

ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG BẢO VỆ GAN CỦA DỊCH CHIẾT CHÙM NGÂY (*Moringa oleifera*) TRÊN CHUỘT GÂY TỔN THƯƠNG GAN BẰNG CARBON TETRACHLORIDE (CCl₄)

Phí Thị Cẩm Miện^{1*}, Trần Văn Thái², Đồng Huy Giới¹, Bùi Thị Thu Hương¹, Đỗ Thị Thảo³

¹Học viện Nông nghiệp Việt Nam; ²Công ty cổ phần Dược phẩm quốc tế
³Viện Công nghệ sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Email*: mienbmtvat@gmail.com

Ngày gửi bài: 05.01.2017

Ngày chấp nhận: 07.04.2017

TÓM TẮT

Nghiên cứu đánh giá khả năng chống oxy hóa và bảo vệ gan của dịch chiết rễ cây chùm ngây. Chuột thuần chủng BALB/c bị gây độc gan cấp bằng carbon tetrachloride (CCl₄) sau đó được cho uống dịch chiết chùm ngây để đánh giá khả năng bảo vệ gan. Trong các thí nghiệm, dịch chiết rễ chùm ngây được thử nghiệm ở liều 0,5 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày (tương ứng với 2 g bột rễ/kg thể trọng) và silymarin (50 mg/kg khối lượng cơ thể/ngày). Kết quả cho thấy sau 14 ngày cho uống hoạt độ AST, ALT, LDH và bilirubin toàn phần trong huyết thanh giảm xuống tương tự so với các lô chuột uống silymarin. Kết quả phân tích vi thể và đại thể gan chuột cho thấy dịch chiết chùm ngây có hiệu quả bảo vệ tích cực tương tự như silymarin. Kết quả thu được từ nghiên cứu này đã mở ra khả năng sử dụng dịch chiết từ rễ cây chùm ngây để làm thuốc bảo vệ gan.

Từ khóa: Bảo vệ gan, *Moringa oleifera*, carbon tetrachloride, dịch chiết rễ

Hepatoprotective Activities of *Moringa* Boiled (*Moringa oleifera*) Aqueous Water in Balb/C Mice Model with Liver Injury Induced by Carbon Tetrachloride (CCl₄)

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the hepatoprotective and antioxidant effects of the root extract (RE) of *Moringa oleifera*. BALB/c mice were induced for liver damage by carbon tetrachloride in and subsequently administered by RE as a protection. In the experiments, the RE and silymarin were used at the doses of 0,5 ml (2,0 gram root powder) and 50 mg per kg of body weight, respectively. The results showed that after 14 days of administration, a reduction of the level of liver enzymes AST, ALT, LDH and total bilirubin was observed similar to the case of silymarin. Micro and macro-analysis of liver showed positive effects of both RE and silymarin in liver protection. This study suggested the potential application of RE in liver protection.

Keywords: Liver protection, carbon tetrachloride, *Moringa oleifera*, root extract.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

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 hoặc do tiếp xúc với các chất độc đều làm suy giảm khả năng giải độc của gan. Có nhiều loại tổn thương gan, thường gặp nhất 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 độc cho gan đều tham gia vào quá trình peroxide hóa lipid màng tế bào gan và các yếu tố gây oxy hóa khác (Amina *et al.*, 2012; Ashraf *et al.*, 2012).

Trong thực nghiệm, để gây tổn thương gan trên chuột thí nghiệm, một số nhóm hợp chất thường được sử dụng như paracetamol, carbon tetrachloride (CCl₄), D-galactosamin, ethanol, erythromycin estolate hoặc aflatoxin, trong đó CCl₄ được sử dụng phổ biến làm tác nhân gây

tổn thương gan do chất này tạo ra gốc tự do gây ra hiện tượng peroxy hóa màng tế bào gan trong thời gian ngắn (Cui *et al.*, 2014; Choi *et al.*, 2010). Ngoài ra, chất này còn làm suy kiệt hệ thống chống oxy hóa của cơ thể do làm giảm các gốc thiol. Sau khi vào cơ thể, CCl₄ bị chuyển hóa một phần bởi các cytochrome P450 tạo thành N-acetyl para-benzoquinonimin gây peroxy hóa lipid và sinh ra malonyl dialdehyd dẫn đến tổn thương các tế bào gan. Kết quả sẽ làm tăng hàm lượng các enzyme (men gan) như aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT) và làm biến đổi cấu trúc gan (Narayan *et al.*, 2008).

Cho đến nay, việc thử nghiệm dịch chiết thực vật để tìm ra các hợp chất mới có khả năng trung hòa gốc tự do, điều tiết men gan và bảo vệ gan vẫn thu hút được sự quan tâm của các nhà khoa học. Cây chùm ngây (*Moringa oleifera*) phân bố rộng rãi ở các nước nhiệt đới và cận nhiệt đới ở châu Á và Châu Phi, đã được biết đến về tác dụng hạ huyết áp, điều hòa đường huyết, giảm cholesterol, ngăn ngừa khối u. Do đó, ở một số nước, cây chùm ngây được sử dụng làm dược liệu và làm thực phẩm tốt cho sức khỏe con người (Ohkawa *et al.*, 1979; Peng *et al.*, 2012). Gần đây, tác dụng chống oxy hóa của cây chùm ngây được phát hiện và nhiều chất chống oxy hóa có mặt ở lá, thân và đặc biệt với hàm lượng cao ở rễ đã được xác định như niamicin, benzyl iothiocyanate và các flavonoid (Girish *et al.*, 2009). Cây chùm ngây mới được du nhập vào Việt Nam, được sử dụng như là loại rau cao cấp có khả năng hỗ trợ điều trị được nhiều bệnh trong đó có tác dụng chống oxy hóa và bảo vệ gan. Để đánh giá khả năng chống oxy hóa và bảo vệ gan của cây chùm ngây, nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của dịch chiết rễ cây chùm ngây trên mô hình chuột BALB/c bị gây tổn thương gan bằng CCl₄ đã được tiến hành. Các chỉ tiêu men gan như nồng độ AST, ALT, LDH, MDA và bilirubin toàn phần trong huyết thanh được xác định. Đồng thời để đánh giá hiệu quả của dịch chiết rễ cây chùm ngây, silymarin đã được sử dụng làm đối chứng do chất này đã được chứng minh có tác dụng chống oxy hóa và bảo vệ gan.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Rễ cây chùm ngây được thu từ cây đã trồng được 3 năm ở khu thử nghiệm của công ty cổ phần dược phẩm quốc tế, Mỹ Trì, Hà Nội.

Các dòng chuột BALB/c khỏe mạnh bao gồm cả đực và cái với tỉ lệ như nhau có khối lượng 26 ± 2 g, được nuôi tại khu nuôi động vật của Viện Công nghệ sinh học. Chuột được cho ăn thức ăn tiêu chuẩn và cho uống nước theo nhu cầu.

2.2. Hoá chất

Các hóa chất chính sử dụng trong nghiên cứu bao gồm carbon tetrachloride, thiobarbituric acid, tricloacetic acid, acetic acid, sodium dodecyl sulphate, dầu olive; 1,1,3,3-tetraethoxypropane được mua từ hãng Sigma Aldrich ở mức độ sạch phân tích.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Tách chiết thu dịch chiết chùm ngây

Rễ chùm ngây sau khi thu được rửa sạch, thái nhỏ, sấy khô và xay nhỏ thành bột. Dịch chiết sử dụng cho các thí nghiệm được chuẩn bị bằng cách chiết rút 100 gam bột rễ sử dụng nước cất làm dung môi. Sau 4 giờ chiết rút, dịch chiết được để nguội, lọc bỏ cặn và cho bay hơi đến thể tích xác định 25 ml.

2.3.2. Gây độc gan

Quy trình gây độc gan chuột BALB/c bằng CCl₄ được tiến hành theo phương pháp mô tả của Peng *et al.* (2012). Quy trình được tóm tắt như sau: Tổng số 30 con chuột BALB/c được chia thành 5 lô riêng biệt, mỗi lô có 6 con gồm 3 con đực và 3 con cái. Lô thứ nhất (đối chứng sinh lí), chuột được cho uống nước cất 0,2 ml/con/ngày; lô thứ 2 (đối chứng bệnh lí), chuột được cho uống nước cất và CCl₄ với liều 0,5 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày; lô thứ 3 (đối chứng dương), tương tự như lô thứ 2 nhưng sau đó chuột được cho uống silymarin với liều 50 mg/kg khối lượng cơ thể/ngày; lô thứ 4, tương tự như lô thứ 2 nhưng sau đó chuột được cho uống dịch chiết rễ chùm ngây (RE) với liều 0,5 ml/kg khối lượng cơ

thể/ngày; lô thứ 5, tương tự như lô thứ 4 nhưng liều dùng RE tăng gấp đôi, 1,0 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày. Sau 14 ngày, chuột được lấy máu thu huyết thanh, định lượng aminotransferase (AST, ALT), cholesterol và protein toàn phần. Sau đó, các gan chuột ở các lô thí nghiệm được lấy để xác định khối lượng, quan sát đại thể nhu mô gan và làm tiêu bản vi thể tế bào gan (Pari *et al.*, 2004).

2.3.3. Xác định chức năng gan

Xác định chức năng gan thông qua định lượng enzyme aspartate transaminase (AST) và alanine transaminase (ALT), lactate dehydrogenase (LDH), Bilirubin trong huyết thanh được xác định bởi hệ thống phân tích hóa sinh tự động AU680 (Beckman Coulter) như sau: Máu chuột được ly tâm ở tốc độ 10.000 g trong 10 phút để thu huyết thanh. Kết quả phân tích các chỉ tiêu huyết thanh được đọc bằng máy xét nghiệm sinh hóa tự động (AU680 của hãng Beckman Coulter).

2.3.4. Đánh giá đại thể và vi thể gan

Sau khi lấy máu xét nghiệm, chuột được mổ nhanh để lấy gan sau khi gây kích ngất bằng CO₂. Các mẫu gan được xác định khối lượng, chụp ảnh quan sát đại thể và làm tiêu bản vi thể tế bào. Quy trình chuẩn bị tiêu bản vi thể được thực hiện nhanh bằng cách cố định gan trong dung dịch đệm phosphate ở pH 7,4 có chứa 2% glutaraldehyde sau đó xử lý cố định trên tiêu bản bằng dung dịch osmium tetroxide 2%. Cuối cùng tiêu bản được nhuộm bằng Hematoxylin-Eosin.

2.4. Xử lý số liệu

Các công thức được lặp lại 3 lần, mỗi lần 6 mẫu. Các số liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (SD). Student's t-test được sử dụng để đánh giá sự khác biệt có ý nghĩa giữa các cặp giá trị trung bình ở các lô thí nghiệm ở mức ý nghĩa 5%. Sự khác biệt được coi là ý nghĩa thống kê khi giá trị p < 0,05. Kiểm định Duncan được dùng để đánh giá sự khác biệt giữa các bộ giá trị trung bình ở các lô thí nghiệm.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Để đánh giá khả năng bảo vệ gan của dịch chiết từ rễ cây chùm ngây, chuột thuần chủng BALB/c bị gây tổn thương gan bằng CCl₄ với một liều duy nhất 0,5 ml/kg khối lượng cơ thể, sau đó được cho uống dịch chiết chùm ngây như đã mô tả trong phần phương pháp. Khả năng bảo vệ gan của dịch chiết được đánh giá thông qua 05 chỉ tiêu: (i) hàm lượng aminotransferase (AST, ALT) trong huyết thanh, (ii) hàm lượng cholesterol toàn phần, (iii) hàm lượng protein toàn phần, (iv) khối lượng gan, (v) kết quả kiểm tra trực quan tổn thương gan đại thể và vi thể.

3.1. Khối lượng chuột trong quá trình thí nghiệm

Sự thay đổi khối lượng của chuột trước và sau khi thí nghiệm được theo dõi và xác định (nhằm tính toán lượng thuốc hoặc mẫu nghiên cứu khi cho uống). Kết quả nghiên cứu thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Khối lượng chuột thí nghiệm trước và sau xử lý bằng CCl₄

Lô	Trọng lượng chuột (g/con)		
	ngày 0	ngày 7	ngày 14
Đối chứng sinh lý	25,44 ± 1,21 ^a	28,63 ± 1,43 ^a	29,12 ± 1,28 ^a
Đối chứng bệnh lý (nước + CCl ₄)	25,18 ± 0,66 ^a	26,20 ± 0,55 ^b	27,33 ± 1,33 ^b
Silymarin 50 mg/kg khối lượng cơ thể/ngày + CCl ₄	25,10 ± 0,82 ^a	26,55 ± 1,68 ^b	27,63 ± 1,78 ^b
Dịch chiết chùm ngây 0,5 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày + CCl ₄	25,06 ± 0,75 ^a	26,39 ± 0,27 ^b	27,40 ± 0,85 ^b
Dịch chiết chùm ngây 1,0 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày + CCl ₄	25,20 ± 0,85 ^a	26,66 ± 1,05 ^b	27,28 ± 1,54 ^b
LSD _{0,05}	1,32	1,21	1,45

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột được kèm theo sau bởi các chữ cái giống nhau thì không khác nhau ở mức ý nghĩa 5% theo kiểm định Duncan

Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của dịch chiết chùm ngây (*Moringa oleifera*) trên chuột gây tổn thương gan bằng carbon tetrachloride (CCl₄)

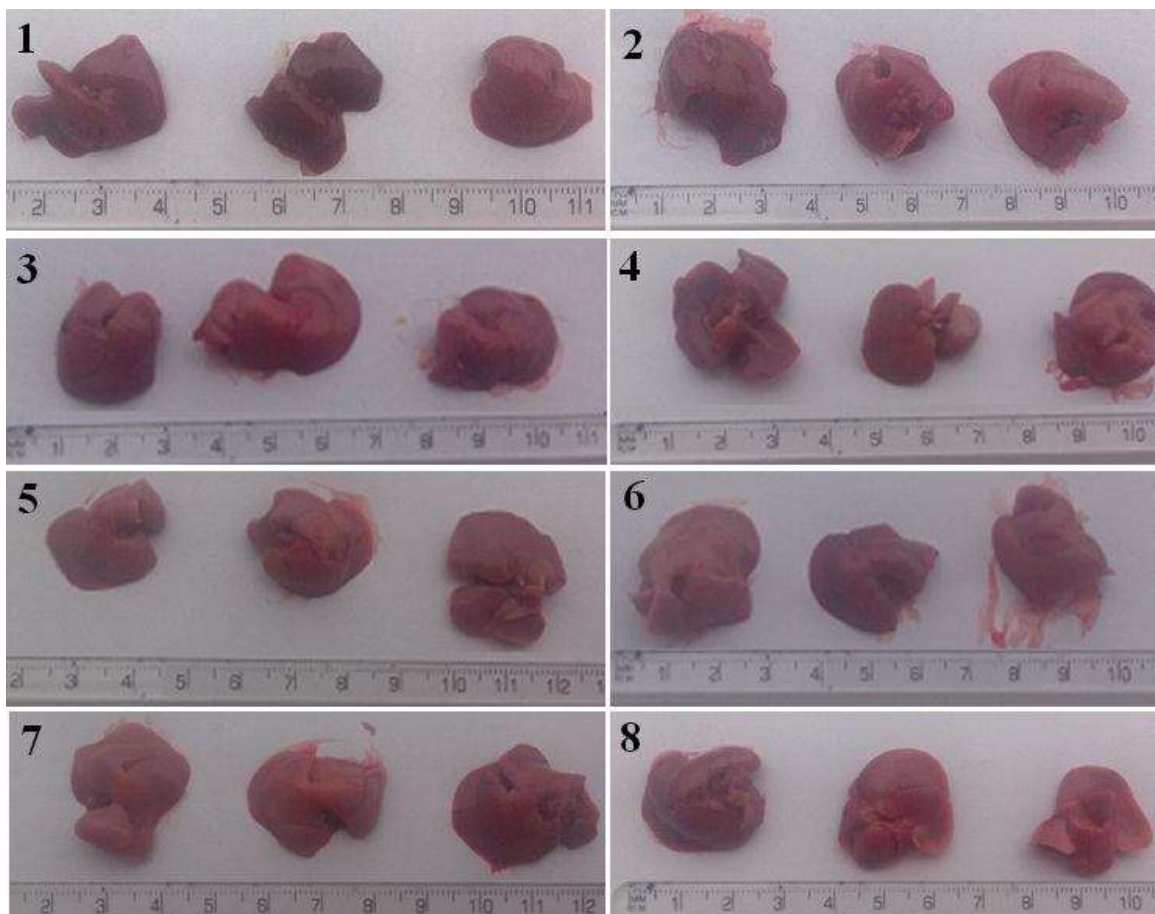
Kết quả bảng 1 cho thấy khối lượng chuột giữa các lô tại thời điểm trước thí nghiệm không có sự sai khác thống kê ($p > 0,05$). Các lô chuột được cho uống CCl₄ tăng trưởng chậm hơn so với đối chứng sinh lý. Như vậy, sau 14 ngày chuột thuộc các nhóm được uống các chất thử (silymarin) và dịch chiết chùm ngây đều có khối lượng cơ thể nhỏ hơn chuột nhóm đối chứng sinh lý ($p < 0,05$). Kết quả cho thấy, CCl₄ có ảnh hưởng đến sự tăng trưởng của chuột thí nghiệm sau hai tuần.

3.2. Kiểm tra trực quan tổn thương gan đại thể và vi thể

3.2.1. Kiểm tra trực quan tổn thương gan đại thể

Kiểm tra đại thể gan chuột ở các lô được uống hợp chất silymarin và dịch chiết chùm ngây cho thấy về hình thái bên ngoài và màu sắc gan đã được phục hồi, không có điểm tổn thương, nhu mô gan hơi to so với đối chứng sinh lý. Trong khi đó ở lô đối chứng bệnh lý gan tăng kích thước và có một vài điểm tổn thương rải rác (Hình 1).

Kiểm tra đại thể gan giữa các lô thí nghiệm cho thấy: Lô chuột uống RE (Hình 1-5,6,7,8) và đối chứng tham khảo uống silymarin (Hình 1-2) biểu hiện gan sáng, hồng và mịn gần như không



Hình 1. Ảnh chụp gan đại thể sau quá trình thí nghiệm

Ghi chú:

1: Đối chứng sinh lý - Gan hồng mịn

2: Đối chứng tham khảo (chuột uống silymarin liều 50mg/kg khối lượng cơ thể/ngày): 5/6 con - gan hồng

3-4: Đối chứng bệnh lý (chuột uống nước + CCl₄): - 5/6 gan nhợt màu, có điểm tổn thương

5-6: Thí nghiệm (chuột uống RE ở liều 0,5 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày + CCl₄): 5/6 con gan hồng và 1/6 con gan hơi nhợt màu

7-8: Thí nghiệm (chuột uống RE ở liều 1,0 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày + CCl₄): 4/6 con gan hồng và 2/6 con gan nhợt màu

thấy biểu hiện tổn thương gan như so với đối chứng bệnh lý. Như vậy, khi quan sát đại thể hình thái gan cho thấy dịch chiết chùm ngây có tác dụng tốt đến khả năng bảo vệ gan khi gây độc chuột bằng chất oxi hóa mạnh CCl_4 .

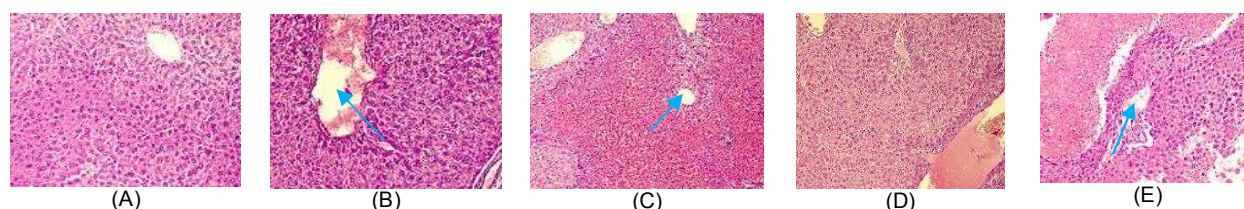
3.2.2. Ảnh hưởng của các chất thử và dịch chiết chùm ngây đến cấu trúc vi thể gan chuột thí nghiệm

Kết quả kiểm tra vi thể tế bào gan (Hình 2) cho thấy ở lô đối chứng sinh lý (A) các tế bào gan bình thường. Ở lô đối chứng bệnh lý (B), tiêu bản tế bào cho thấy nhu mô gan hoại tử, không còn bề gan và tế bào nhu mô gan. Đối với lô chuột sau khi xử lý CCl_4 và được cho uống silymarin và dịch chiết chùm ngây (C và D), biểu hiện tổn thương gan giảm rõ rệt so với đối chứng bệnh lý (B). Ở lô cho uống silymarin (C), quan sát tổ chức gan thấy rõ các tiểu thùy nhưng vẫn có tổn thương nhỏ trong tế bào gan và mạch máu xung huyết ở mức độ nhẹ. Lô uống dịch chiết chùm ngây (D) có hiện tượng các tế bào nhu mô gan thoái hóa hạt và xen kẽ có ổ hoại tử nhưng ở mức độ nhẹ.

3.3. Nồng độ các men gan trong huyết thanh

Aspartate transaminase (AST) và alanine transaminase (ALT) là hai loại enzyme aminotransferase được tìm thấy chủ yếu ở các tế bào của gan và thận. Khi gan khỏe mạnh, hàm lượng của hai chỉ số ALT và AST trong máu thấp. Ngược lại, khi gan bị tổn thương, mức độ ALT và AST sẽ tăng cao do được phóng thích vào trong máu. Sự tăng cao bất thường của hai chỉ số AST và ALT cho phép đánh giá và phát hiện mức độ tổn thương của gan (Phukan *et al.*, 2014). Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của dịch chiết chùm ngây lên nồng độ aminotransferase huyết thanh được trình bày ở bảng 2.

Kết quả nghiên cứu từ bảng 2 cho thấy lô uống mẫu nghiên cứu liều 0,5 ml/con/ngày và 1,0 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày, chỉ số AST, ALT là thấp hơn so với đối chứng bệnh lý (không được sử dụng chất bảo vệ). Lô đối chứng tham khảo silymarin 50 mg/kg khối lượng cơ thể/ngày chỉ số AST, ALT thấp hơn và có sự sai khác so với đối chứng bệnh lý ($p < 0,05$).



Hình 2. Tiêu bản vi thể tế bào gan ở độ phóng đại 200X

(A): Đối chứng sinh lý, (B): Đối chứng bệnh lý, (C): Đối chứng tham khảo (silymarin 50 mg/kg khối lượng cơ thể/ngày), (D): Dịch chiết chùm ngây (0,5 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày), (E): Dịch chiết chùm ngây (1,0 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày)

Bảng 2. Nồng độ AST, ALT trong gan chuột BALB/c

Lô	AST (UI/L)	ALT (UI/L)
Đối chứng sinh lý	95,90 ± 4,67 ^a	36,08 ± 3,75 ^a
Đối chứng bệnh lý (nước + CCl_4)	1178,83 ± 93,75 ^b	524,13 ± 68,89 ^b
Silymarin 50 mg/kg khối lượng cơ thể/ngày + CCl_4	507,80 ± 74,54 ^c	194,38 ± 46,01 ^c
Dịch chiết chùm ngây 0,5 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày + CCl_4	550,30 ± 86,55 ^c	166,37 ± 69,39 ^c
Dịch chiết chùm ngây 1,0 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày + CCl_4	785,05 ± 76,44 ^c	439,24 ± 62,46 ^{bc}
LSD _{0,05}	0,67	1,12

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột được kèm theo sau bởi các chữ cái giống nhau thì không khác nhau ở mức ý nghĩa 5% theo kiểm định Duncan

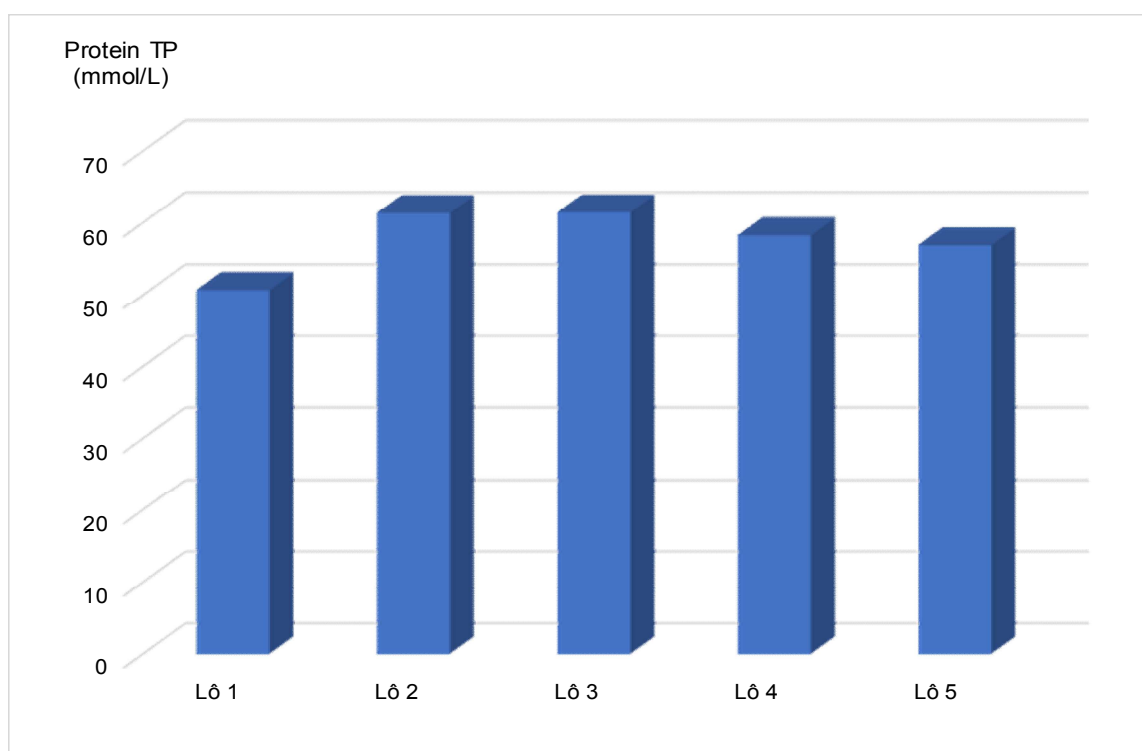
Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của dịch chiết chùm ngây (*Moringa oleifera*) trên chuột gây tổn thương gan bằng carbon tetrachloride (CCl₄)

Kết quả trên cho thấy ở các lô chuột được uống silymarin (lô 3) và dịch chiết chùm ngây (lô 4, lô 5) có các chỉ số AST và ALT đều thấp hơn so với đối chứng bệnh lý (không được sử dụng hoạt chất bảo vệ) ở mức ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Như vậy, dịch chiết chùm ngây có tác dụng bảo vệ gan thông qua ổn định hoạt động enzyme chức năng gan. Kết quả nghiên cứu ở bảng 2 cũng cho thấy ở liều cho uống 0,5 ml/kg khối lượng cơ thể /ngày chuột có chỉ số AST, ALT (UI/L) lần lượt là $550,30 \pm 86,55$ và $166,37 \pm 69,39$. Các chỉ số này cho thấy hiệu quả bảo vệ gan tốt hơn so với đối chứng tham khảo là silymarin ở liều 50 mg/kg khối lượng cơ thể/ngày với các chỉ số AST, ALT (UI/L) tương ứng là $507,80 \pm 74,54$ và $194,38 \pm 46,01$ ($p < 0,05$). Như vậy, dịch chiết cây chùm ngây ở liều 0,5 ml/kg khối lượng cơ thể /ngày có tác dụng tốt trong việc bảo vệ và phục hồi chức năng gan sau khi gây độc bằng CCl₄.

3.4. Ảnh hưởng của dịch chiết chùm ngây lên hàm lượng protein toàn phần trong huyết thanh

Protein toàn phần là thành phần quan trọng của huyết thanh và cũng là chỉ số quan trọng để đánh giá chức năng sinh lý của gan. Do protein huyết thanh chủ yếu được tổng hợp ở gan (một phần được tổng hợp ở tổ chức võng nội mô) nên việc xác định ảnh hưởng của dịch chiết chùm ngây lên chỉ số này có ý nghĩa quan trọng. Kết quả phân tích hàm lượng protein toàn phần trong huyết thanh được thể hiện ở biểu đồ 1.

Biểu đồ 1 cho thấy hàm lượng protein toàn phần ở lô chuột uống dịch chiết chùm ngây không có sự sai khác thống kê so với lô bệnh lý ($p > 0,05$) nhưng lại có sự sai khác ý nghĩa khi so với lô đối chứng sinh lý ($p < 0,05$). Điều này chứng tỏ cả dịch chiết chùm ngây và silymarin đều không có tác dụng làm giảm protein toàn phần.



Biểu đồ 1 Ảnh hưởng của dịch chiết chùm ngây lên hàm lượng protein toàn phần trong huyết thanh

Ghi chú: Lô 1: Đối chứng sinh lý; Lô 2: Đối chứng bệnh lý (nước + CCl₄); Lô 3: Silymarin 50 mg/kg khối lượng cơ thể/ngày + CCl₄; Lô 4: Dịch chiết chùm ngây 0,5 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày + CCl₄; Lô 5: Dịch chiết chùm ngây 1,0 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày + CCl₄.

3.5. Ảnh hưởng của dịch chiết chùm ngây lên hàm lượng lactate dehydrogenase và bilirubin toàn phần trong máu huyết thanh

Hàm lượng một số isoenzyme LDH có thể tăng lên đồng thời khi nhiều cơ quan trong cơ thể bị tổn thương. Bilirubin là sản phẩm thoái hóa của hemoglobin ở lưới nội mạc võng mô như gan, lách, tuỷ xương. Kết quả thí nghiệm cho thấy, khi cho chuột bị gây độc bởi CCl₄ uống silymarin và dịch chiết chùm ngây thì hàm lượng LDH và bilirubin toàn phần giảm đáng kể. Kết quả trong bảng 3.3 cho thấy hàm lượng LDH giảm từ 1198,28 ± 151,80 (lô 2) xuống còn 443,93 ± 66,17 (lô 3) và 491,58 ± 100,61 (lô 4). Tương tự, hàm lượng bilirubin toàn phần giảm từ 3,40 ± 0,85 xuống còn 1,88 ± 0,26 và 2,30 ± 0,28. Trong điều kiện thí nghiệm, mức độ giảm LDH và bilirubin toàn phần dường như không tỉ lệ với việc tăng liều dịch chiết cho uống. Điều này chứng tỏ cần phải có thêm các thí nghiệm khảo sát ngưỡng tối ưu của dịch chiết. Tuy nhiên, kết quả khảo sát ban đầu cho thấy dịch chiết chùm ngây có khả năng bảo vệ gan khi bị gây tổn thương bởi tác nhân oxy hóa mạnh.

Kết quả từ bảng 3 cho thấy dịch chiết chùm ngây ở hàm lượng 50 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày có tác dụng giảm LDH và bilirubin toàn phần tương đương so với đối chứng dương sử dụng silymarin.

3.6. Xác định hàm lượng malonyl dialdehyd trong gan

Các nghiên cứu cho thấy độc tính của CCl₄

gây ra ở gan theo cơ chế gốc tự do thông qua các chất chuyển hóa trung gian CCl₃ được tạo ra từ CCl₄ hay các dẫn chất tạo ra từ phản ứng giữa CCl₃ và O₂. Các gốc tự do trên sẽ kết hợp với lipid và protein ở lưới nội sinh chất của tế bào gan và hình thành một loạt các phản ứng peroxy hóa lipid dẫn đến phá hủy cấu trúc và chức năng của mạng lưới này (Tamura *et al.*, 2013). Malonyl dialdehyd (MDA) ở gan là sản phẩm của quá trình peroxy hóa lipid màng tế bào và MDA tăng tỉ lệ với mức độ tổn thương của gan. Trong nghiên cứu này, hàm lượng MDA gan tăng lên trong các lô có xử lý bằng CCl₄ chứng minh CCl₄ làm tổn thương tế bào gan tạo ra nhiều sản phẩm peroxy hóa lipid (Xie *et al.*, 2012). Kết quả định lượng hàm lượng MDA trong gan ở các lô thí nghiệm và đối chứng được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4 cho thấy hàm lượng MDA trong gan chuột ở các lô cho uống silymarin và dịch chiết chùm ngây giảm đáng kể so với lô đối chứng bệnh lý từ 10,22 ± 1,66 (lô 2) xuống còn 6,19 ± 0,76 (lô 3) và 6,42 ± 0,96 (lô 4). Kết quả cho thấy dịch chiết chùm ngây đã làm giảm hàm lượng MDA sinh ra ở gan sau các tác động oxy hóa bởi các gốc tự do do tác động của CCl₄.

4. KẾT LUẬN

Dịch chiết chùm ngây ở liều 0,5 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày có tác dụng bảo vệ gan thông qua việc làm giảm nồng độ AST, ALT, LDH, MDA và hạn chế tổn thương gan gây ra bởi CCl₄ trên mô hình chuột nhắt trắng dòng BALB/c. Ngoài

Bảng 3. Ảnh hưởng của dịch chiết chùm ngây lên một số chỉ tiêu trong máu huyết thanh

Lô	LDH	Bilirubin TP
Đối chứng sinh lý	50,68 ± 7,62 ^a	1,17 ± 0,06 ^a
Đối chứng bệnh lý (nước + CCl ₄)	1198,28 ± 151,80 ^b	3,40 ± 0,85 ^b
Silymarin 50 mg/kg khối lượng cơ thể/ngày + CCl ₄	443,93 ± 66,17 ^c	1,88 ± 0,26 ^a
Dịch chiết chùm ngây 0,5 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày + CCl ₄	491,58 ± 100,61 ^c	2,30 ± 0,28 ^{ab}
Dịch chiết chùm ngây 1,0 ml/kg khối lượng cơ thể /ngày + CCl ₄	534,60 ± 81,04 ^c	2,25 ± 0,50 ^{ab}
LSD _{0,05}	0,43	0,67

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột được kèm theo sau bởi các chữ giống nhau thì không khác nhau ở mức ý nghĩa 5% theo kiểm định Duncan

Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của dịch chiết chùm ngây (*Moringa oleifera*) trên chuột gây tổn thương gan bằng carbon tetrachloride (CCl₄)

Bảng 4. Hàm lượng MDA trong gan

Lô	MDA (nmol/mg protein)
Đối chứng sinh lý	4,46 ± 0,32 ^a
Đối chứng bệnh lý (nước + CCl ₄)	10,22 ± 1,66 ^b
Silymarin 50 mg/kg khối lượng cơ thể/ngày + CCl ₄	6,19 ± 0,76 ^c
Dịch chiết chùm ngây 0,5 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày + CCl ₄	6,42 ± 0,96 ^c
Dịch chiết chùm ngây 1,0 ml/kg khối lượng cơ thể /ngày + CCl ₄	8,17 ± 0,98 ^{bc}
LSD _{0,05}	0,92

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột được kèm theo sau bởi các chữ cái giống nhau thì không khác nhau ở mức ý nghĩa 5% theo kiểm định Duncan

ra, trong nghiên cứu này, các kết quả nghiên cứu cũng cho thấy dịch chiết chùm ngây ở liều 0,5 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày có tác dụng bảo vệ gan tương đương so với đối chứng tham khảo là silymarin (liều 50 mg/kg khối lượng cơ thể/ngày). Kết quả này đã mở ra tiềm năng ứng dụng của cây chùm ngây trong việc bảo vệ và phục hồi chức năng gan trước các tác nhân gây oxy hóa mạnh.

LỜI CẢM ƠN

Công trình này được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí từ đề tài do Công ty cổ phần dược phẩm quốc tế tài trợ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Amina E. Essawy, Ashraf M. Abdel-Moneim, Latifa I. Khayyat, Aglal A. Elzergy. (2012). Nigella sativa seeds protect against hepatotoxicity and dyslipidemia induced by carbon tetrachloride in mice. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(10): 21-25.

Ashraf J., Nagma J.S., Mirani N., Rub A. (2012). Protective effect of rutin against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. *International Journal of Drug Development and Research*, 4(2): 352-357.

Cui Y., Yang X., Lu X., Chen J., Zhao Y. (2014). Protective effects of polyphenols-enriched extract from Huangshan Maofeng green tea against CCl₄-induced liver injury in mice, *Chemico Biological Interactions*, 220(5): 75-83.

Choi K.C., Chung W.T., Kwon J.K., Yu J.Y., Jang Y.S., Park S.M., Lee S.Y., Lee J. (2010) Inhibitory effects of quercetin on aflatoxin B1 induced

hepatic damage in mice, *Food and Chemical Toxicology*, 48(10): 2747-2753.

Dianzani M.U., Muzia G., Biocca M.E., Canuto R.A. (1991). Lipid peroxidation in fatty liver induced by caffeine in rats, *Int. J. Tissue React.*, 13(1): 79-85.

Girish C., Koner B.C., Jayanthi S., Rao K.R., Rajesh B., Pradhan S.C (2009). Hepatoprotective activity of six polyherbal formulation in CCl₄ induced liver toxicity in mice, *Indian Journal of Experimental Biology*, 47: 257-263.

Muriel P., Garciapina T., Perez-Alvarez V., Mourelle M. (1992). Silymarin protects against CCl₄ - induced liver peroxidation and liver damage. *J Appl Toxicol.*, 12: 439-442.

Mohanraj S., Sangameswaran B., Santhosh K.C., Vinoth K.S., Atul N.C. (2013). Hepatoprotective effect of leaves of *Morinda tinctoria* Roxb. against paracetamol induced liver damage in rats, *Drug Invention Today*, 5(3): 223-228.

Muhammad N., Imtiaz H., Saima I. (2013). Antioxidant Potential of *Moringa oleifera* Leaf Extract for the Stabilisation of Butter at Refrigeration Temperature, 31(4): 332-339.

Narayan P. Yadava, Anirban Pal Karuna Shanker, Dyaneshwar U. Bawankule, Anil K. Gupta, Mahendra P. Darokar, Suman P.S Khanuja (2008). Synergistic effect of silymarin and standardized extract of *Phyllanthus amarus* against CCl₄ induced hepatotoxicity in *Rattus norvegicus*. *Phytomedicine*, 15: 1053-1061.

Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.*, 95: 351-358.

Pari L., Murugan P. (2004). Protective role of tetrahydrocurcumin against erythromycin estolate-induced hepatotoxicity. *Pharmacological Research*, 4(5): 481-486.

Peng K., Lan L.S, Yan W.X., Jie S.L., Wu Y.J., Hua Z.Y., Shu-Chen L. (2012). Polyporus umbellatus polysaccharides ameliorates carbon tetrachloride-

- induced hepatic injury in mice. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(37): 2686-2691.
- Phukan B., Kakoti B., Verma V.K., Kumar A. (2014). Hepatoprotective Activity of *Justicia gendarusa* Linn. Leaves in Carbon Tetrachloride Induced Liver Injury in Mice. *Journal of Natural Remedies*, 14(2): 132-137.
- Shi Y., Sun J., He H., Guo H., Zhang S. (2008). Hepatoprotective effects of *Ganoderma lucidum* peptides against D-galactosamine induced liver injury in mice, *Journal of Ethnopharmacology*, 117(3): 415-419.
- Sreelatha S., Padma PR. (2009). Antioxidant activity and total phenolic content of *Moringa oleifera* leaves in two stages of maturity, 16(3): 149-157.
- Sreelatha S., Padma P. R. (2009). Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of *Moringa oleifera* Leaves in Two Stages of Maturity, 4(3): 321-336.
- Tamura A., Sasaki M., Yamashita H., Matsui Y. I., Saku T., Hikima T., Tabuchi M., Munakata H. (2013). Kojima Y. A. - Yerba-mate (*Ilex paraguariensis*) extract prevents ethanolinduced liver injury in rats, *Journal of Functional Foods*, 4: 1714-1723.
- Trần Bảo Nguyễn Vinh Trần Quang, Khôi Nguyễn Ngọc (2011). Tác dụng chống oxi hóa và bảo vệ gan của lá cây chùm ngây (*Moringa oleifera*). *Tạp chí dược học*, 5: 421-425.
- Vusumzi P., Ewa C., Luke C. (2013). Comparison of antioxidant activity of *Moringa oleifera* and selected vegetables in South Africa, 109(3/4), Art. #1154-1159.
- Xie Q., Guo F., Zhou W. (2012). Protective effects of cassia seed ethanol extract against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. *Acta Biochimica Polonica*, 59(2): 265.