

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG BẢO VỆ GAN CỦA
CAO CHUẨN HÓA CHỨA NHÓM PHENOLIC TỪ NẤM VÂN CHI ĐỎ
(PYCNOPORUS SANGUINEUS) TRÊN CHUỘT NHẮT TRẮNG**

**Trần Hữu Đạt^{1*}, Võ Thị Minh Thu², Nguyễn Văn Luân²,
Trần Đức Tường³, Nguyễn Thị Ngọc Vân², Dương Xuân Chữ²**

1. Trường Đại học Nam Cần Thơ

2. Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

3. Trường Đại học Đồng Tháp

*Email: dshuudat@gmail.com

Ngày nhận bài: 30/10/2024

Ngày phản biện: 07/12/2024

Ngày duyệt đăng: 25/12/2024

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Nấm Vân Chi đỏ có tác dụng bảo vệ gan trước tổn thương oxy hóa. Tuy nhiên, cao chuẩn hóa các thành phần liên quan tác dụng bảo vệ gan trong dược liệu này chưa được nghiên cứu cũng như chưa có nghiên cứu đánh giá tác dụng dược lý của cao chuẩn hóa chứa nhóm phenolic có trong nấm Vân Chi đỏ liên quan tác dụng bảo vệ gan. **Mục tiêu nghiên cứu:** Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của cao chuẩn hóa chứa nhóm phenolic từ nấm Vân Chi đỏ (*Pycnoporus sanguineus*) trên chuột nhắt trắng. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Cao chuẩn hóa chứa nhóm phenolic từ nấm Vân Chi đỏ (*Pycnoporus sanguineus*). Khảo sát tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây tổn thương gan chuột bằng paracetamol. **Kết quả:** Cao chuẩn hóa chứa nhóm phenolic từ nấm Vân Chi đỏ ở liều uống 500 mg/Kg và 1000 mg/Kg thể hiện tác dụng làm giảm hoạt tính AST, ALT trong huyết tương chuột, làm giảm hàm lượng MDA, phục hồi hàm lượng GSH và cải thiện tình trạng tổn thương trên cả đại thể, vi thể gan chuột. **Kết luận:** Cao chuẩn hóa chứa nhóm phenolic từ nấm Vân Chi đỏ có tác dụng hỗ trợ bảo vệ gan trên mô hình gây tổn thương gan cấp bằng paracetamol.

Từ khóa: Cao chuẩn hóa, *Pycnoporus sanguineus*, bảo vệ gan.

ABSTRACT

**STUDYING THE LIVER PROTECTIVE EFFECT OF
PYCNOPORUS SANGUINEUS STANDARDIZED EXTRACT CONTAIN
PHENOLIC COMPOUNDS ON EXPERIMENTAL ANIMALS**

**Tran Huu Dat^{1*}, Vo Thi Minh Thu², Nguyen Van Luan²,
Tran Duc Tuong³, Nguyen Thi Ngoc Van², Duong Xuan Chu²**

1. Nam Can Tho University

2. Can Tho University of Medicine and Pharmacy

3. Dong Thap University

Background: *Pycnoporus sanguineus* protects the liver against oxidative damage. However, the standardized extract of the components related to the liver-protective effect in this medicinal herb has not been studied, nor has there been any study evaluating the pharmacological effects of the *Pycnoporus sanguineus* standardized extract containing phenolic compounds related to the liver-protective effect. **Objectives:** To evaluate the hepatoprotective effect of standardized extract contain phenolic compounds from *Pycnoporus sanguineus* on experimental animals. **Materials and methods:** The *Pycnoporus sanguineus* standardized extract containing phenolic compounds investigated hepatoprotective effects on hepatotoxicity model induced by paracetamol in

mice. **Results:** The *Pycnopus sanguineus* standardized extract containing phenolic compounds at the dose of 500 mg/kg and 1000 mg/kg significantly decreased plasma AST, ALT, MDA levels, increased GSH contents in mice liver homogenates and improved damage in both macroscopic and microscopic mice liver. **Conclusion:** The *Pycnopus sanguineus* standardized extract containing phenolic compounds has the effect of supporting hepatoprotective in the model of acute liver injury with paracetamol.

Keywords: Standardized extract, *Pycnopus sanguineus*, hepatoprotective.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gan là một tạng lớn và giữ nhiều vai trò quan trọng của cơ thể như chuyển hóa, tạo mật, dự trữ sắt, vitamin... [1]. Nhiều nguyên nhân có thể gây tổn thương gan, bao gồm nhiễm virus viêm gan, gan nhiễm mỡ do chế độ ăn giàu chất béo, sử dụng rượu quá mức, phơi nhiễm các chất hóa học và các thuốc gây độc gan... [2]. Khi các tác nhân gây độc xâm nhập vào cơ thể, gan là nơi đầu tiên có thể bị tổn thương, dẫn đến các bệnh lý về gan. Trong các phương pháp hỗ trợ, điều trị bệnh gan và bảo vệ gan, các chế phẩm từ dược liệu được sử dụng phổ biến nhờ ưu điểm có thể dùng lâu dài với tính an toàn cao.

Nấm Vân Chi đỏ (*Pycnopus sanguineus*) là một dược liệu quý từ lâu đã được sử dụng trong y học cổ truyền để điều trị bệnh bạch huyết, viêm gan mạn tính, viêm nhánh khí quản mạn tính, suy giảm hệ miễn dịch [3]. Một số nghiên cứu gần đây đã cho thấy nấm Vân Chi đỏ có tác dụng bảo vệ gan trước tổn thương oxy hóa [4]. Tuy nhiên, cao chuẩn hóa các thành phần liên quan tác dụng bảo vệ gan trong dược liệu này chưa được nghiên cứu cũng như chưa có nghiên cứu đánh giá tác dụng dược lý của cao chuẩn hóa chứa nhóm phenolic có trong nấm Vân Chi đỏ liên quan tác dụng bảo vệ gan. Đây là cơ sở khoa học để thực hiện nghiên cứu nhằm đánh giá tác dụng bảo vệ gan của cao chuẩn hóa chứa nhóm phenolic từ nấm Vân Chi đỏ (*Pycnopus sanguineus*) trên mô hình tổn thương gan cấp bằng paracetamol trên chuột nhắt trắng.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Cao chuẩn hóa chứa nhóm phenolic từ nấm Vân Chi đỏ (*Pycnopus sanguineus*) đạt tiêu chuẩn cơ sở, được chiết theo quy trình: Quả thể nấm Vân Chi đỏ được cắt nhỏ với kích thước phù hợp, sau đó được làm ẩm, bổ sung ethanol 70% với tỉ lệ lượng dược liệu/dung môi chiết là 1:20, được chiết bằng phương pháp chiết hỗ trợ siêu âm với nhiệt độ chiết 50°C, thời gian siêu âm là 30 phút, chiết lặp lại 3 lần, thu được dịch chiết cặn. Sau đó, cô quay chân không thu hồi dung môi và được cao nấm. Cao nấm tiếp tục được đun cách thủy và sấy trong tủ sấy đến khối lượng không đổi, được cao chuẩn hóa nấm. Cao chuẩn hóa nấm chứa nhóm phenolic được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) với hàm lượng 0,1487 mg/g cao.

2.2. Động vật thử nghiệm

Chuột nhắt trắng đực, chủng *Swiss albino*, 4 – 5 tuần tuổi, trọng lượng trung bình 20 ± 2 g. Chuột và thực phẩm nuôi được cung cấp bởi Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh. Chuột được chia lô ngẫu nhiên, cho ăn, nước uống đầy đủ và nuôi ổn định về thể chất, cân nặng 7 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm trong điều kiện của Đơn vị Nghiên cứu động vật thực nghiệm – Khoa Dược – Trường Đại học Y Dược Cần Thơ. Thể tích cho uống hay tiêm màng bụng là 10 mL/Kg trọng lượng chuột. Các thí nghiệm trên động vật nghiên cứu được thực

hiện theo “*Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu*” của Bộ Y tế (ban hành kèm theo quyết định số 141/QĐ – K2ĐT ngày 27/10/2015).

2.3. Hóa chất, thiết bị

Paracetamol (dung dịch tiêm truyền, nồng độ 1000 mg/10 mL, được cung cấp bởi công ty CPC1, Hà Nội), silymarin (biệt dược Legalon 70 chứa silymarin 54,1 mg, được cung cấp bởi Protect Madaus, Madus GmbH, Đức) và các hóa chất khác đạt tiêu chuẩn nghiên cứu. Máy ly tâm (Hermle – Đức), máy sinh hóa tự động (Abbott – Mỹ) và các máy móc làm tiêu bản mô bệnh học.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế thử nghiệm: Thử nghiệm *in vivo*, bố trí ngẫu nhiên, có đánh giá so sánh với lô chứng bệnh lý và lô đối chứng dương.

Khảo sát tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây tổn thương gan bằng paracetamol:

Chuột được chia ngẫu nhiên thành 6 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (Đối chứng sinh lý): Chuột được uống nước cất trong liên tục 8 ngày.

- Lô 2 (Đối chứng bệnh lý): Chuột được uống nước cất trong liên tục 8 ngày và tiêm màng bụng paracetamol liều 400 mg/Kg vào ngày thứ 8.

- Lô 3 (Đối chứng dương): Chuột được uống silymarin liều 100 mg/Kg trong liên tục 8 ngày và tiêm màng bụng paracetamol liều 400 mg/Kg vào ngày thứ 8.

- Lô 4, 5 và 6 (Cao liều 250 mg/Kg, 500 mg/Kg và 1000 mg/Kg): Chuột được uống cao chuẩn hóa nấm Vân Chi đỏ với liều 250 mg/kg, 500 mg/kg và 1000 mg/Kg trong 8 ngày và tiêm màng bụng paracetamol liều 400 mg/Kg vào ngày thứ 8.

Sau khi gây tổn thương gan bằng paracetamol 4 giờ, chuột được gây mê bằng ether ethylic: mổ lấy máu từ tim để tiến hành xét nghiệm sinh hóa đánh giá hoạt tính enzym gan alanin aminotransferase (ALT), aspartat aminotransferase (AST) và tách gan để quan sát mô học (đại thể, vi thể), định lượng malonyl dialdehyd (MDA), glutathion (GSH) trong gan.

+ Khảo sát hoạt tính enzym ALT, AST: Máu tim chuột được ly tâm 4000 vòng/phút trong 5 phút ở 25°C, thu huyết tương dùng để xác định hoạt tính enzym ALT, AST bằng phương pháp đo động học enzym.

+ Định lượng MDA, GSH gan: Hàm lượng MDA, GSH tại gan được đánh giá theo phương pháp của Ohkawa (1979) [5] và Moron (1979) [6] được hiệu chỉnh: Gan chuột (100 mg) được tách ra khỏi cơ thể và nghiền đồng thể trong dung dịch đệm KCl 1,15% (400 µL) theo tỉ lệ 1:4 ở nhiệt độ 4°C. Dịch đồng thể được trộn với 200 µL dung dịch đệm phosphate (pH=7,4) và ủ ở 37°C trong 60 phút. Phản ứng được kết thúc bằng 200 µL acid tricloacetic 10% được ly tâm 13.000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C. Phần dịch lỏng sau khi ly tâm được sử dụng để xác định hàm lượng MDA và GSH. Hàm lượng malondialdehyde (MDA) được xác định như sau: 400 µL dịch ly tâm cho phản ứng với 200 µL thiobarbituric 0,8% ở 100°C trong 30 phút và đo độ hấp thu quang phổ ở bước sóng 532 nm. Hàm lượng MDA (nM MDA/g mô) được tính dựa theo phương trình hồi quy tuyến tính của chất chuẩn MDA. Hàm lượng glutathione (GSH) được xác định như sau: 400 µL dịch ly tâm được phản ứng với 80 µL thuốc thử Ellman và 1.200 µL dung dịch đệm EDTA phosphate. Hỗn hợp phản ứng được để yên 3 phút ở nhiệt độ phòng và sau đó tiến hành đo độ hấp thu quang phổ ở bước sóng 412 nm. Hàm lượng GSH (nM GSH/g mô) được tính dựa theo phương trình hồi quy tuyến tính của chất chuẩn GSH.

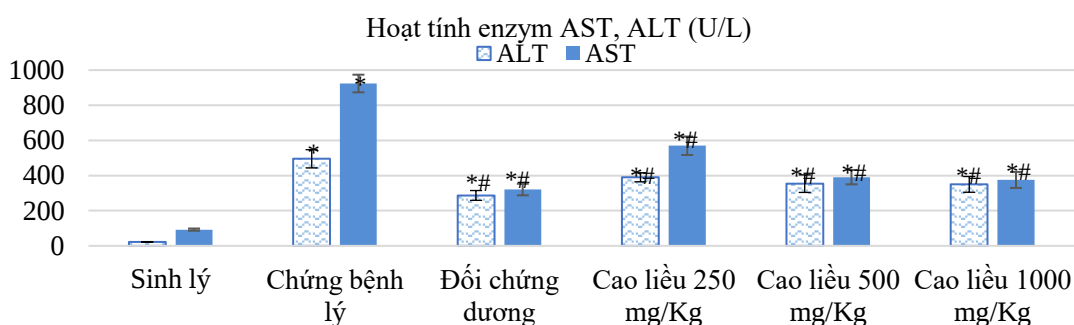
+ Phân tích đại thể và vi thể gan: Tách lấy gan chuột, rửa sạch bằng NaCl 0,9%, thấm khô. Quan sát, ghi nhận các đặc điểm về màu sắc, tình trạng bề mặt gan, tổn thương... Một phần gan được cố định trong formol 10%, cắt và nhuộm để làm tiêu bản mô bệnh học bằng phương pháp nhuộm Hematoxylin – Eosin (HE).

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được biểu thị bằng trị số trung bình: Mean $\pm$ SEM (Standard Error of the Mean – sai số chuẩn của giá trị trung bình), được xử lý thống kê với phần mềm SPSS 20 và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Microsoft Office Excel. Kết quả thử nghiệm có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi $p < 0,05$.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Ảnh hưởng của cao chuẩn hóa nấm Vân Chi đỏ đến hoạt tính enzym gan trong máu chuột

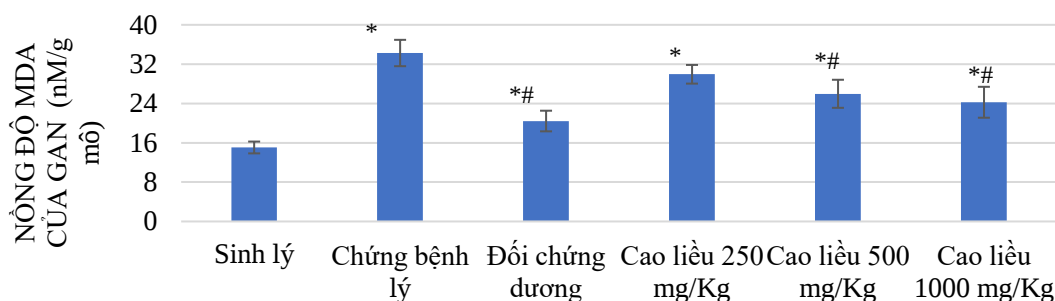


* $p < 0,05$ so với lô sinh lý tương ứng; # $p < 0,05$ so với lô chứng bệnh tương ứng

Biểu đồ 1. Ảnh hưởng của cao chuẩn hóa nấm Vân Chi đỏ đến hoạt tính enzym AST, ALT trong máu chuột

Nhận xét: Kết quả Biểu đồ 1 cho thấy paracetamol đã làm tăng cao hoạt tính AST và ALT ở lô chứng bệnh lý so với lô sinh lý ($p < 0,05$). Uống 3 liều cao thử (250 mg/Kg, 500 mg/Kg và 1000 mg/Kg) hoặc silymarin 8 ngày trước khi gây độc bằng paracetamol đã làm giảm hoạt tính AST và ALT so với lô chứng bệnh lý ($p < 0,05$). Tác dụng của 2 liều cao thử (500 mg/Kg và 1000 mg/Kg) đã dùng tương đương nhau.

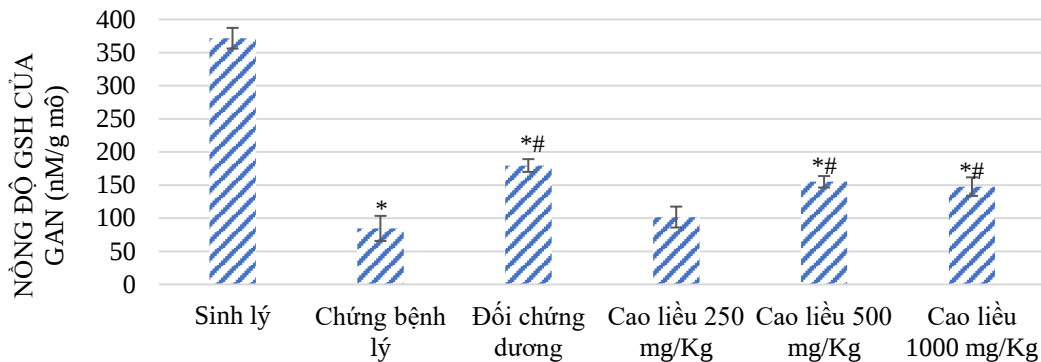
3.2. Ảnh hưởng của cao chuẩn hóa nấm Vân Chi đỏ đến hàm lượng MDA và GSH trong gan chuột



* $p < 0,05$ so với lô sinh lý; # $p < 0,05$ so với lô chứng bệnh

Biểu đồ 2. Ảnh hưởng của cao chuẩn hóa nấm Vân Chi đỏ đến hàm lượng MDA gan chuột

Nhận xét: Kết quả Biểu đồ 2 cho thấy paracetamol đã làm tăng hàm lượng MDA trong gan chuột ở lô chứng bệnh lý so với lô sinh lý ($p < 0,05$). Uống 2 liều cao thử (500 mg/Kg và 1000 mg/Kg) hoặc silymarin 8 ngày trước khi gây độc bằng paracetamol đã làm giảm hàm lượng MDA trong gan chuột so với lô chứng bệnh lý ($p < 0,05$). Liều 250 mg/Kg chưa làm giảm hàm lượng MDA trong gan chuột so với lô chứng bệnh ($p > 0,05$). Tác dụng của 2 liều cao thử (500 mg/Kg và 1000 mg/Kg) đã dùng tương đương nhau.



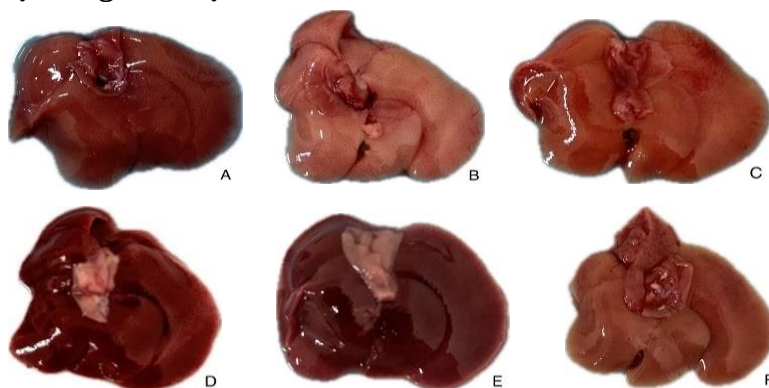
* $p < 0,05$ so với lô sinh lý; # $p < 0,05$ so với lô chứng bệnh

Biểu đồ 3. Ảnh hưởng của cao chuẩn hóa nấm Vân Chi đỏ đến hàm lượng GSH gan chuột

Nhận xét: Kết quả Biểu đồ 3 cho thấy paracetamol đã làm giảm mạnh hàm lượng GSH trong gan chuột ở lô chứng bệnh lý so với lô sinh lý ($p < 0,05$). Uống 2 liều cao thử (500 mg/Kg và 1000 mg/Kg) hoặc silymarin 8 ngày trước khi gây độc bằng paracetamol đã làm tăng hàm lượng GSH trong gan chuột so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$). Liều 250 mg/Kg chưa làm tăng hàm lượng GSH trong gan chuột so với lô chứng bệnh lý ($p > 0,05$). Tác dụng của 2 liều cao thử (500 mg/Kg và 1000 mg/Kg) đã dùng tương đương nhau.

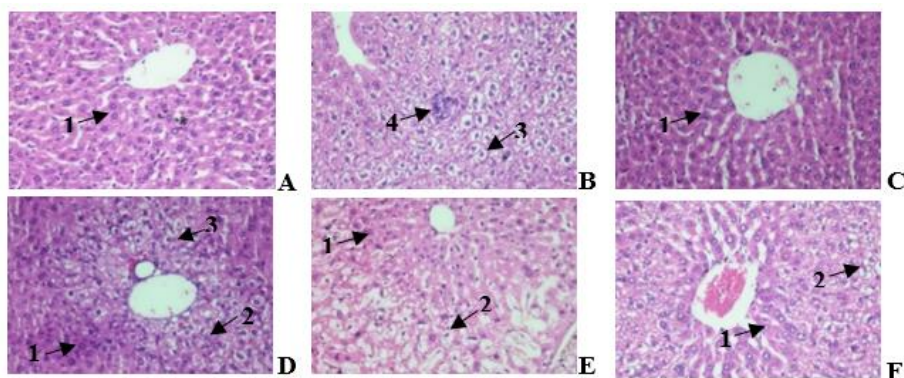
3.3. Ảnh hưởng của cao chuẩn hóa nấm Vân Chi đỏ đến mô bệnh học gan chuột

Hình thái đại thể gan chuột



Hình 1. Đại thể gan chuột: A: Lô sinh lý; B: Lô chứng bệnh lý; C: Lô chứng dương; D: Lô cao liều 250 mg/Kg; E: Lô cao liều 500 mg/Kg; F: Lô cao liều 1000 mg/Kg

Nhận xét: Kết quả Hình 1 cho thấy paracetamol đã gây tình trạng viêm gan cấp trên hình thái đại thể gan chuột ở lô đối chứng bệnh lý và gan thoái hóa nặng. Uống 3 liều cao thử (250 mg/Kg, 500 mg/Kg và 1000 mg/Kg) hoặc silymarin 8 ngày trước khi gây độc bằng paracetamol đã làm cải thiện mức độ tổn thương gan do paracetamol gây ra trên hình thái đại thể gan chuột.

Hình thái vi thể gan chuột

Hình 2. Vi thể gan chuột: A: Lô sinh lý; B: Lô chứng bệnh lý; C: Lô chứng dương; D: Lô cao liều 250 mg/Kg; E: Lô cao liều 500 mg/Kg; F: Lô cao liều 1000 mg/Kg;

1. Tế bào gan bình thường; 2. Tế bào gan thoái hóa vừa;
3. Tế bào gan thoái hóa nặng; 4. Tế bào viêm

Nhận xét: Kết quả Hình 2 cho thấy paracetamol đã gây tình trạng viêm gan cấp trên vi thể gan chuột ở lô đối chứng bệnh lý và gan thoái hóa nặng. Uống 3 liều cao thử (250 mg/Kg, 500 mg/Kg và 1000 mg/Kg) hoặc silymarin 8 ngày trước khi gây độc bằng paracetamol làm hạn chế rõ rệt mức độ tổn thương vi thể gan chuột do paracetamol gây ra.

IV. BÀN LUẬN

Mô hình gây tổn thương gan bằng paracetamol thường được sử dụng cho việc đánh giá tác dụng bảo vệ gan của các sản phẩm từ dược liệu. Khi dùng quá liều paracetamol sẽ sinh ra nhiều chất chuyển hóa có độc tính là N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI) dẫn đến suy giảm đáng kể GSH (chất chống oxy hóa nội sinh) hoặc tạo liên kết cộng hóa trị với các phân tử sinh học như protein, lipid, acid nucleic của tế bào gan gây tổn thương oxy hóa và gây tăng men gan [7]. Các enzym trong huyết thanh có nguồn gốc tại gan gồm AST và ALT là 2 enzym được sử dụng rộng rãi trong đánh giá tổn thương tế bào gan, qua đó giúp đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan. Ngoài ra, khi một thuốc nghiên cứu có tác dụng chống oxy hóa có thể làm giảm hàm lượng MDA, tăng hàm lượng GSH góp phần bảo vệ tế bào trong đó có tế bào gan. Do vậy, MDA và GSH là những chỉ số để đánh giá tác dụng bảo vệ gan của thuốc thử [8]. Kết quả nghiên cứu cho thấy, ở lô chứng bệnh lý, paracetamol đã gây suy gan cấp khi làm tăng hoạt tính các enzym gan (AST và ALT) trong huyết tương, làm tăng hàm lượng MDA gan và làm giảm hàm lượng GSH gan khi so sánh với lô sinh lý. Do vậy, mô hình gây tổn thương gan cấp bằng paracetamol đã thành công.

Silymarin là một flavonoid thực vật hiện diện trong Kế sữa (*Silybum marianum*). Silymarin là một hỗn hợp các flavolignan, trong đó chiếm phần lớn là silybin (50 – 70%), silydianin và silychristin [9]. Do hoạt tính bảo vệ gan và cơ chế tác động đã được biết rõ, silymarin thường được lựa chọn là chất đối chứng dương trong nhiều nghiên cứu đánh giá tác dụng bảo vệ gan của các dược liệu [9]. Trong nghiên cứu này, silymarin được sử dụng làm đối chứng dương, ở lô đối chứng dương so với lô chứng bệnh lý có sự giảm rõ rệt hoạt tính các enzym gan (AST và ALT), làm giảm hàm lượng MDA gan, phục hồi hàm lượng GSH gan và cải thiện mức độ tổn thương gan trên cả hình thái đại thể và vi thể.

Cao chuẩn hóa nấm Vân Chi đỏ được chiết xuất có chứa các hợp chất nhóm phenolic. Hợp chất nhóm phenolic là hợp chất chuyển hóa thứ cấp có trong các loại nấm, có tác dụng

tích cực đối với sức khỏe con người do hoạt tính chống oxy hóa, bảo vệ gan [10]. Kết quả nghiên cứu cho thấy, cao chuẩn hóa nấm Vân Chi đỏ ở các liều thử (250 mg/Kg, 500 mg/Kg và 1000 mg/Kg) có tác dụng tốt làm giảm tổn thương tế bào gan thể hiện qua làm giảm hoạt tính các enzym gan AST, ALT trong huyết tương. Tuy nhiên, tác dụng chống oxy hóa của cao chuẩn hóa nấm Vân Chi đỏ thể hiện tác dụng tốt ở 2 liều 500 mg/Kg và 1000 mg/Kg qua giảm hàm lượng MDA gan và phục hồi hàm lượng GSH gan.

Gan là nơi thường xuyên xảy ra sự trao đổi chất, do đó cơ quan này dễ dàng bị ảnh hưởng bởi các tác nhân độc hại. Để đánh giá tác dụng của thuốc lên chức năng gan, ngoài định lượng các yếu tố liên quan trong máu thì mô bệnh học (đại thể và vi thể) gan là những đánh giá cần thiết và quan trọng. Kết quả nghiên cứu cho thấy, cao chuẩn hóa nấm Vân Chi đỏ ở cả 3 liều đều giúp cải thiện mức độ tổn thương gan trên cả đại thể và vi thể so với lô chứng bệnh lý. Tuy nhiên, ở liều 500 mg/Kg và 1000 mg/Kg có tác dụng cải thiện mức độ tổn thương gan tốt hơn so với liều 250 mg/Kg.

V. KẾT LUẬN

Cao chuẩn hóa chứa nhóm phenolic từ nấm Vân Chi đỏ ở cả 2 liều 500 mg/Kg và 1000 mg/Kg có tác dụng bảo vệ gan theo hướng chống tổn thương oxy hóa trên mô hình gây tổn thương gan cấp ở chuột nhắt trắng bằng paracetamol và có tác dụng cải thiện tổn thương giải phẫu bệnh gan chuột.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Elijah T, Maureen G, and David H.W. The liver. *Current biology*. 2017. 27(21), R1147–R1151, doi: 10.1016/j.cub.2017.09.019.
2. Sumeet K.A, Harshad D, John E, Patrick S.K. Burden of liver diseases in the world. *Journal of hepatology*. 2019. 70(1), 151-171, doi: 10.1016/j.jhep.2018.09.014.
3. Võ Văn Chi. Từ điển cây thuốc Việt Nam, tập 2. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 2021. 222-223.
4. Võ Thị Minh Thư, Trần Đức Tường, Nguyễn Thị Ngọc Vân và Dương Xuân Chừ. Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan của cao chiết nấm Vân chi đỏ (*Pycnoporus sanguineus*) bằng mô hình gây tổn thương gan in vivo. *Tạp chí Y Dược học Cần Thơ*. 2023. 64, 91-97, doi: 10.58490/ctump.2023i64.1342.
5. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*. 1979. 95(2), 276-278, doi: 10.1016/0003-2697(79)90738-3.
6. Maria S.M, Joseph W.D, and Bengt M. Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in rat lung and liver. *Biochimica et biophysica acta - general subjects*. 1979. 582(1), 67-78, doi: 10.1016/0304-4165(79)90289-7.
7. Mitchell R.M, C.David W, Yuchao X, Anup R, and Hartmut J. Acetaminophen-induced liver injury in rats and mice: comparison of protein adducts, mitochondrial dysfunction, and oxidative stress in the mechanism of toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2012. 264(3), 387-394, doi: 10.1016/j.taap.2012.08.015.
8. Zahid L, Orhan L, Almir F, Damir R, Jasmin A, et al. Serum malondialdehyde (MDA) level as a potential biomarker of cancer progression for patients with bladder cancer. *Romanian Journal of Internal Medicine*. 2020. 58(3), 146-152, doi: 10.2478/rjim-2020-0008.
9. Suruchi S, Maryam B.T, Sharada P.S, and D.Bhowmik. Plants used in hepatoprotective remedies in traditional Indian medicine. *Indian Journal of Research in Pharmacy Biotechnology*. 2013. 1(1), 58-63.
10. Anika T.B, Tairin I, Rezwana A, Jumara H, Hasan M.R, et al. Evaluation of total phenolic content, HPLC analysis, and antioxidant potential of three local varieties of mushroom: A comparative study. *International Journal of Food Science*. 2022. 2022(1), 1-11, doi: 10.1155/2022/3834936.