả các nhóm có gây độc đều tăng cao ($p < 0,05$). Trong khi đó, ở nhóm chuột được uống eganin và armynax thấy khối lượng gan của chuột tăng ít hơn so với nhóm chứng gây độc và không uống thuốc ($p < 0,05$). Không thấy sự khác biệt về trọng lượng gan tăng giữa 2 nhóm uống armynax và eganin ($p > 0,05$).

Kết quả nghiên cứu mô bệnh học gan chuột: ở chuột không gây độc, gan hồng, mịn. Ở chuột có gây độc, gan bị tổn thương nên màu sắc trắng bệch, bề mặt gan không còn mịn màng, có rất nhiều ổ hoại tử trên bề mặt, tổ chức gan mềm. So sánh với nhóm chứng gây độc, hai nhóm có uống thuốc màu sắc gan hồng hơn, bề mặt gan có nhiều ổ hoại tử rải rác, bề mặt gan mịn màng hơn. Ở nhóm chuột không gây độc, hình ảnh mô bệnh học gan bình thường, không có tổn thương thoái hóa tế bào gan và khoảng cửa bình thường. Ở nhóm chuột gây độc, nhưng không uống thuốc, gan bị tổn thương rõ nhất với hình ảnh nhiều tế bào gan bị hoại tử lan dần từ xung quanh tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy. Các xoang gan xung huyết, có nhiều xác tế bào Kuffer. Khoảng cửa sát lại gần nhau và có nhiều lympho và bạch cầu. Ở nhóm chuột nhất trắng gây độc nhưng có uống armynax và eganin, hình ảnh tổn thương mô bệnh học nhẹ hơn, số lượng tế bào gan bị hoại tử ít hơn.

Như vậy, qua kết quả quan sát từ hình ảnh đại thể của gan chuột ở các nhóm nghiên cứu cũng như kết quả về hình ảnh mô bệnh học đều chỉ ra tổn thương gan rõ nhất ở nhóm chuột gây độc không uống thuốc. Chuột ở nhóm chuột gây độc có uống armynax hoặc eganin, tổn thương gan giảm hơn, nhưng vẫn còn khi so sánh với chuột ở nhóm không gây độc.

Kết quả của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của nhiều tác giả khác. Từ kết quả ở bảng 3, 4 cho thấy: armynax có tác dụng làm giảm hoạt độ ALT và AST máu của động vật thí nghiệm hơn so với nhóm gây độc bằng CCl_4 , nhưng không điều trị. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của Nguyen T.D. (2002) về tác dụng bảo vệ tế bào gan của sâm Ngọc Linh trên mô hình gây độc tế bào gan bằng CCl_4 : hoạt độ ALT và AST đã giảm tới 52,2% so với nhóm gây độc nhưng không trị, sự thay đổi có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) [4].

Kết quả ở bảng 1, 2 cho thấy: khi gây độc bằng CCl_4 , nồng độ MDA trong gan tăng cao do gan bị độc làm tăng quá trình peroxid hóa lipid màng tế bào. Armynax đã làm giảm MDA rõ rệt so với lô gây độc không dùng thuốc, chứng tỏ có tác dụng chống oxy hóa, bảo vệ tế bào gan, làm giảm quá trình peroxid hóa lipid ở màng tế bào gan. Điều này phù hợp với kết quả của các tác giả trước đây khi đánh giá tác dụng chống oxy hóa của sâm Ngọc Linh tự nhiên. Nguyễn Thị Thu Hương (2006) cho thấy nồng độ MDA của nhóm chuột gây độc nhưng không trị tăng cao hơn so với nhóm chứng sinh lý. Nồng độ MDA của nhóm uống bột chiết thân rễ sâm Ngọc Linh và cao lá sâm Ngọc Linh đã giảm có ý nghĩa thống kê so với nhóm gây độc không trị [5].

KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy: viên nang armynax có tác dụng bảo vệ tế bào gan, làm giảm ALT và AST huyết tương, làm giảm MDA tạo ra ở gan, làm tăng GSH trong gan, giảm khối lượng gan bị viêm và giảm tổn thương gan trên mô hình chuột nhất trắng gây độc bằng CCl_4 .

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đỗ Huy Bích*. Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam. Nhà xuất bản Khoa học Kỹ thuật. 2003, tập 2, tr.704-710.
2. *Lê Văn Sơn, Trần Trinh An*. Nghiên cứu ảnh hưởng của flavonoid lá cây Đở ngọn lên một số chỉ số sinh học trên động vật thực nghiệm. Tạp chí Sinh lý học. 2003, Số 1, tập 7, tr.26-33.
3. *Nguyễn Liêm, Triệu Duy Điệt*. Nghiên cứu tác dụng chống oxy hoá, chống đông máu và một số tác dụng đối với hệ thần kinh trung ương của cây Đở ngọn. Tạp chí Dược liệu. 2002, Số 2, tập 7, tr.56-60.
4. *Nguyễn Thị Thu Hương, Bùi Thị Kim Cúc*. Tác dụng bảo vệ gan của sâm Việt Nam trong tổn thương gan thực nghiệm bằng ethanol. Nghiên cứu phát triển dược liệu và đông dược ở Việt Nam. Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật, 2006, tr.288-295.
5. *Nguyễn Văn Long*. Nghiên cứu xây dựng quy trình tạo khối tế bào và đánh giá một số tác dụng sinh học của sâm Ngọc Linh sinh khối. Luận án Tiến sĩ. 2010.
6. *Nguyễn Văn Nguyên*. Nghiên cứu bào chế ứng dụng các chế phẩm chống oxy hoá, chống lão hoá từ dược liệu trong nước, bảo vệ các đối tượng tiếp xúc với tác nhân độc hại. Báo cáo kết quả nghiên cứu đề tài độc lập cấp Nhà nước. 2003.
7. *Trần Lệ Quân, Shigetoshi Kadora*. Triterpen saponin từ cây sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis*) và hoạt tính bảo vệ gan. Hội nghị hóa học toàn quốc lần thứ IV. 2003, tr.24-27.
8. *Nguyen T.D, Villard P.H, Barlatier A, Elsisi A.E, Jouve E, Duc N.M, Sauze C, Durand A*. *Panax vietnamensis* protects mice against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity without any modification of CYP2E1 gene expression. *Planta Med.* 2000, 66 (8), pp.714-719.