



Original Article

Hepatoprotective Activities of *Colocasia esculenta* (L.) Schottin Mice Model with Liver Injury Induced by Paracetamol

Nguyen Quang Huy^{1,*}, Le Quy Thuong^{1,2}, Hoang Xuan Huy³, Tran Quoc Hung³,
Phi Thi Mai Huong³, Tran Quoc Viet³, Le Thi Phuong Hoa⁴

¹VNU University of Science, 334 Nguyen Trai, Thanh Xuan, Hanoi, Vietnam

²Phu Tho Obstetrics & pediatrics center, Nong Trang, Viet Tri, Phu Tho, Vietnam

³Phu Tho College of Medicine and Pharmacy, Gia Cam, Viet Tri, Phu Tho, Vietnam

⁴Hanoi National University of Education, 136 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

Received 24 May 2020

Revised 26 June 2020; Accepted 29 June 2020

Abstract: This paper uses the model of experimental mouse liver damage with paracetamol to evaluate the liver protective effects of the methanol extract (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) (MCE). After 8 days, the hepatoprotective activities of MCE in mice (damaged by paracetamol) at doses of 500, 1,000 and 2,000 mg/kg/day proved effective as the AST enzyme content decreased by 6.98, 22.84 and 26.59%, respectively; and ALT decreased by 53.17, 56.46 and 57.93%, respectively. MCE at a dose of 1,000 mg/kg/day had a protective effect equivalent to that of silymarin (used in liver treatment) at a dose of 50 mg/kg/day and MCE at a dose of 2,000 mg/kg/day had better effect. Observation of the microscopic liver tissue cross section also revealed that the mice treated with MCE of *C. esculenta* at doses of 1,000 and 2,000 mg/kg/day showed significantly improvement in their liver tissues compared to the non-treated control group.

Keywords: *Colocasia esculenta*, hepatoprotective, paracetamol.

* Corresponding author.

E-mail address: huyng@hus.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4244>

Tác dụng của cao chiết methanol cây Môn nước (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) với mô hình gây tổn thương gan bằng Paracetamol ở chuột

Nguyễn Quang Huy^{1,*}, Lê Quý Thương^{1,2}, Hoàng Xuân Huy³, Trần Quốc Hưng³,
Phí Thị Mai Hương³, Trần Quốc Việt³, Lê Thị Phương Hoa⁴

¹Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội,
334 Nguyễn Trãi, Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

²Trung tâm Sản nhi Phú Thọ, Nông Trang, Việt Trì, Phú Thọ, Việt Nam

³Trường Cao đẳng Y-Dược Phú Thọ, Gia Cẩm, Việt Trì, Phú Thọ, Việt Nam

⁴Trường Đại học Sư phạm Hà Nội, 136 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 24 tháng 5 năm 2020

Chỉnh sửa ngày 26 tháng 6 năm 2020; Chấp nhận đăng ngày 29 tháng 6 năm 2020

Tóm tắt: Mô hình gây tổn thương gan chuột bằng paracetamol được sử dụng để đánh giá tác dụng bảo vệ gan của cao chiết methanol cây Môn nước (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) (MCE). Sau 8 ngày, MCE liều 500, 1000 và 2000 mg/kg/ngày thể hiện hiệu quả bảo vệ gan ở chuột (đã tổn thương bằng paracetamol) khi hàm lượng enzym AST giảm tương ứng 6,98, 22,84 và 26,59% và enzym ALT giảm tương ứng 53,17, 56,46 và 57,93%. MCE liều 1000 mg/kg/ngày có tác dụng bảo vệ gan tương đương với silymarin liều 50 mg/kg/ngày (hiện đang được sử dụng trong điều trị viêm gan) và liều 2000 mg/kg/ngày cho thấy có tác dụng tốt hơn. Tiêu bản hiển vi lát cắt ngang gan chuột cho thấy mô gan của nhóm chuột tổn thương bởi paracetamol khi sử dụng MCE ở nồng độ 1000 và 2000 mg/kg trọng lượng được cải thiện tốt hơn so với nhóm chuột không được sử dụng.

Từ khóa: Môn nước, *Colocasia esculenta*, bảo vệ gan, paracetamol.

1. Mở đầu

Ở động vật, gan đóng vai trò quan trọng trong quá trình giải độc của cơ thể. Trong các trường hợp tổn thương gan hay xơ gan do bệnh lý, do tiếp xúc với các chất độc đều làm suy giảm khả năng giải độc của gan. Có nhiều loại tổn thương gan trong đó thường gặp là tổn thương do viêm mãn tính khi tiếp xúc lâu dài với các chất gây độc dẫn đến xơ gan và ung thư gan. Phần lớn các chất gây tổn thương cho gan đều tác động

vào quá trình peroxide hóa lipid màng tế bào gan và sinh ra các gốc tự do [1].

Để gây mô hình tổn thương gan ở chuột, người ta sử dụng các loại hóa chất như carbontetraclorid (CCl₄), paracetamol, ethanol, aflatoxin B₁,... Mỗi mô hình tổn thương gan đều có cơ chế đặc hiệu riêng [2,3] trong đó paracetamol (PAR) là tác nhân gây tổn thương gan phổ biến do tạo ra gốc tự do và gây peroxide hóa màng tế bào gan. Ngoài cơ chế sinh ra gốc tự do tương tự như tác nhân truyền thống gây độc

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: huynq@hus.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4244>

gan cấp tính là CCl_4 , paracetamol còn làm suy kiệt hệ thống chống oxy hóa của cơ thể. Paracetamol sau khi vào cơ thể, một phần bị chuyển hóa bởi các cytochrome P450 tạo thành N-acetylpara-benzoquinonimin (NAPQI), một gốc tự do gây peroxide hóa lipid và tạo malonyl dialdehyd (MDA) làm tổn thương các tế bào gan, tăng AST, ALT và làm biến đổi cấu trúc gan [4].

Môn nước (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) là loại cây được trồng chủ yếu ở các nước Đông Nam Á hay mọc hoang dại. Cây có củ làm lương thực, thức ăn cho người và gia súc [5]. Các dịch chiết từ cây Môn nước có tác dụng dược lý như chống viêm, kháng vi sinh vật, chống oxy hóa và chống ung thư [6]. Nhiều hợp chất trong cây Môn nước đã được tách chiết, xác định cấu trúc hoá học như: pelargonidin-3-glucoside, cyanidin-3-glucoside, vitexin, isovitexin, luteoin-7-O-sophoroside,... [7]. Một số hợp chất có hoạt tính sinh học đã được phân lập, xác định hoạt tính như các flavonoid, β -sitosterol, steroid [8,9].

Ở Việt Nam, việc sử dụng cây Môn nước trong điều trị một số bệnh đã được nghiên cứu, tìm hiểu [10]. Tuy nhiên, các nghiên cứu về thành phần hóa học, tác dụng sinh học của cây Môn nước vẫn còn rất hạn chế. Trong khuôn khổ bài báo, chúng tôi trình bày các kết quả nghiên cứu về tác dụng tăng cường và bảo vệ chức năng gan trên mô hình gây tổn thương gan chuột *Swiss albino* bằng paracetamol của cao chiết methanol cây Môn nước.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng, nguyên liệu

Phần trên mặt đất cây Môn nước (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) được thu hái vào tháng 6/2019 tại Thanh Sơn, Phú Thọ và được phân loại, định danh bởi Nguyễn Anh Đức, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội. Các mẫu sau khi thu hái về được rửa sạch, loại bỏ phần hư hỏng, phơi khô và nghiền thành bột mịn. 2 kg bột mịn được ngâm chiết

bằng methanol, cô quay loại dung môi dưới áp suất giảm thu được cao chiết methanol (MCE).

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss albino*, khoẻ mạnh, khối lượng 22g, 5-6 tuần tuổi do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Chuột được nuôi ổn định 1 tuần trong điều kiện thí nghiệm với chu kỳ 12 giờ sáng/12 giờ tối.

2.2. Thiết bị và hóa chất nghiên cứu

Thiết bị chính được sử dụng gồm máy cô quay chân không (Heidolph, Đức), máy cắt microtome (Leica, Đức), kính hiển vi (Olympus, Nhật Bản), cân phân tích (Mettler Toledo, Thụy Sĩ), tủ sấy (Mettmert, Đức). Hệ thống định lượng sinh hoá bán tự động AU680 (Beckman Coulter, Mỹ) được sử dụng định lượng AST, ALT toàn phần trong huyết thanh.

Các hóa chất silymarin (Legalon), paracetamol (A7085, Sigma Aldrich) tinh khiết dạng bột và các hoá chất khác đảm bảo độ tinh sạch cho phân tích nghiên cứu.

2.3. Các phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp nghiên cứu độc tính cấp

Độc tính cấp của cao chiết MCE được nghiên cứu trên chuột theo hướng dẫn của Đỗ Trung Đàm [11] và giá trị LD_{50} được tính theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon [12].

Cách làm: chia ngẫu nhiên chuột thành 6 lô, mỗi lô 8 con. Lô đối chứng uống nước cất, các lô thí nghiệm uống cao MCE với liều tương ứng 20; 80; 120; 160; 240 g bột Môn nước/kg thể trọng. Trước thí nghiệm chuột nhịn ăn 12 giờ và được uống nước tự do. Mỗi chuột được uống 3 giờ/lần \times 3 lần/ngày. Nước cất và cao chiết đưa thẳng vào dạ dày chuột bằng kim cong đầu tù với thể tích tối đa 10 ml/kg thể trọng chuột. Theo dõi tình trạng chung của chuột và số lượng chuột chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc lần cuối. Xác định liều cao nhất không gây chết chuột (0%), liều thấp nhất gây chết chuột hoàn toàn (100%) và liều trung gian, từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính xác định LD_{50} của cao chiết.

Theo dõi tình trạng chung của chuột (hoạt động, ăn uống, bài tiết,...) ở mỗi lô cho đến hết

7 ngày sau uống thuốc. Tiến hành phẫu tích, quan sát tình trạng các tạng ngay khi có chuột chết để đánh giá tổn thương mô bệnh học các cơ quan.

2.3.2. Mô hình gây tổn thương gan thực nghiệm bằng paracetamol

Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan của cao MCE trên mô hình gây tổn thương gan thực nghiệm bằng paracetamol (PAR) [13].

Paracetamol (PAR) được pha trong H₂O với nồng độ 50 mg/mL. Gây tổn thương gan bằng PAR với liều 400 mg/kg. Chuột được chia thành 6 lô, mỗi lô 6 con. *Lô 1*: uống DMSO 10% với liều lượng 0,2 mL/con/ngày (lô chứng sinh học); *Lô 2*: uống DMSO 10% + PAR (lô bệnh lý); *Lô 3, lô 4 và lô 5*: chuột được uống DMSO 10% + PAR và cao MCE với liều tương ứng 500, 1000 và 2000 mg/kg/ngày (các lô thí nghiệm); *Lô 6*: uống DMSO 10% + PAR + silymarin 50 mg/kg/ngày (lô đối chứng dương).

Chuột ở các lô được uống nước hoặc cao chiết trong khoảng 8 - 9 giờ buổi sáng liên tục trong 8 ngày. Ngày thứ 8, chuột nhịn đói 16 - 18 giờ sau đó cho uống cao chiết. Sau khi uống 3 giờ, gây tổn thương gan chuột ở các lô từ 2 đến 6 bằng cách cho chuột uống PAR một liều duy nhất 400 mg/kg thể trọng. Sau 1 giờ, chuột được ăn uống bình thường. Sau 48 giờ, máu động mạch cảnh chuột được lấy để định lượng hoạt độ enzym AST, ALT toàn phần trong huyết thanh.

Phương pháp xác định chức năng gan

Chức năng gan được xác định thông qua định lượng hoạt độ của aminotransferase [aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT)] toàn phần trong huyết thanh chuột trên hệ thống AU680 của hãng Beckman Coulter.

Phương pháp kiểm tra trực quan gan: sau khi lấy máu xét nghiệm, chuột được mổ để đánh giá ảnh hưởng của cao chiết tới khối lượng gan, quan sát đại thể và chụp ảnh gan.

Phương pháp làm tiêu bản vi thể tế bào gan: gan chuột sau khi mổ được cố định bằng formol 10%, xử lý và nhuộm hematoxylin-eosin [14].

Phương pháp xác định MDA dịch đồng thể gan [15]: cân 0,25g gan chuột được nghiền với 6 ml dung dịch KCl 0,12%. 1ml dung dịch nghiền

được bổ sung 0,25ml acid ascorbic, 0,25 ml muối Mohr và ủ 37°C trong 30 phút. Bổ sung 0,5ml acid tricloacetic, ly tâm thu dịch để đun sôi 20 phút và đo mật độ quang ở bước sóng 532nm.

Hàm lượng MDA (nM/mL) được tính theo phương trình hồi quy xây dựng với chất chuẩn MDA: $y = 0,0637x - 0,0029$ ($R^2 = 0,9981$).

Hàm lượng MDA (nM/mL dịch đồng thể) = $(OD_{\text{thử}} + 0,0029)/0,0637$.

$$X = m_{\text{gan}} / m_{\text{chuột}}$$

Trong đó: m_{gan} : khối lượng gan; $m_{\text{chuột}}$: khối lượng chuột trước khi mổ.

2.3.4. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý trên excell, thuật toán thống kê Student's t-test, F'test, phương pháp phân tích phương sai một nhân tố ngẫu nhiên (ANOVA) và sử dụng hệ số LSD (least significant difference) để kiểm tra sự sai khác có ý nghĩa so với đối chứng sinh lý, với đối chứng bệnh lý, với đối chứng tham khảo (silymarin). Nếu $p < 0,05$ kết quả được coi là sai khác có ý nghĩa thống kê, nếu $p > 0,05$ thì sự sai khác là không có ý nghĩa thống kê.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Nghiên cứu độc tính cấp đường uống

Sau khi uống cao MCE ở các liều từ 20- 240 g/kg/ngày chuột được theo dõi, quan sát hành vi của chuột ngay sau uống thấy chuột giảm vận động, hơi lơ lơ. Sau đó, chuột không có biểu hiện gì đặc biệt, chuột ăn uống, vận động bình thường, không bị khó thở. Tuy nhiên một số chuột bị tiêu chảy ở các liều từ 160g - 240g/kg/ngày. Do vậy, liều tối đa có thể cho chuột uống là 0,25 ml cao methanol/10g thể trọng, 3 lần trong 24 giờ, tương ứng với 75 ml cao methanol/kg thể trọng chuột, tương đương 240g bột khô/kg. Đây cũng là thể tích tối đa có thể cho uống trên chuột nhắt trắng và là nồng độ cao nhất có thể cho được chuột uống bằng kim đầu tù chuyên dụng.

Nghiên cứu không quan sát thấy hiện tượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống cao

chiết MCE. Tiếp tục theo dõi trong 7 ngày sau khi uống không phát hiện thấy chuột có hành vi bất thường, các hoạt động sinh hoạt, ăn uống và phát triển bình thường như nhóm đối chứng. Do vậy, chúng tôi không xây dựng được đồ thị hồi qui tuyến tính giữa liều lượng thuốc và tỷ lệ chuột chết ở các liều dùng khác nhau, không xác định được LD₅₀ của cao MCE theo đường uống trên chuột nhắt trắng bằng phương pháp Litchfield – Wilcoxon.

3.2. Tác dụng của cao MCE lên hoạt độ AST, ALT toàn phần trong huyết thanh chuột

Sau thí nghiệm, chuột ở các lô được lấy máu để kiểm tra hoạt độ AST, ALT toàn phần trong huyết thanh. Kết quả hoạt độ AST và ALT của từng chuột trong các lô được xác định ở Bảng 1.

Kết quả Bảng 1 cho thấy hoạt độ AST và ALT ở lô đối chứng bệnh lý (lô 2) tăng cao rõ rệt

so với lô chứng sinh học (lô 1) ($p < 0,05$). Các lô chuột uống cao MCE ở cả 3 liều 500, 1000 và 2000 mg/kg/ngày (lô 3, lô 4 và lô 5) trong 8 ngày trước khi gây độc gan thì hoạt độ enzyme AST đã giảm so với lô bệnh lý (lô 2) và tương đương với lô đối chứng dương (lô 6), không khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Trong khi đó ở cả ba mức liều sử dụng cao MCE hoạt độ enzyme ALT giảm mạnh so với lô bệnh lý và tốt hơn so với lô đối chứng dương. Như vậy, so với sử dụng silymarin liều 50 mg/kg/ngày trong mô hình gây tổn thương gan bằng PAR, cao MCE có tác dụng tốt tương đương với hoạt độ enzyme AST ($p < 0,05$) và tốt hơn với hoạt độ enzyme ALT ($p < 0,05$).

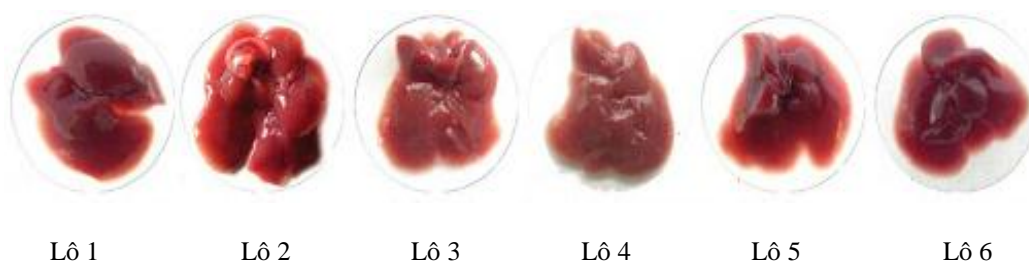
So sánh 3 lô thí nghiệm (lô 3, 4 và 5) cho thấy lô 3 (liều 500 mg/kg/ngày) làm giảm hoạt độ enzyme AST và ALT kém hơn các lô 4 và 5 ($p > 0,05$).

Bảng 1. Hoạt độ enzyme AST và ALT toàn phần trong huyết thanh chuột

Lô	Điều kiện thí nghiệm	Hoạt độ AST trung bình (U/L)	Hoạt độ ALT trung bình (U/L)	Tỷ lệ giảm AST (%)	Tỷ lệ giảm ALT (%)
1	DMSO 10%	70,01 ± 5,11	39,63 ± 8,36	-	-
2	DMSO 10% + PRA 400 mg/kg/ngày	120,03 ± 3,75 $p < 0,05$ so với lô 1	150,00 ± 23,50 $p < 0,05$ so với lô 1	0	0
3	Cao chiết MCE liều 500 mg/kg/ngày	111,65 ± 13,61 $p < 0,05$ so với lô 2 $p < 0,05$ so với lô 6 $p > 0,05$ so với lô 4 và 5	70,25 ± 11,21 $p < 0,05$ so với lô 2 $p < 0,05$ so với lô 6 $p > 0,05$ so với lô 4 và 5	6,98	53,17
4	Cao chiết MCE liều 1000 mg/kg/ngày	92,61 ± 11,83 $p < 0,05$ so với lô 2 $p < 0,05$ so với lô 6	65,31 ± 7,55 $p < 0,05$ so với lô 2 $p < 0,05$ so với lô 6	22,84	56,46
5	Cao chiết MCE liều 2000 mg/kg/ngày	88,11 ± 18,53 $p < 0,05$ so với lô 2 $p < 0,05$ so với lô 5	63,11 ± 9,37 $p < 0,05$ so với lô 2 $p < 0,05$ so với lô 6	26,59	57,93
6	Silymarin liều 50 mg/kg/ngày	89,71 ± 4,05 $p < 0,05$ so với lô 1 $p > 0,05$ so với lô 2	73,62 ± 9,38 $p < 0,05$ so với lô 1 $p < 0,05$ so với lô 2	25,26	50,92

Bảng 2. Sự biến đổi khối lượng gan chuột ở các lô thí nghiệm

Lô	Điều kiện thí nghiệm	Khối lượng gan (g/10 g cơ thể)	Mức ý nghĩa (p)
1	DMSO 10%	0,392 ± 0,007	-
2	DMSO 10% + PRA 400 mg/kg	0,510 ± 0,081	p < 0,05 so với lô 1
3	Cao MCE 500 mg/kg/ngày	0,427 ± 0,056	p < 0,05 so với lô 2 p > 0,05 so với lô 6
4	Cao MCE 1000 mg/kg/ngày	0,415 ± 0,033	p < 0,05 so với lô 2 p > 0,05 so với lô 6
5	Cao MCE 2000 mg/kg/ngày	0,433 ± 0,041	p < 0,05 so với lô 2 p > 0,05 so với lô 6
6	Silymarin 50 mg/kg/ngày	0,417 ± 0,036	p < 0,05 so với lô 2 p > 0,05 so với lô 1



Hình 1. Ảnh tổng thể của gan chuột trong các lô thí nghiệm.

Chú thích: Lô 1: gan màu đỏ, mặt nhẵn, mật độ mềm, không phù nề, không sung huyết, Lô 2: gan màu đỏ thẫm, phù nề, sung huyết, bề mặt không nhẵn, có chỗ bị hoại tử và bạc màu, Lô 3: gan nhạt màu, phù nề, sung huyết nhẹ, bề mặt gan có một vài chấm xuất huyết, Lô 4: gan nhạt màu, bề mặt nhẵn có vài điểm tổn thương và xung huyết nhẹ, Lô 5: gan hồng mịn, bề mặt nhẵn, xung huyết nhẹ, không thấy tổn thương, Lô 6: gan hồng mịn, bề mặt nhẵn có vài điểm tổn thương, xung huyết nhẹ.

3.3. Tác dụng của cao MCE lên với các chỉ số gan chuột

Tác dụng lên khối lượng gan

Sự biến đổi khối lượng gan ở các lô thí nghiệm được trình bày trong Bảng 2.

Kết quả kiểm tra cho thấy khối lượng gan tương đối ở lô bệnh lý (lô 2), khi không sử dụng hoạt chất bảo vệ, gan có khối lượng tăng rõ rệt so với lô chứng sinh học (lô 1) ($p < 0,05$), trong khi đó, ở các lô có sử dụng cao MCE ở các liều 500, 1000, 2000 mg/kg/ngày và silymarin 50 mg/kg/ngày, khối lượng gan đều giảm so với lô chứng bệnh lý (lô 2). Tuy nhiên kết quả khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2. Tác dụng lên cấu trúc đại thể gan

Ảnh hưởng của cao chiết lên đại thể gan chuột ở các lô được thể hiện ở Hình 1. Kiểm tra đại thể gan giữa các lô cho thấy các lô chuột uống cao MCE và lô đối chứng dương uống silymarin biểu hiện tổn thương gan có giảm so với lô chứng bệnh lý (lô 2). Đặc biệt, lô 5 chuột uống cao MCE liều 2000 mg/kg/ngày và lô 6 uống silymarin 50 mg/kg/ngày, hình thái bên ngoài và màu sắc gan đã phục hồi, biểu hiện gan sáng hồng, bề mặt nhẵn, gần như không quan sát thấy biểu hiện tổn thương gan (Hình 1).

Kết quả quan sát hình thái gan cho rõ thấy lô sử dụng cao MCE ở các liều uống đều có tác dụng tốt đến khả năng bảo vệ gan trên mô hình gây độc gan chuột bằng paracetamol (Hình 1).

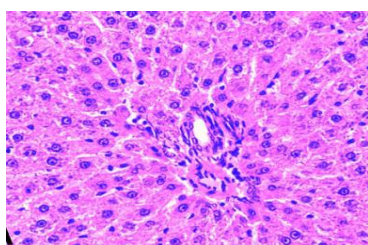
3.3. Tác dụng của cao MCE lên sự thay đổi mô bệnh học gan chuột gây độc bằng paracetamol

Phân tích mô bệnh học cung cấp bằng chứng bổ sung cho việc điều trị bằng cao MCE đã cải thiện được hình thái mô gan chuột gây độc bởi PAR. Ở lát cắt gan chuột lô chứng sinh học (lô 1) các tế bào gan tròn đều xếp khít nhau tạo thành các dây tế bào gan hướng tĩnh mạch trung tâm, nhìn rõ được xoang gan. Ở các lát cắt gan lô bệnh lý (lô 2) có sự thay đổi cấu trúc so với gan bình thường. Nhiều tế bào gan bị tổn thương và mất đi cấu trúc đặc trưng (Hình 2).

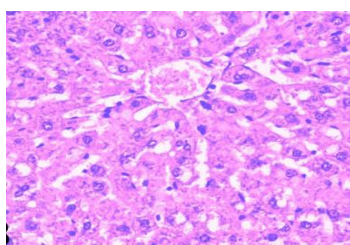
Tế bào gan tích trữ nhiều giọt lipid, tế bào trở nên trương phồng và nhiễm mỡ màng của hai tế

bào liền kề bị dính lại với nhau, dẫn đến không xác định được vị trí của xoang gan.

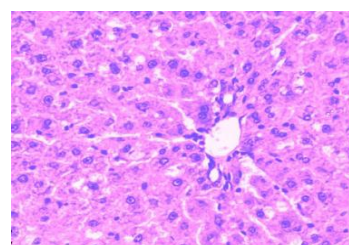
Ngược lại, ở các lô thí nghiệm uống PAR và uống thêm silymarin hoặc cao MCE có sự phục hồi được cấu trúc tế bào gan. Nhóm chuột uống PAR và uống silymarin có các tế bào gan xếp thành dãy hướng tĩnh mạch, quan sát được xoang gan. Tế bào gan không trương phồng có nhân tròn đều. Các tổ chức thực bào giảm rõ rệt, tập trung chủ yếu quanh các cấu trúc mạch, chứng tỏ hiệu quả bảo vệ gan của silymarin. Nhóm chuột uống PAR và uống thêm cao MCE liều 500, 1000 và 2000 mg/kg/ngày chuột đều có dấu hiệu phục hồi của tế bào gan.



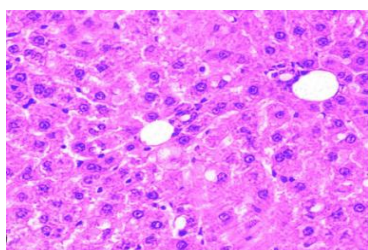
Lô 1: gan bình thường



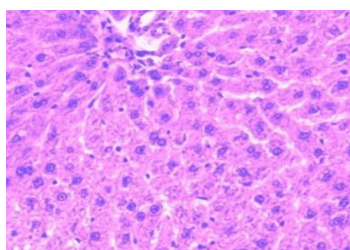
Lô 2: gan thoái hóa nặng



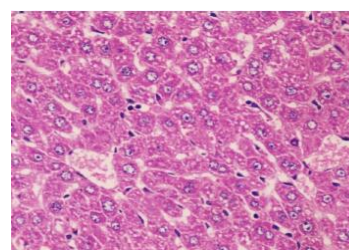
Lô 3: gan thoái hóa vừa



Lô 4: gan thoái hóa nhẹ



Lô 5: gan thoái hóa nhẹ



Lô 6: gan thoái hóa nhẹ

Hình 2. Ảnh tiêu bản vi thể tế bào gan chuột ở các lô thí nghiệm.

Đối với nhóm chuột uống PAR được điều trị bằng cao MCE liều 500 mg/kg/ngày, trong gan các tế bào không nhân đã giảm cũng như các giọt lipid trong các tế bào đã giảm nhiều nhưng vẫn còn nhiều tổ chức thực bào. Ở nhóm chuột uống PAR được điều trị bằng cao MCE liều 1000 mg/kg/ngày, nhân tế bào gan tròn đều, giảm sự

tích trữ các giọt lipid trong các tế bào, quan sát được hướng của các dây gan tỏa ra từ tĩnh mạch. Các tổ chức thực bào đã giảm xuống đáng kể. Ở nhóm chuột uống PAR được điều trị bằng cao MCE liều 2000 mg/kg/ngày, mô gan được cải thiện tương tự liều 1000 mg/kg/ngày (Hình 2).

Bảng 3. Hàm lượng MDA trong các mẫu gan ở các lô chuột thí nghiệm

Lô	Điều kiện thí nghiệm	MDA (mM/mL)	MDA tăng so với lô 1 (lần)	Mức ý nghĩa (p)
1	DMSO 10%	3,853 ± 0,31	0	-
2	DMSO 10% + PRA 400 mg/kg	10,324 ± 0,87	2,68	p < 0,05 so với (lô 1)
3	Cao MCE 500 mg/kg/ngày	8,563 ± 0,55	2,23	p > 0,05 so với (lô 2) p > 0,05 so với (lô 6)
4	Cao MCE 1000 mg/kg/ngày	5,721 ± 0,41	1,49	p < 0,05 so với (lô 2) p > 0,05 so với (lô 6)
5	Cao MCE 2000 mg/kg/ngày	4,857 ± 0,62	1,26	p < 0,05 so với (lô 2) p > 0,05 so với (lô 6)
6	Silymarin 50 mg/kg/ ngày	6,019 ± 0,58	1,56	p < 0,05 so với (lô 2) p > 0,05 so với (lô 1)

3.4. Tác động của MCE lên hàm lượng MDA trong gan

Hàm lượng MDA trong gan được trình bày ở bảng 3 cho thấy khi chuột được uống cao MCE liều 1000 và 2000 mg/kg/ngày (lô 4 và lô 5) và silymarin (lô 6) thì hàm lượng MDA trong gan thấp hơn so với đối chứng (lô 2) và sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Lô 3 uống cao MCE liều 500 mg/kg/ngày hàm lượng MDA trong gan cũng được cải thiện so với lô bệnh lý (lô 2) không được sử dụng hoạt chất bảo vệ, tuy nhiên sự sai khác chưa có ý nghĩa thống kê so với đối chứng dương ($p > 0,05$) (Bảng 3).

Cao MCE ở các liều uống thí nghiệm đều có tác dụng bảo vệ gan. Với liều 1000 mg/kg/ngày thể hiện tác dụng bảo vệ gan tương đương với silymarin liều 50 mg/kg/ngày, còn ở liều 2000 mg/kg/ngày có tác dụng bảo vệ tốt hơn so với silymarin liều 50 mg/kg/ngày.

4. Bàn luận

Cơ sở tính toán liều thử độc tính cấp của cao chiết dược liệu dựa theo phương pháp ngoại suy liều của Đỗ Trung Đàm. Liều thử độc tính cấp bằng đường uống trên chuột nhắt trắng tối đa 240 g dược liệu/kg/ngày chuột gấp 12 lần liều sử dụng điều trị thông thường của cao chiết Môn nước trên người. Với mức liều từ 20 - 240 g dược

liệu khô/kg thể trọng chuột chưa xác định được LD₅₀ của cao MCE trên chuột nhắt trắng theo đường uống ở mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24 giờ. Điều này chứng tỏ rằng cao MCE theo đường uống ít có độc tính và có độ an toàn rộng.

Kết quả nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan của cao MCE lên hoạt độ enzym ALT, AST toàn phần cho thấy lô chuột không uống hoạt chất bảo vệ (lô 2) có hoạt độ AST, ALT trong huyết thanh tăng cao và thể hiện tổn thương gan rõ rệt (quan sát đại thể và vi thể so với lô chứng sinh lý không sử dụng PAR). Các lô chuột uống cao MCE ở các liều 500, 1000 và 2000 mg/kg/ngày trong vòng 8 ngày trước khi gây độc gan đã làm giảm hoạt độ AST, ALT trong huyết thanh, giảm trọng lượng gan tương đối và tổn thương gan so với lô đối chứng bệnh lý. Đặc biệt, các lô chuột uống cao MCE liều 1000 và 2000 mg/kg/ngày có tác dụng ngăn cản rõ độc tính của PAR đối với gan, tương đương với đối chứng tham khảo (silymarin liều 50 mg/kg thể trọng). Kết quả nghiên cứu hình thái đại thể gan chuột, ở cả ba lô chuột thực nghiệm uống cao MCE cho thấy kích thước, mật độ nhu mô không có biểu hiện khác biệt so với lô chứng.

Nghiên cứu cấu trúc vi thể thấy ở các nhóm chuột uống PAR và uống thêm cao MCE liều 500, 1000 và 2000 mg/kg/ngày chuột đều có dấu hiệu phục hồi của tế bào gan, các thùy gan và bè gan không thay đổi về cấu trúc. Tế bào gan không có tổn thương thoái hóa. Tĩnh mạch trung

tâm không giãn, không xung huyết, khoảng cửa không có xâm nhập viêm.

Như vậy, cao MCE ở các liều 500, 1000 và 2000 mg/kg/ngày có tác dụng bảo vệ gan thông qua tác dụng làm giảm hoạt độ AST, ALT và hạn chế một phần tổn thương gan gây ra do PAR trên mô hình chuột nhắt trắng. Trong đó, cao MCE liều 1000 mg/kg/ngày thể hiện tác dụng bảo vệ gan tương đương với silymarin liều 50 mg/kg/ngày, còn ở liều 2000 mg/kg/ngày có tác dụng bảo vệ tốt hơn so với silymarin liều 50 mg/kg/ngày trong thí nghiệm này. Tác dụng bảo vệ gan của cao methanol của Môn nước cũng phù hợp với những kết quả của một số nghiên cứu trước đây. Chinonyelum và cộng sự đã đánh giá tác dụng bảo vệ gan của dịch chiết nước lá *Colocasia esculenta* (L.) Schott (WCE) với liều 250 và 500 mg/kg/ngày trên mô hình gây tổn thương gan chuột bằng thioacetamide. Kết quả phân tích sinh hóa máu cho thấy cả 2 liều dịch chiết WCE đều làm giảm đáng kể hoạt độ AST, ALT và ALP huyết thanh ($p < 0,05$) khi so sánh với nhóm đối chứng sinh học. Phân tích mô bệnh học gan cho thấy hoạt tính của dịch chiết WCE tương đương với silymarin liều 50 mg/kg/ngày [16]. Trên hình gây tổn thương gan chuột bằng carbon tetrachloride (CCl_4) Dayo và cộng sự đã sử dụng dịch chiết nước lá *Colocasia esculenta* (L.) Schott (WCE) để đánh giá tác dụng bảo vệ gan bị tổn thương do CCl_4 gây ra ở các liều 100, 200, 400 mg/kg/ngày. Phân tích huyết học cho thấy dịch chiết WCE ở tất cả các mức liều trên đều làm giảm hoạt độ AST, ALT và ALP huyết thanh và gia tăng số lượng tế bào hồng cầu, bạch cầu và hemoglobin ($p < 0,05$) [17].

5. Kết luận

Cao chiết methanol của Môn nước với liều 1000 và 2000 mg/kg/ngày có khả năng bảo vệ gan ở mô hình gây tổn thương gan bằng paracetamol ở chuột, làm giảm hoạt độ enzym ALT, AST và cải thiện cấu trúc mô học gan.

Tài liệu tham khảo

- [1] S. Shahani. Evaluation of hepatoprotective efficacy of APCL-A poly herbal formulation *in vivo* in rats, *Indian Drugs*. 36(1999) 628-631.
- [2] Y. Cui, X. Yang, X. Lu, J. Chen, Y. Zhao. Protective effects of polyphenols-enriched extract from Huangshan Maofeng green tea against CCl_4 -induced liver injury in mice, *Chemico- Biological Interactions* 220 (5) (2014) 75-83. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.06.018>
- [3] K.C. Choi, W.T. Chung, J.K. Kwon, J.Y. Yu, Y.S. Jang, S.M. Park, S.Y. Lee, J.C. Lee. Inhibitory effects of quercetin on aflatoxin B1 induced hepatic damage in mice, *Food Chemical Toxicology*, 48 (10) (2010) 2747-2753 . <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.07.001>
- [4] E.S. Sabina, J. Samue, S.R. Ramya, S. Patel, N. Mandal, P. Preeti, P.P. Mishra, M.K. Rasool. Hepatoprotective and antioxidant potential of *Spirulina fusiformis* on acetaminophen induced hepatotoxicity in mice, *International Journal of Integrative Biology* 6 (1) (2009) 1-5. <http://ijib.classicus.com/.../1501.pdf>
- [5] P.H. Ho. Vietnamese plants, episode III. Young Publishing House, (1999), pp. 353 (in Vietnamese).
- [6] C.O. Eleazu, M. Iroaganachi, K.C. Eleazu. Ameliorative potentials of cocoyam (*Colocasia esculenta* L.) and unripe plantain (*Musa paradisiaca* L.) on the relative tissue weights of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Diabetes Research*, 197 (2013), <https://doi.org/10.1155/2013/160964>.
- [7] R.C. Cambie, L.R. Ferguson. Potential functional foods in the traditional Maori diet. *Mutation Research Letters* 523-524 (2003) 109-117. [https://doi.org/10.1016/s0027-5107\(02\)00344-5](https://doi.org/10.1016/s0027-5107(02)00344-5)
- [8] C.L. Abraham, K. Yoshinori, T. Masakuni, I. Hironori, O. Hirotsuke, T. Hajime. Flavonoid glycosides in the shoot system of Okinawa Taumu (*Colocasia esculenta* S). *Food Chemistry* 119 (2010) 630- 635. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.004>
- [9] P.J. Bouic, D. Etsebeth, R.W. Liebenberg, C.F. Albrecht, K. Pegel, J.P.P. Van. Beta sitosterol and beta sitosterol glycoside stimulate human peripheral blood lymphocyte proliferation: Implications for their use as an immunomodulatory vitamin combination. *International Journal of Immuno-pharmacology* 18 (12) (1996) 693-700. [https://doi.org/10.1016/S0192-0561\(97\)85551-8](https://doi.org/10.1016/S0192-0561(97)85551-8).

- [10] V.V. Chi. Dictionary of Vietnamese medicinal plants. Medical Publishing House (1997), pp. 871-873 (in Vietnamese).
- [11] D.T. Dam. Method of determining drug toxicity. Medical Publishing House, Hanoi (2014), pp. 11-137 (in Vietnamese).
- [12] J.T. Litchfield, F. Wilcoxon. A simplified method of evaluating dose-effect experiments, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 96 (2) (1949) 99-113. PMID: 18152921
- [13] D.T. Nhu, D.T. Dam, P.D. Mai. Method research of the pharmacological effect of drugs from medicinal herbs, Science and Technics Publishing House, Hanoi (2006), pp. 142 (in Vietnamese).
- [14] A. Godwin. Histochemical uses of haematoxylin - A Review. *JPCS* 1 (2011) 24-34.
- [15] H.T.T. Huyen, T.N.H. Thu, N.T. An. Some results of plan microscopic studies and chemical composition of *Bombax malabaricum* DC., Bombacaceae, Proceeding Pharma Indochina VII, 10/2011, The 7th Indochina Conference on Pharmaceutical science, Bangkok, Thai Lan (2011) 270-274.
- [16] A.N. Chinonyelum, A.P. Uwadiogwu, O.C. Nwachukwu, O. Emmanuel. Evaluation of hepatoprotective activity of *Colocasia esculenta* (L. Schott) leaves on thioacetamide-induced hepatotoxicity in rats. *Pakistan Journal Pharmaceutical Sciences*, 28 (6S) (2015) 2237-2241.
- [17] O.F. Dayo, B.C. Eluke, E.O. Ukaejiofo, O.L. Olayinka, C.I. Johnpaul, O.A.K. Tajudeen, I. Chinwe, L.S. Adetona. Hepatoprotective and haematopoietic modulatory efficacy of leaf extract of *Colocasia esculenta* in Albino wistar rats. *International Journal of Tropical Medicine* 12 (3-6) (2017) 35-41.
<https://doi.org/3923/ijtmed.2017.35.41>.