

MÔ HÌNH CHUỘT MUS MUSCULUS VIÊM GAN BỞI ETHANOL VÀ PARECETAMOL TRONG THỦ NGHIỆM THUỐC

Nguyễn Thị Đẹp¹, Phùng Thị Hàng¹, Trần Chí Bảo¹, Trần Huỳnh Nhu¹,
Trương Thị Thúy Quyên¹, Nguyễn Trọng Hồng Phúc^{2*}

1. Trường Sư phạm, Đại học Cần Thơ
2. Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

*Email: nthphuc@ctump.edu.vn

Ngày nhận bài: 21/11/2024

Ngày phản biện: 21/01/2025

Ngày duyệt đăng: 25/01/2025

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Viêm gan là bệnh nguy hiểm, phổ biến, được nghiên cứu nhiều về cơ chế và phác đồ điều trị. Nhiều loại thuốc phòng và trị viêm gan cũng đã được nghiên cứu, tuy nhiên, bệnh viêm gan có thể do nhiều nguyên nhân bệnh sinh khác nhau, nên việc tìm ra các mô hình chuột viêm gan cấp tính và mãn tính luôn cần được thực hiện, đảm bảo tính ổn định trước khi tiến hành đánh giá hiệu quả của thuốc. **Mục tiêu nghiên cứu:** Đánh giá hiệu quả tạo mô hình viêm gan cấp và mãn tính trên chuột nhắt trắng *Mus musculus*. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Chuột nhắt trắng *Mus musculus* được gây viêm gan bởi ethanol (30°, 40°, 50°); paracetamol (5%, 10%, 20% LD50 theo hệ thống AAT Bioquest); các chỉ tiêu đánh giá gồm hình thái ngoài của gan, chỉ số enzyme AST, ALT và trạng thái mô học. **Kết quả:** Nồng độ ethanol và paracetamol cao gây chết và đều ảnh hưởng đến cấu trúc đại thể gan. Các chỉ số enzyme gan biến đổi lớn ở các lô thí nghiệm. Kích thước tế bào và cấu trúc mô của gan chuột gia tăng theo quy luật ở lô sử dụng cồn. **Kết luận:** Với tác nhân ethanol, ethanol 40° là lựa chọn hiệu quả nhất để tạo mô hình chuột bị tổn thương gan mãn tính. Đối với tác nhân Paracetamol, nồng độ Paracetamol 20%LD50 là tối ưu để tạo mô hình chuột tổn thương gan cấp tính.

Từ khóa: mô hình chuột viêm gan, ethanol, paracetamol, mô học gan.

ABSTRACT

HEPATITIS MUS MUSCULUS MOUSE MODEL INDUCED BY ETHANOL AND PARACETAMOL IN PHARMACOLOGICAL STUDIES

Nguyễn Thị Đẹp¹, Phùng Thị Hàng¹, Trần Chí Bảo¹, Trần Huỳnh Nhu¹,
Trương Thị Thúy Quyên¹, Nguyễn Trọng Hồng Phúc^{2*}

1. School of Education, Can Tho University

2. Can Tho University of Medicine and Pharmacy

Background: Hepatitis is a dangerous and common disease that has been extensively studied in terms of mechanisms and treatment regimens. Various preventive and therapeutic drugs for hepatitis have been researched; however, since hepatitis can originate from different pathogenic causes, developing stable acute and chronic hepatitis mouse models is essential before assessing drug efficacy. **Objective:** To evaluate the effectiveness of establishing acute and chronic hepatitis models in *Mus musculus* mice. **Materials and methods:** *Mus musculus* mice were induced with hepatitis using ethanol (30°, 40°, 50°) and paracetamol (5%, 10%, 20% LD50 based on the AAT Bioquest system). The assessment criteria included liver morphology, AST and ALT enzyme levels, and histological changes. **Results:** High concentrations of ethanol and paracetamol caused mortality and structural damage to the liver. Liver enzyme levels significantly fluctuated across experimental groups. In ethanol-treated groups, cell size and liver tissue structure increased in a

predictable pattern. Conclusion: Ethanol at 40° was the most effective concentration for establishing a chronic liver injury model in mice. For paracetamol-induced damage, 20% LD50 was the optimal concentration for creating an acute liver injury model.

Keywords: Hepatitis mouse model, ethanol, paracetamol, liver histology.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm gan là căn bệnh phổ biến trên thế giới với khoảng 1,3 triệu người tử vong mỗi năm vì viêm gan. Đặc biệt, Việt Nam là nước chịu ảnh hưởng nặng của căn bệnh này [1]. Việc lạm dụng rượu bia, thuốc giảm đau và thói quen sinh hoạt không an toàn là nguyên nhân chính dẫn đến viêm gan [2]. Viêm gan là tình trạng các tế bào gan bị tổn thương do quá trình tích lũy các hạt lipid và các chất độc hại từ quá trình đào thải độc tố [3]. Rượu và thuốc giảm đau như paracetamol (PAP) là những sản phẩm phổ biến, dễ dàng được mua bán và sử dụng ở Việt Nam [4,5]. Quá trình chuyển hóa rượu và PAP đều được thực hiện ở gan. Hoạt động chuyển hóa có thể tạo ra các chất chuyển hóa gây độc cho tế bào gan như acetaldehyde và N – acetyl - p - benzoquinone imine [6,7].

Mặc dù trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về mô hình chuột viêm gan bằng các tác nhân khác nhau như CCl₄, ethanol, paracetamol, D-galactosamin, erythromycin estolate, hoặc aflatoxin [8], nhưng vẫn cần có thêm các nghiên cứu đa dạng hóa mô hình. Sự khác biệt về liều lượng, thời gian tác động, và đáp ứng của từng dòng chuột có thể ảnh hưởng đến tính tái lập và độ chính xác của mô hình. Vì thế, nghiên cứu về mô hình chuột viêm gan do ethanol và PAP là cần thiết và phù hợp với thực tế ở Việt Nam. Nhóm nghiên cứu được thực hiện: Đánh giá hiệu quả tạo mô hình viêm gan cấp và mãn tính trên chuột nhắt trắng *Mus musculus*.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Chuột nhắt trắng *Mus musculus* được mua từ Viện Tế bào gốc (Thành phố Hồ Chí Minh) được nuôi nhốt, tiếp cận tự do với nguồn nước uống, ngày được cho ăn 2 lần vào lúc 8 giờ sáng và 16 giờ chiều trong điều kiện chiếu sáng 12:12.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- **Bố trí thí nghiệm:** Chuột nhắt trắng đực (96 con) có khối lượng và độ tuổi tương đương nhau được phân phối hoàn toàn ngẫu nhiên vào 8 lô: Đồi chứng sinh học (DCSH) uống nước cát, 3 lô gây độc bằng cồn ethanol 30°, 40°, và 50° (tương ứng E30, E40, và E50), và 4 lô gây độc bằng paracetamol tương ứng ở mức 0% (uống DMSO10%), 5%, 10%, và 20% của LD₅₀ (tương ứng Đồi chứng sinh học, PAP5, PAP10, và PAP20) theo hệ thống ATT Bioquest. Mỗi nghiệm thức 12 con chuột được cho uống liên tục trong 8 ngày, mỗi ngày 1 lần, thể tích mỗi lần uống là 150 µL.

- **Các chỉ tiêu theo dõi:** Biểu hiện, hoạt động và tỉ lệ sống của chuột ở các lô được theo dõi hàng ngày. Hình thái đại thể của gan được quan sát, ghi nhận ở các thời điểm thu mẫu nhằm đánh giá hiệu quả viêm gan thông qua màu sắc và độ trơn láng của bề mặt gan. Nồng độ enzyme gan trong máu gồm AST và ALT được định lượng bằng máy định lượng sinh hóa tự động (Cobas Clinical Chemistry Automatic Analyzer, La Roche Ltd., Nhật Bản) và so sánh các chỉ số enzyme với lô DCSH. Mô học mô gan cũng được thực hiện thông qua phương pháp tiêu bản cắt lát và nhuộm kép bằng Hematoxyline và Eosin Y có hiệu chỉnh theo quy trình tiêu chuẩn của Bộ Y Tế Việt Nam [9]. Đánh giá hiệu quả gây viêm gan bằng

cách quan sát tế bào gan nhuộm H&E dưới kính hiển vi, xem xét tình trạng lắng đọng mỡ và kích thước tế bào và sự hiện diện của bạch cầu đa nhân trung tính. Đường kính tế bào và đường kính nhân tế bào được đo đặc thông qua phần mềm Toupview (ToupTek, China).

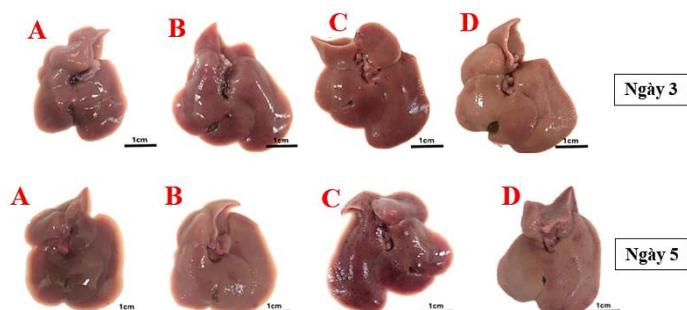
- **Xử lý số liệu thống kê:** Các số liệu thí nghiệm được ghi nhận bằng nhật ký thí nghiệm, lưu trữ bằng ứng dụng Microsoft Excel (Microsoft Inc., Mỹ). Sự khác biệt giữa các lô được phân tích bằng phép thống kê một nhân tố One-way ANOVA với post-hoc Duncan bằng phần mềm thống kê mã nguồn mở Jamovi (v2.6.24) ở độ tin cậy 95%.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Biểu hiện hình thái ngoài của gan chuột



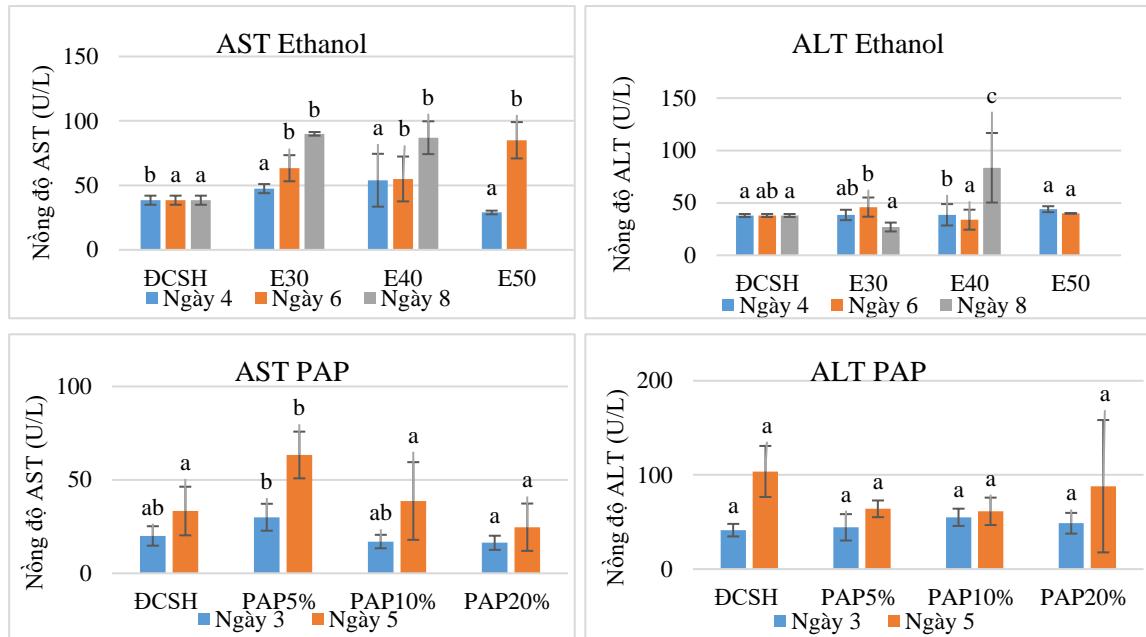
Hình 3. Hình thái gan chuột khi gây độc với ethanol. (A: Gan chuột đối chứng sinh học; B: Gan chuột uống cồn 30°; C: Gan chuột uống cồn 40°; D: Gan chuột uống cồn 50°)



Hình 4. Hình thái gan chuột khi thử độc với PAP. (Ghi chú: A-DCSH; B-PAP5; C-PAP10; D-PAP20)

Nhận xét: Kết quả khảo sát cho thấy cồn 30°, 40° và 50° làm gan biến đổi mạnh theo nồng độ. Lô cồn 50° bị xung huyết, bầm gan sau 4 ngày, đến ngày 6 xung huyết giảm nhưng tổn thương nghiêm trọng với xơ hóa, lipid hóa và biến đổi cấu trúc rõ rệt (Hình 1). Sử dụng cồn kéo dài gây xơ hóa ngay cả ở nồng độ thấp, thể hiện từ ngày 8. Vào thời điểm này, tất cả chuột thí nghiệm trong lô cồn 50° đều đã chết. Đối với các lô sử dụng PAP, chuột có biểu hiện viêm gan cấp tính hơn (Hình 2). Bề mặt gan trở nên gồ ghề ngay ở ngày thứ 3 ở các điều kiện. Sử dụng PAP kéo dài dẫn đến biểu hiện xơ gan rõ rệt hơn thông qua màu sắc và trạng thái bề mặt của gan.

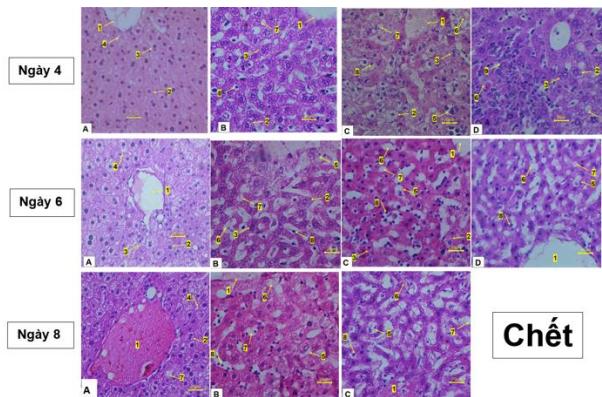
3.3. Đặc điểm biểu hiện enzyme gan trong huyết tương chuột



Hình 5. Chỉ số enzyme gan ở chuột sử dụng Ethanol và PAP (Trung bình±SD có chữ cái giống nhau trong cùng một thời điểm thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê, $p>0,05$)

Nhận xét: Trong điều kiện thí nghiệm, việc rút máu từ tim và đo enzyme gan (AST, ALT) có sai số lớn do giá trị dao động mạnh, khiến so sánh thống kê giữa các lô ít ý nghĩa. Enzyme gan tăng theo thời gian ở lô dùng cồn, nhưng với nồng độ cồn rất cao (E50), nồng độ giảm mạnh vào ngày 4 rồi tăng lại vào ngày 6. Đối với PAP, enzyme gan biến động lớn trong cùng một lô. Chuột có xu hướng tăng nhẹ AST đến ngày 3, nhưng sau đó không còn khác biệt, tương tự với ALT.

3.4. Đặc điểm mô học mô gan chuột gây độc bởi ethanol và PAP

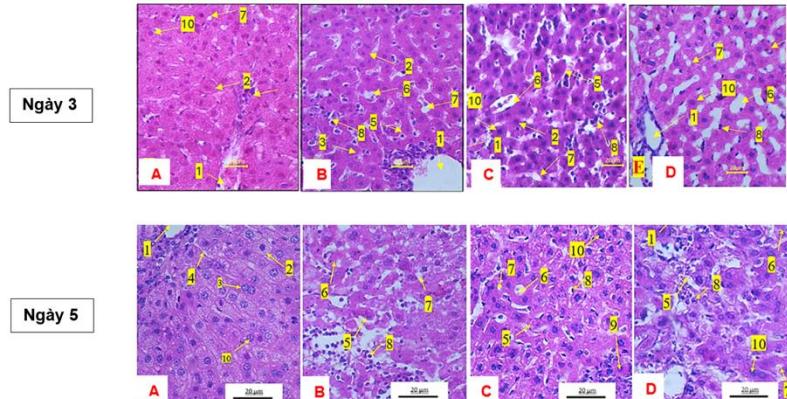


Hình 6. Cấu trúc vi thể mô bệnh gan chuột sử dụng ethanol.

(A: DCSH; B: E30; C: E40; D: E50; 1: Tĩnh mạch trung tâm; 2: Tế bào gan; 3: Tế bào 2 nhân; 4: Mao mạch man hoa; 5: Tế bào bị hoại tử; 6: Tế bào bị mất nhân; 7: Giọt lipid; 8: Tế bào đại thực bào; 9: Tổ chức đại thực bào)

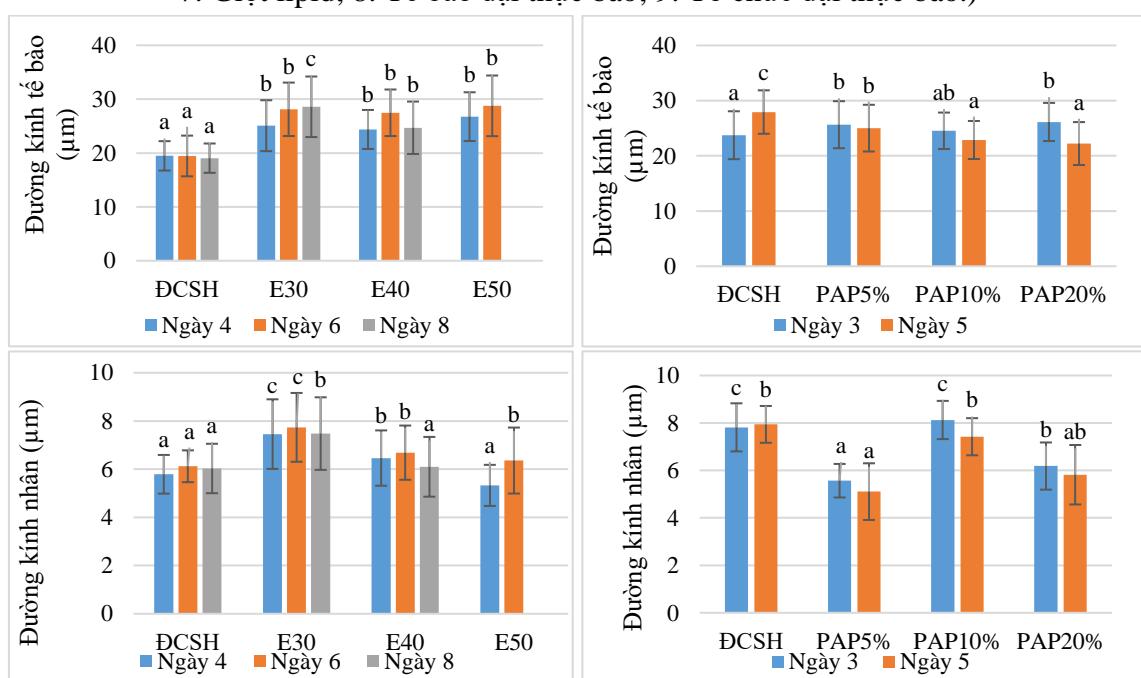
Nhận xét: Cấu trúc gan ở lô DCSH đồng đều, trong khi lô dùng cồn viêm tăng dần. Lô E50 xuất hiện đại thực bào, tế bào mất nhân, lipid hóa từ ngày 4, gan ngày càng lỏng

lèo. Lô còn thấp có dấu hiệu tái sinh với nhiều tế bào 2 nhân (Hình 4). Ngược lại, PAP gây tổn thương nhanh: PAP5% viêm nhẹ sau 3-5 ngày, PAP10% biến dạng nhân, PAP20% hoại tử nhanh (Hình 5). Ethanol làm tế bào phì đại trước khi hoại tử, còn PAP khiến tế bào co lại, mất nhân nhanh hơn. Nhìn chung, ethanol gây viêm kéo dài, trong khi PAP dẫn đến hoại tử và nguy cơ xơ hóa cao.



Hình 7. Cấu trúc vi thể mô gan chuột sử dụng PAP.

(A: ĐCSH; B: PAP5%; C: PAP10%; D: PAP20%; 1. Tĩnh mạch trung tâm; 2: Tế bào gan; 3: Tế bào 2 nhân; 4: Mao mạch man hoa; 5: Tế bào bị hoại tử; 6: Tế bào bị mất nhân; 7: Giọt lipid; 8: Tế bào đại thực bào; 9: Tổ chức đại thực bào.)



Hình 8. Ảnh hưởng của ethanol và PAP lên đường kính tế bào và đường kính nhân (μm) tế bào gan chuột. (Trung bình \pm SD có chữ cái giống trong cùng một thời điểm thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê, $p>0,05$)

Nhận xét: Ethanol làm tăng kích thước tế bào gan và đường kính nhân rõ rệt hơn PAP, với sự tăng có ý nghĩa thống kê so với đối chứng. Ở lô E30, đường kính tế bào tăng theo thời gian, trong khi PAP không thể hiện rõ xu hướng này. Ở nồng độ cao,

đường kính nhân không khác biệt đáng kể so với đối chứng ($p>0,05$). PAP ảnh hưởng đến đường kính nhân nhưng không theo quy luật tăng dần, và sự thay đổi theo thời gian không có ý nghĩa.

IV. BÀN LUẬN

Ethanol ở nồng độ cao (50°) và PAP20% đều gây tử vong khi sử dụng liên tục. Nhóm chuột E50 bắt đầu chết từ ngày thứ 3, với tỷ lệ tử vong đạt 50% vào ngày 6. Tương tự, nhóm nhóm PAP20% có 50% cá thể chết sau 2 ngày. Dưới tác động của PAP và ethanol, gan thay đổi rõ rệt về màu sắc và hình thái, phản ánh mức độ tổn thương. PAP chuyển hóa qua enzyme cytochrome P450 tạo NAPQI – chất gây hoại tử tế bào gan khi vượt ngưỡng chịu đựng. Ethanol gây rối loạn chuyển hóa lipid và bilirubin, dẫn đến tổn thương gan tiến triển theo thời gian. Ở nhóm đối chứng sinh học, gan giữ màu đỏ đậm, bề mặt trơn láng. Tuy nhiên, sau 3–4 ngày tiếp xúc với chất độc, gan chuột nhạt màu, bề mặt bóng hơn do tích tụ lipid. Đến ngày 5–6, tổn thương gan trở nên rõ rệt với các đốm trắng và xuất huyết (PAP10%, E40), trong khi PAP20% và E50 gây xơ hóa, hoại tử nặng. Ethanol gây tổn thương chậm hơn PAP, nhưng đến ngày 8, nhóm E30 và E40 cũng bị hoại tử cục bộ tương tự PAP10%–20% sau 5 ngày.

Ethanol và PAP có cơ chế gây tổn thương gan khác nhau. Ethanol chuyển hóa qua ADH và CYP2E1 tạo acetaldehyde và gốc tự do, làm tổn thương màng tế bào và tăng men gan (AST, ALT). AST tăng dần theo thời gian tiếp xúc với E30, E40, nhưng tăng đột ngột ở E50 do hoại tử gan. PAP chuyển hóa tạo NAPQI, gây độc nếu không được trung hòa bởi glutathione. Ở PAP5%, AST tăng cao do kích ứng gan, nhưng ở PAP10%–20%, AST giảm vì tổn thương nghiêm trọng làm mất khả năng tổng hợp enzyme. ALT dao động mạnh ở PAP20% do tổn thương gan nặng nề.

Nhìn chung, ethanol gây viêm gan do tích lũy acetaldehyde và stress oxy hóa, còn PAP gây độc qua NAPQI làm cạn kiệt glutathione. Quan sát mô học cho thấy ethanol gây tổn thương theo thời gian và nồng độ, với E30 làm gan phi đại nhưng vẫn duy trì chức năng, E40 gây viêm gan từ ngày 6, và E50 dẫn đến hoại tử nghiêm trọng. Một dấu hiệu viêm gan rõ rệt là sự thay đổi đường kính tế bào.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy ethanol và PAP đều gây tổn thương gan nhưng thông qua các cơ chế khác nhau, dẫn đến mức độ viêm gan và hậu quả sinh lý khác biệt. Ethanol chủ yếu gây viêm gan mãn tính và hoại tử theo thời gian. PAP gây tổn thương gan nhanh hơn, gây stress oxy hóa mạnh và dẫn đến hoại tử cấp tính. Mô hình viêm gan do ethanol 40° là lựa chọn hiệu quả để nghiên cứu tổn thương gan mãn tính. Mô hình viêm gan do PAP 20% là phù hợp để gây tổn thương gan cấp tính.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- WHO. Hepatitis killing thousands daily, WHO warns in new report. 2025. Available from: <https://news.un.org/en/story/2024/04/1148376>
- Mücke MM, Zeuzem S. The recent outbreak of acute severe hepatitis in children of unknown origin—what is known so far. *Journal of hepatology*. 2022. 77(1), 237-42, DOI: 10.1016/j.jhep.2022.05.001.
- Anderson BO, Berdzuli N, Ilbawi A, Kestel D, Kluge HP, Krech R, Mikkelsen B, Neufeld M, Poznyak V, Rekve D, Slama S. Health and cancer risks associated with low levels of alcohol consumption. *The Lancet Public Health*. 2023. 8(1), e6-7, doi: 10.1016/S2468-2667(22)00317-6.

TẠP CHÍ Y DƯỢC HỌC CẦN THƠ – SỐ 83/2025

4. Chidiac AS, Buckley NA, Noghrehchi F, Cairns R. Paracetamol (acetaminophen) overdose and hepatotoxicity: mechanism, treatment, prevention measures, and estimates of burden of disease. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology.* 2023. 19(5), 297-317, <https://doi.org/10.1080/17425255.2023.2223959>.
5. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clinical microbiology reviews.* 1999. 12(1), 147-79.
6. Bender RP, Lindsey RH, Burden DA, Osheroff N. N-acetyl-p-benzoquinone imine, the toxic metabolite of acetaminophen, is a topoisomerase II poison. *Biochemistry.* 2004 Mar 30. 43(12), 3731-9.
7. Zakhari S. Overview: how is alcohol metabolized by the body? *Alcohol research & health.* 2006. 29(4), 245.
8. Rajyalakshmi B, Rajani V, Raju CN, Bhongiri B. The Phytochemical Investigation and Pharmacological Evaluation of Hepatoprotective Activity of *Bougainvillea glabra* in Rats. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy.* 2024 Mar 8. 18(1), 1574-80, DOI:10.5530/ctbp.2024.1.5.
9. Bộ Y tế. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành giải phẫu bệnh, tế bào học (Ban hành kèm theo Quyết định số 5199/QĐ-BYT ngày 25 tháng 12 năm 2013 của Bộ trưởng Bộ Y tế). Hà Nội. Nhà xuất bản Y học. 2016.