NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG HẠ GLUCOSE HUYẾT, TÁC DỤNG BẢO VỆ GAN - THẬN CỦA CHẾ PHẨM PHỐI HỢP DÂY THÌA CANH, GIẢO CỔ LAM, CHÈ ĐẮNG, MẠCH MÔN, NGŨ VỊ TỬ VÀ HOÀNG KỲ (VIÊN THANH ĐƯỜNG AN)

Nguyễn Hoàng Minh, Nguyễn Lĩnh Nhân*, Nguyễn Thị Thu Hương**

TÓM TẮT

Mục tiêu nghiên cứu: *Mục tiêu của đề tài là đánh giá tác dụng hạ glucose huyết và tác dụng bảo vệ gan-thận của chế phẩm phối hợp các dược liệu Dây thìa canh, giảo cổ lam, chè đắng, mạch môn, ngũ vị tử, hoàng kỳ (gọi tắt là viên Thanh Đường An) qua hai thực nghiệm dung nạp glucose và thực nghiệm gây tăng glucose huyết bằng streptozotocin trên chuột nhắt trắng.*

Phương pháp nghiên cứu: *Chuột được gây tăng glucose huyết thực nghiệm bằng streptozotocin (liều 170 mg/kg thể trọng, tiêm phúc mạc). Chuột ở các lô được cho uống hàng ngày nước cất (lô chứng) hay thuốc thử nghiệm (viên Thanh Đường An hay thuốc đối chiếu glibenclamid) trong 7 -14 ngày. Xác định trị số glucose huyết trước và sau khi gây dung nạp glucose. Xác định hàm lượng malondialdehyd (MDA) trong gan-thận và glutathion (GSH) trong gan.*

Kết quả: *Viên Thanh Đường An ở liều 2 viên/kg thể trọng chuột có tác dụng hạ đường huyết trên chuột bình thường, trên chuột gây tăng glucose huyết bằng streptozotocin và trong thực nghiệm dung nạp glucose. Tác dụng hạ glucose huyết của viên Thanh Đường An liều 2 viên/kg thể trọng chuột trên chuột bị gây tăng glucose huyết tương tự như thuốc hạ glucose huyết glibenclamid. Ngoài ra, viên Thanh Đường An ở liều 1-2 viên/kg thể trọng chuột có tác dụng làm giảm hàm lượng MDA trong gan hay thận và làm tăng hàm lượng GSH trong gan chứng tỏ viên Thanh Đường An có tác dụng bảo vệ gan và thận trước tổn thương oxy hóa gây bởi streptozotocin.*

Kết luận: *Viên Thanh Đường An có tác dụng hạ glucose huyết và có thể được sử dụng trong dự phòng tổn thương gan thận gây bởi streptozotocin.*

Từ khóa: *Chế phẩm phối hợp các dược liệu Dây thìa canh, giảo cổ lam, chè đắng, mạch môn, ngũ vị tử, hoàng kỳ (gọi tắt là viên Thanh Đường An), streptozotocin, malondialdehyd, glutathion.*

ABSTRACT

HYPOGLYCEMIC AND HEPATORENAL PROTECTIVE EFFECTS OF HERBAL FORMULA FROM GYMNEMA SYLVESTRE, GYNOSTEMMA PENTAPHYLLUM, EVODIA LEPTA, OPHIOPOGON JAPONICUS, SCHISANDRA CHINENSIS AND ASTRAGALUS MEMBRANACEUS (THANH DUONG AN CAPSULES)

Nguyen Hoang Minh, Nguyen Linh Nhan, Nguyen Thi Thu Huong

* Y Hoc TP. Ho Chi Minh * Supplement of Vol. 19 - No 5 - 2015: 73 - 79

Aims of study*: The aim of study focused on determining hypoglycemic and hepatorenal protective effects of herbal formula from Gymnema sylvestre, Gynostemma pentaphyllum, Evodia lepta, Ophiopogon japonicus, Schisandra chinensis, and Astragalus membranaceus (Thanh Duong An capsules) on glucose tolerance test and streptozotocin-induced diabetes in mice.*

Methods*: Mice were intraperitoneally injected streptozotocin (170 mg/kg mouse body weight). Diabetic mice were orally treated with distilled water (control groups), test drug (Thanh Duong An capsules) or glibenclamide*

* Trung Tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh-Viện Dược liệu

Tác giả liên lạc: PGS.TS. Nguyễn Thị Thu Hương *ĐT*: 38274377 *Email*: huongsam@hotmail.com

(positive control) for 7-14 days. Blood glucose levels were determined at before and after glucose overload. Also, malondialdehyde (MDA) in liver or kidneys and hepatic glutathione (GSH) contents were measured.

***Results**: Thanh Duong An capsules (2 capsules/kg mouse body weight) expressed hypoglycemic effect on normal mice, diabetic mice and also in glucose tolerance test. The effect of Thanh Duong An capsules was similar to that of glibenclamide, an oral antidiabetic drug. Moreover, Thanh Duong An capsules (1-2 capsules/kg mouse body weight) decreased hepatic and renal MDA contents, and increased hepatic GSH content, indicating the protective effect to streptozotocin-induced hepatorenal oxidative damage.*

***Conclusion**: Thanh Duong An capsules induced hypoglycemic and hepatorenal protective effects, suggesting the protective application against diabetes-induced hepatorenal damage in clinical usage.*

***Keywords**: Herbal formula from Gymnema sylvestre, Gynostemma pentaphyllum, Evodia lepta, Ophiopogon japonicus, Schisandra chinensis, and Astragalus membranaceus (Thanh duong an capsules), streptozotocin, malondialdehyde, glutathione.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam nằm trong số các quốc gia có số người mắc bệnh đái tháo đường (ĐTĐ) tăng nhanh. Với nhu cầu điều trị và dự phòng ĐTĐ, hàng loạt các thuốc trị ĐTĐ tổng hợp được các công ty dược phẩm nghiên cứu và phát triển như nhóm sulfonylurea, biguanid, thiazolidinedion. Tuy nhiên các thuốc có nguồn gốc tổng hợp không phải là giải pháp tối ưu đối với quốc gia đang phát triển như Việt Nam, do giá thành điều trị cao, nhiều tác dụng phụ không mong muốn. Bên cạnh đó thuốc có nguồn gốc thảo dược đang được các nước quan tâm và phát triển với ưu điểm là nguồn dược liệu sẵn có, dễ sử dụng, giá thành thấp, ít tác dụng phụ và dễ được cộng đồng chấp nhận, đặc biệt là các nước chậm phát triển và đang phát triển. Để đánh giá hiệu quả các thuốc có nguồn gốc thảo dược cần phải qua các nghiên cứu tính an toàn và tác dụng dược lý, nhằm đánh giá hiệu quả tiền lâm sàng của các thuốc trước khi đưa vào thử nghiệm lâm sàng. Dây thìa canh, giảo cổ lam, chè đắng, mạch môn, ngũ vị tử, hoàng kỳ và nghệ đã được thực nghiệm chứng minh có tác dụng điều hòa đường huyết ổn định ở bệnh cảnh ĐTĐ thực nghiệm. Do đó, mục tiêu của đề tài là đánh giá tác dụng hạ glucose huyết và tác dụng bảo vệ gan-thận của chế phẩm phối hợp các dược liệu trên (gọi tắt là viên Thanh Đường An) qua hai thực nghiệm dung nạp glucose và thực nghiệm gây tăng glucose huyết bằng streptozotocin trên chuột nhắt trắng.

ĐỐI TƯỢNG - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Viên Thanh Đường An được cung cấp bởi Công ty TNHH Giai Cảnh, đóng gói hộp 30 viên nang. Tất cả mẫu thử đều cùng lô sản xuất: 53/2013, ngày sản xuất 10/06/2013 và hạn dùng 10/06/2016. Thành phần chính trong mỗi viên 500 mg gồm: Dây thìa canh (50%), Giảo cổ lam (20%), Chè đắng (15%), Mạch môn (5%), Ngũ vị tử (5%), Hoàng kỳ (5%), Nghệ 50 mg và tá dược vừa đủ 1 viên.

Viên được tháo bỏ vỏ nang, cân trọng lượng bột viên của 10 viên và lấy khối lượng trung bình của 01 viên. Khối lượng trung bình của 01 viên là 500 ± 10 mg. Bột viên được hòa trong nước cất và được cho uống hàng ngày vào thời điểm 8-9 h sáng. Các liều thử nghiệm được quy theo số lượng viên uống/kg thể trọng chuột và đạt tính an toàn qua các khảo sát về độc tính cấp và độc tính bán trường diễn.

Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng cái, chủng *Swiss albino*, trưởng thành 5-6 tuần tuổi, có trọng lượng 25±2 g, được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế – TP. Nha Trang. Chuột được nuôi bằng thực phẩm viên, nước uống đầy đủ và được để ổn định ít nhất một tuần trước khi thử nghiệm. Thể tích cho uống hay tiêm phúc mạc (i.p.) là 10 ml/kg thể trọng chuột. Chuột được để nhịn đói

16 giờ trước khi lấy máu định lượng glucose trong huyết tương bằng bộ kit theo phương pháp GOD-PAP (Human Co., Đức).

Thuốc thử nghiệm

Streptozotocin (Sigma-Aldrich Co., Ltd, USA), thuốc đối chiếu viên nén Glibenclamid STADA® 5 mg (Công ty CP Dược phẩm STADA).

Phương pháp nghiên cứu

Nghiệm pháp dung nạp glucose[8]

Nghiệm pháp dung nạp glucose là một trong các tiêu chuẩn chẩn đoán bệnh đái tháo đường tin cậy trên lâm sàng, trong đó theo mô hình của WHO, sử dụng liều uống 75 g glucose và đo đường huyết sau 2 giờ với giá trị chẩn đoán ≥ 200 mg/dl (đái tháo đường) và trong khoảng 140-199 mg/dl (rối loạn dung nạp glucose). Trên động vật thử nghiệm là chuột nhắt trắng, liều uống glucose là 2 g/kg thể trọng chuột và đo đường huyết sau 30 phút và 120 phút với giá trị chẩn đoán tương tự như ở người.

Chuột sau khi được nuôi ổn định ở điều kiện phòng thí nghiệm, tiến hành chia lô: lô chứng cho uống nước cất và các lô thử cho uống viên Thanh Đường An (liều 1 viên/kg hay 2 viên/kg thể trọng chuột) liên tục trong 7 ngày. Ở ngày thứ 7, 1 giờ sau khi cho uống, tiến hành lấy máu tĩnh mạch đuôi ở các lô thử nghiệm để xác định trị số glucose huyết trước khi gây dung nạp glucose. Tiếp theo cho tất cả các lô uống dung dịch glucose (liều 2 g/kg thể trọng). Tiến hành lấy máu chuột định lượng glucose huyết sau khi cho uống glucose ở thời điểm 30 phút và 120 phút.

Gây mô hình tăng glucose huyết thực nghiệm[8]

Chuột được gây tăng glucose huyết thực nghiệm bằng streptozotocin (pha trong đệm natri citrat pH 4,5) với liều 170 mg/kg thể trọng, i.p. Sau 7 ngày tiêm, chuột được lấy máu tĩnh mạch đuôi để đánh giá glucose huyết. Những chuột có trị số glucose huyết đo lúc đói (fasted blood glucose) ≥ 126 mg/dl [*Theo tiêu chuẩn chẩn đoán của Hiệp hội Đái tháo đường Hoa Kỳ (ADA: American Diabetes Association) năm 2011*] được lựa chọn vào thí nghiệm khảo sát tác dụng hạ glucose huyết của chế phẩm. Số lượng chuột đạt tiêu chí trên được chia thành các lô như sau:

Lô chứng bệnh lý: Cho uống nước cất.

Lô đối chiếu: Cho uống glibenclamid (liều 5 mg/kg).

Lô thử 1: Cho uống viên Thanh Đường An (liều 1 viên/kg thể trọng chuột).

Lô thử 2: Cho uống viên Thanh Đường An (liều 2 viên/kg thể trọng chuột).

Chuột ở các lô được cho uống hàng ngày nước cất hay thuốc thử nghiệm. Khi cho uống đến ngày thứ 7 hay ngày thứ 14 thì sau 1 giờ cho uống ở các lô tiến hành lấy máu để xác định trị số glucose huyết trước khi gây dung nạp glucose. Sau đó, tiếp tục cho chuột các nhóm uống glucose (liều 2 g/kg thể trọng). Tiếp tục tiến hành lấy máu chuột xác định trị số glucose huyết sau khi cho uống glucose ở thời điểm 30 phút và 120 phút.

Phương pháp xác định hàm lượng MDA và GSH

Tách gan (hay thận) chuột sau 2 tuần thí nghiệm và nghiền đồng thể trong dung dịch KCl 1,15 %. Lấy 1-2 ml dịch đồng thể, thêm dung dịch đệm Tris-HCl (pH 7,4) vừa đủ 3 ml. Ủ hỗn hợp phản ứng ở 37^{o}C trong 60 phút và dừng phản ứng bằng 1 ml acid tricloacetic 10%.

Xác định hàm lượng MDA[2]: Sau khi ly tâm lấy 2 ml dịch trong cho phản ứng với 1 ml acid thiobarbituric 0,8 % ở 100^{o}C trong 15 phút và đo quang ở λ = 532 nm. Hàm lượng MDA (nM/g protein) được tính theo phương trình hồi quy tuyến tính của chất chuẩn MDA.

Xác định hàm lượng GSH[3]: Sau khi ly tâm lấy 1 ml dịch trong cho phản ứng với 0,2 ml thuốc thử Ellman là 5,5′–dithiobis–(2–nitrobenzoic acid) và thêm đệm phosphat-EDTA vừa đủ 3 ml. Để 3 phút ở nhiệt độ phòng và sau đó tiến hành đo quang ở bước

sóng λ = 412 nm. Hàm lượng GSH (nM/g protein) được tính theo phương trình hồi quy tuyến tính của chất chuẩn GSH.

Đánh giá kết quả

Các số liệu được biểu thị bằng trị số trung bình: M ± SEM (Standard error of the mean – sai số chuẩn của giá trị trung bình) và xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One–Way ANOVA và Student-Newman-Keuls test (phần mềm SigmaStat 3.5). Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi p < 0,05 so với lô chứng. Khi glucose huyết ở lô chuột uống mẫu thử giảm tối thiểu 30% và đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng thì mẫu thử được đánh giá là có tác dụng hạ glucose huyết. Khi glucose huyết ở lô chuột uống mẫu thử giảm trong khoảng 20-30% và đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng thì mẫu thử được đánh giá là có tác dụng điều hòa glucose huyết.

KẾT QUẢ-BÀN LUẬN

Bảng 1: *Kết quả khảo sát tác dụng của viên Thanh Đường An sau 7 ngày uống trong thực nghiệm dung nạp glucose*

Lô TN (n = 10)	Glucose huyết (mg/dl)		
	Trước thử nghiệm dung nạp	Sau 30 phút	Sau 120 phút
Chứng nước cất	87,50 ± 5,17	146,60 ± 5,57#	108,0 ± 7,27#
Thanh đường an (liều 1 viên/kg)	79,20 ± 5,45	127,50 ± 8,63# (13,0%)	83,60 ± 8,60 (22,6%)
Thanh đường an (liều 2 viên/kg)	59,50 ± 4,87* (32%)	125,30 ± 13,21# (14,5%)	72,30 ± 8,42#* (33,0%)
Glibenclamid (5 mg/kg)	68,50 ± 3,78* (21,7%)	82,60 ± 7,13* (43,7%)	71,60 ± 4,50* (33,7%)

** p < 0,05 so với lô chứng # p < 0,05 so với trước thử nghiệm (...): Phần trăm hạ glucose huyết so với lô chứng cùng thời điểm.*

Kết quả ở bảng 1 cho thấy lô chuột uống thuốc đối chiếu glibenclamid ở liều 5 mg/kg thể trọng chuột sau 7 ngày có trị số glucose huyết trước dung nạp glucose giảm 21,7%, đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng. Lô chuột uống thuốc đối chiếu glibenclamid ở liều 5 mg/kg có trị số glucose huyết sau dung nạp glucose ở các thời điểm 30 và 120 phút giảm đạt 33,7-43,7%, đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng. Lô chuột uống viên Thanh Đường An ở liều 1 viên/kg thể trọng chuột sau 7 ngày có trị số glucose huyết trước và sau dung nạp glucose giảm tuy nhiên chưa đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng. Viên Thanh Đường An ở liều 2 viên/kg thể trọng sau 7 ngày uống làm giảm glucose huyết của chuột đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng. Mức độ giảm của lô uống Viên Thanh Đường An ở liều 2 viên/kg thể trọng đạt 32% so với lô chứng. Lô chuột uống viên Thanh Đường An ở liều 2 viên/kg thể trọng chuột sau 7 ngày có trị số glucose huyết ở các thời điểm 30 và 120 phút sau dung nạp glucose giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng và đạt mức độ giảm 33% ở thời điểm 120 phút sau dung nạp glucose. Do đó, viên Thanh Đường An được đánh giá là có tác dụng hạ glucose huyết tương tự thuốc đối chiếu glibenclamid trên chuột bình thường và trong thực nghiệm dung nạp glucose.

Bảng 2: *Kết quả khảo sát tác dụng của viên Thanh Đường An sau 7 và 14 ngày uống trên glucose huyết của chuột bị gây tăng glucose huyết bằng streptozotocin.*

Lô TN (n = 10)	Glucose huyết (mg/dl)	
	Sau 7 ngày uống	Sau 14 ngày uống
Chứng sinh lý	91,60 ± 5,50	103,90 ± 4,20
Chứng bệnh lý	218,0 ± 8,18#	210,50 ± 6,34#
Glibenclamid (5 mg/kg)	125,33 ± 20,69* (42,5%)	76,56 ± 7,83* (63,6%)
Thanh đường an (liều 1 viên/kg)	179,50 ± 8,88* (17,7%)	134,0 ± 5,13* (36,3%)
Thanh đường an (liều 2 viên/kg)	95,22 ± 18,20* (56,3%)	104,0 ± 7,79* (50,6%)

*# p < 0,05: Glucose huyết tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý * p < 0,05: Glucose huyết giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý.(...): Phần trăm hạ glucose huyết so với lô chứng bệnh lý.*

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy trị số glucose huyết ở lô chứng bệnh lý (tiêm phúc mạc streptozotocin liều 170 mg/kg) tăng 102-138%, đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý. Lô uống glibenclamid liều 5 mg/kg thể trọng sau 7 ngày và 14 ngày uống đều có trị số glucose huyết giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý và đạt mức giảm từ 42-64%. Lô chuột uống viên Thanh Đường An ở liều 1-2 viên/kg thể trọng chuột sau 7 ngày và 14 ngày uống đều có trị số glucose huyết giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý và đạt mức giảm 17,7-36,3% (liều 1 viên/kg) và 50-56% (liều 2 viên/kg) nên được đánh giá là có tác dụng hạ glucose huyết trên chuột bị gây tăng glucose huyết bằng streptozotocin.

Bảng 3: *Kết quả khảo sát tác dụng của viên Thanh Đường An sau 14 ngày uống trên sự dung nạp glucose của chuột bị gây tăng glucose huyết bằng streptozotocin*

Lô TN (n = 10)	Glucose huyết (mg/dl)	
	Sau 30 phút dung nạp glucose	Sau 120 phút dung nạp glucose
Chứng sinh lý	151,40 ± 7,01	110,90 ± 8,48
Chứng bệnh lý	254,88 ± 5,26#	217,75 ± 9,53#
Glibenclamid (5 mg/kg)	139,67 ± 13,60* (45,2%)	101,33 ± 15,35* (53,5%)
Thanh đường an (liều 1 viên/kg)	236,67 ± 6,79	197,22 ± 12,1
Thanh đường an (liều 2 viên/kg)	224,78 ± 9,53* (11,8%)	160,22 ± 20,18* (26,4%)

*# p < 0,05: Glucose huyết tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý * p < 0,05: Glucose huyết giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý. (...): Phần trăm hạ glucose huyết so với lô chứng bệnh lý.*

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy ở thời điểm 30 phút trong thực nghiệm dung nạp glucose, glucose huyết ở các lô chuột bị gây tăng glucose huyết bằng streptozotocin đều tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý với mức tăng đạt 68%. Ở thời điểm 120 phút trong thực nghiệm dung nạp glucose, trị số glucose huyết ở các lô bị gây tăng glucose huyết bằng streptozotocin đã giảm so với thời điểm 30 phút tuy nhiên vẫn còn tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ở cùng thời điểm với mức tăng đạt 96%. Lô uống thuốc đối chiếu glibenclamid liều 5 mg/kg thể trọng sau 14 ngày uống có trị số glucose huyết sau 30 phút và 120 phút dung nạp glucose giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý và đạt mức giảm từ 45,2-53,5%. Lô chuột uống viên Thanh Đường An ở liều 1 viên/kg thể trọng chuột sau 14 ngày uống có trị số glucose huyết sau dung nạp glucose không khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý. Lô chuột uống viên Thanh Đường An ở liều 2 viên/kg thể trọng chuột sau 14 ngày uống có trị số glucose huyết sau 30 phút dung nạp glucose giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý và đạt mức giảm 11,8%. Ở thời điểm sau dung nạp glucose 120 phút, viên Thanh Đường An ở liều 2 viên/kg thể trọng chuột sau 14 ngày uống làm giảm trị số glucose huyết đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý và đạt mức giảm 26,4%. Do đó, viên Thanh Đường An được đánh giá là có tác dụng điều hòa glucose huyết trong thực nghiệm dung nạp glucose trên chuột bị gây tăng glucose huyết bằng streptozotocin.

Bảng 4: *Kết quả khảo sát tác dụng của viên Thanh Đường An sau 14 ngày uống trên hàm lượng MDA trong gan-thận và hàm lượng GSH trong gan chuột bị gây tăng glucose huyết bằng streptozotocin.*

Lô TN (n = 10)	Hàm lượng MDA trong gan (nM/g protein)	Hàm lượng MDA trong thận (nM/g protein)	Hàm lượng GSH trong gan (nM/g protein)
Chứng sinh lý	62,58 ± 5,51	223,38 ± 15,28	11625,17 ± 378,14
Chứng bệnh lý	136,72 ± 10,41#	415,21 ± 14,35#	9332,73 ± 899,68#
Glibenclamid (5 mg/kg)	69,55 ± 8,83* (49,1%)	165,63 ± 5,90*# (60,1%)	14057,11 ± 715,93* (50,6%)
Thanh đường an (liều 1 viên/kg)	70,94 ± 6,71* (48,1%)	163,68 ± 8,91*# (60,6%)	14452,66 ± 1063,37* (54,9%)
Thanh đường an (liều 2 viên/kg)	68,53 ± 5,49* (49,9%)	182,25 ± 8,21*# (56,1%)	13033,50 ± 968,70* (39,7%)

*# p < 0,05 so với lô chứng sinh lý. * p < 0,05 so với lô chứng bệnh lý (...): Phần trăm giảm so với lô chứng bệnh lý.*

Kết quả ở bảng 4 cho thấy hàm lượng MDA trong gan ở lô chứng bệnh lý tăng 118,5%, đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý, chứng tỏ gan bị tổn thương peroxy hóa gây bởi streptozotocin liều tiêm 170 mg/kg thể trọng chuột. Hàm lượng MDA trong gan của hai lô thử uống viên Thanh Đường An ở liều 1-2 viên/kg thể trọng chuột sau 14 ngày uống và lô đối chiếu glibenclamid giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý và không cho thấy sự khác biệt về mặt thống kê với lô chứng sinh lý.

Đồng thời, hàm lượng MDA trong thận ở lô chứng bệnh lý tăng 85,9%, đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bình thường chứng tỏ thận bị tổn thương peroxy hóa gây bởi streptozotocin liều tiêm 170 mg/kg thể trọng chuột.

Hàm lượng MDA trong thận của hai lô thử uống viên Thanh Đường An ở liều 1-2 viên/kg thể trọng chuột sau 14 ngày uống và lô đối chiếu glibenclamid giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý. Ngoài ra, hàm lượng MDA trong thận của hai lô thử uống viên Thanh Đường An ở liều 1-2 viên/kg thể trọng chuột sau 14 ngày uống và lô đối chiếu glibenclamid giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý.

Hàm lượng GSH trong gan ở lô chứng bệnh lý giảm 19,7%, đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý. Hàm lượng GSH trong gan của hai lô thử uống viên Thanh Đường An ở liều 1-2 viên/kg thể trọng chuột sau 14 ngày uống và lô đối chiếu glibenclamid tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý và không cho thấy sự khác biệt về mặt thống kê với lô chứng sinh lý.

BÀN LUẬN

Tác dụng hạ glucose huyết của dây thìa canh, thành phần chủ vị trong viên Thanh Đường An đã được công bố qua nhiều nghiên cứu trong và ngoài nước. Dịch chiết nước của lá dây thìa canh có tác dụng điều hòa glucose huyết ở chuột cống được gây tăng glucose huyết bằng streptozotocin[6]. Ngoài ra, giảo cổ lam[4], chè đắng[9], oligosaccharid từ rễ mạch môn[1] đã được công bố có tác dụng hạ glucose huyết, giảm các biến chứng do bệnh Đái tháo đường, bảo vệ gan; schisandrin hoạt chất chính trong ngũ vị tử[10] và astragalosid IV hoạt chất trong rễ hoàng kỳ có tác dụng bảo vệ gan-thận trước tổn thương oxy hóa tế bào gây bởi sự tăng glucose huyết[5].

Streptozotocin là hợp chất glucosamine nitrosourea. Streptozotocin có cấu trúc tương tự như glucose và được vận chuyển vào tế bào β bởi các protein vận chuyển glucose GLUT2. Tại tế bào β, streptozotocin phá hủy tế bào bằng cách gây sự alkyl hóa ADN, protein, sản sinh nitric oxid quá độ dẫn đến sự tổn thương oxy hóa tế bào β[1,10]. Kết quả của đề tài cho thấy thời điểm 30 phút sau khi dung nạp glucose, nồng độ glucose huyết ở các lô bị gây bệnh lý bằng streptozotocin đều có glucose huyết tăng 68%, đạt ý nghĩa thống kê so với lô bình thường bị dung nạp glucose, cho thấy streptozotocin gây độc trên các tế bào β của tuyến tụy, ảnh hưởng đến chức năng tiết insulin nên glucose huyết tăng mạnh sau khi cho chuột uống glucose. Viên Thanh Đường An sau 14 ngày uống thể hiện tác dụng điều hòa glucose huyết trong thực nghiệm dung nạp glucose trên chuột bị gây tăng glucose huyết bằng streptozotocin.

Streptozotocin không chỉ gây tổn thương tế bào β tụy tạng mà còn gây tổn thương oxy hóa các tế bào khác do gây sản sinh các gốc tự do oxy và gốc tự do nitơ, gây rối loạn chức năng ty thể (mitochondrial dysfunction) và gây peroxy hóa lipid màng tế bào. Điều này giải thích độc tính tương đối của streptozotocin đến tế bào gan thận khi thuốc được chuyển hóa[7]. Malondialdehyd (MDA) là sản phẩm của quá trình peroxy hóa lipid tế bào. Hàm lượng MDA trong gan hay thận càng cao chứng tỏ tế bào bị tổn thương peroxy hóa lipid càng nặng. Glutathion (GSH) là một chất chống oxy hóa nội sinh, một chất kháng độc và là một cofactor thiết yếu cho các enzym

chống oxy hóa. Trong tế bào, glutathion có thể ở dạng tự do hay kết hợp với protein. Glutathion tự do hiện diện chủ yếu ở dạng khử (GSH), có thể được chuyển hóa thành dạng oxy hóa (GSSG) trong quá trình stress oxy hóa và được nghịch chuyển lại bởi tác động của enzym glutathion reductase. Hàm lượng glutathion được xem là một chất chỉ thị có độ nhạy cao để đánh giá chức năng và sự sống còn của tế bào. Streptozotocin gây ức chế enzyme glutathion reductase trong ty thể do đó làm giảm GSH [7]. Kết quả viên Thanh Đường An làm giảm hàm lượng MDA trong gan hay thận và làm tăng hàm lượng GSH trong gan chứng tỏ viên Thanh Đường An có tác dụng bảo vệ gan và thận trước tổn thương oxy hóa gây bởi streptozotocin, một chất gây mô hình tăng glucose huyết thực nghiệm.

KẾT LUẬN

Viên Thanh Đường An ở liều 2 viên/kg thể trọng chuột có tác dụng hạ glucose huyết trên chuột bình thường, trên chuột bị gây tăng glucose huyết và trong thực nghiệm dung nạp glucose. Tác dụng hạ glucose huyết của viên Thanh Đường An liều 2 viên/kg thể trọng chuột trên chuột bị gây tăng glucose huyết tương tự như thuốc đối chiếu glibenclamid. Ngoài ra, viên Thanh Đường An ở liều 1-2 viên/kg thể trọng chuột có tác dụng bảo vệ gan và thận trước tổn thương oxy hóa gây bởi streptozotocin.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chen X, Tang J, Xie W, Wang J, Jin J, Ren J, Jin L, Lu J. (2013). "Protective effect of the polysaccharide from Ophiopogon japonicus on streptozotocin-induced diabetic rats". *Carbohydr. Polym.*; 94(1):378-385.
2. Cheseman K.H. (1985). "Studies on lipid peroxidation in normal and tumor tissues". *J. Biol. Chem*., 235: 507–514.
3. Hissin P.J, Hilf R.(1976). "A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues". *Anal. Biochem*, 74: 214-226.
4. Huyen VT, Phan DV, Thang P, Hoa NK, Ostenson CG. (2013). "Gynostemma pentaphyllum Tea Improves Insulin Sensitivity in Type 2 Diabetic Patients". *J. Nutr. Metab.*; 2013:765383.
5. Kim J, Moon E, Kwon S. (2014). "Effect of Astragalus membranaceus extract on diabetic nephropathy". *Endocrinol. Diabetes Metab. Case Rep.* ; 2014:140063.
6. Leach MJ. (2007). "Gymnema sylvestre for diabetes mellitus: a systematic review". *J. Altern. Complemen.t Med.*;13(9): 977-983.
7. Raza H, Annie John (2012). "Streptozotocin-Induced Cytotoxicity, Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Human Hepatoma HepG2 Cells". *Int. J. Mol. Sci*., 13: 5751-5767.
8. Viện Dược liệu (2006). *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ Dược thảo*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, tr.199-201.
9. Yoon JY, Jeong HY, Kim SH, Kim HG, Nam G, Kim JP, Yoon DH, Hwang H, Kimc TW, Hong S, Cho JY (2013). "Methanol extract of Evodia lepta displays Syk/Src-targeted anti-inflammatory activity". *J. Ethnopharmacol*.; 148(3): 999-1007.
10. Zhang M, Liu M, Xiong M, Gong J, Tan X. (2012). "Schisandra chinensis fruit extract attenuates albuminuria and protects podocyte integrity in a mouse model of streptozotocin-induced diabetic nephropathy". *J. Ethnopharmacol*.; 141(1): 111-118.

Ngày nhận bài báo: *27/02/2015*

Ngày phản biện nhận xét bài báo: *15/05/2015*

Ngày bài báo được đăng: *08/09/2015*