

EFFECTS OF *Lasia spinosa* STEM EXTRACT ON ENZYME GLUCOSE-6-PHOSPHATASE ACTIVITY IN THE LIVER AND KIDNEYS OF DIABETIC MICE

Ta Lam Tai*, Tran Chi Linh, Pham Nhi Linh, Dai Thi Xuan Trang

Can Tho University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Received: 23/4/2021</p> <p>Revised: 24/5/2021</p> <p>Published: 28/5/2021</p>	<p>The study was conducted to evaluate the regulatory effects enzyme glucose-6-phosphatase activity in the liver and kidney of <i>Lasia spinosa</i> stem extract on alloxan monohydrate-induced diabetes in mice. In this investigation, diabetes has been induced by intraperitoneal injection of alloxan monohydrate. Induction of diabetes increased the level of blood glucose and enzyme glucose-6-phosphatase significantly ($p < 0.05$). Administration of <i>Lasia spinosa</i> at 100, 200 and 400 mg/kg body weight doses to alloxan monohydrate induced diabetic mice resulted in a significant decrease ($p < 0.05$) in blood glucose level of the extract administered groups as compared to the diabetic control group. The <i>Lasia spinosa</i> reduced the enzyme glucose-6-phosphatase activity in the liver, kidney was found to be ameliorated in diabetic mice. Histopathological alternations of the liver, kidney tissues were also found to be restored in <i>Lasia spinosa</i> treated diabetic groups. The results showed that <i>Lasia spinosa</i> stem extract, at specific doses, has an anti-diabetic effect through its regulates enzyme glucose-6-phosphatase activity, protect liver and kidney. Hence, this plant extract may be beneficial in the treatment of diabetes.</p>
<p>KEYWORDS</p> <p>Alloxan monohydrate</p> <p>Blood glucose</p> <p>Diabetes</p> <p>Glucose-6-phosphatase</p> <p><i>Lasia spinosa</i> L.</p>	

ẢNH HƯỞNG CỦA CAO CHIẾT TỪ THÂN CÂY MỚP GAI (*Lasia spinosa*) ĐẾN HOẠT TÍNH CỦA ENZYME GLUCOSE-6-PHOSPHATASE Ở GAN VÀ THẬN CỦA CHUỘT BỊ BỆNH ĐÁI THÁO ĐƯỜNG

Tạ Lâm Tài*, Trần Chí Linh, Phạm Nhi Linh, Đài Thị Xuân Trang

Trường Đại học Cần Thơ

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
<p>Ngày nhận bài: 23/4/2021</p> <p>Ngày hoàn thiện: 24/5/2021</p> <p>Ngày đăng: 28/5/2021</p>	<p>Nghiên cứu được thực hiện để đánh giá tác động điều hòa hoạt tính enzyme glucose-6-phosphatase trong gan và thận của cao chiết thân mớp gai trên chuột bị bệnh đái tháo đường do alloxan monohydrate. Trong nghiên cứu này, bệnh đái tháo đường ở chuột đã được gây ra bằng cách tiêm alloxan monohydrate vào trong xoang bụng chuột. Khởi phát bệnh đái tháo đường đã làm tăng hàm lượng glucose huyết và glucose-6-phosphatase một cách đáng kể ($p < 0,05$). Cao chiết từ thân mớp gai được sử dụng ở liều 100, 200 và 400 mg/kg đối với chuột đái tháo đường do alloxan monohydrate gây ra làm giảm đáng kể ($p < 0,05$) hàm lượng glucose huyết so với nhóm đái tháo đường. Cao chiết từ thân mớp gai làm giảm hoạt tính của enzyme glucose-6-phosphatase ở gan và thận được phát hiện ở chuột đái tháo đường. Phân tích mô bệnh học của gan và thận cho thấy sự phục hồi khi sử dụng cao chiết thân mớp gai điều trị cho các nhóm chuột đái tháo đường. Cao chiết từ thân mớp gai ở liều lượng cụ thể có tác dụng chống bệnh đái tháo đường thông qua việc điều chỉnh hoạt động của enzyme glucose-6-phosphatase giúp bảo vệ gan và thận. Do đó, cao chiết thực vật này có lợi trong việc điều trị bệnh đái tháo đường.</p>
<p>TỪ KHÓA</p> <p>Alloxan monohydrate</p> <p>Đái tháo đường</p> <p>Glucose huyết</p> <p>Glucose-6-phosphatase</p> <p>Mớp gai</p>	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.4421>

* Corresponding author. Email: taib1805544@student.ctu.edu.vn

1. Giới thiệu

Alloxan monohydrate (5,5-dihydroxyl pyrimidine-2,4,6-trione) là một hợp chất hữu cơ dẫn xuất của urea có khả năng gây ung thư và gây độc tế bào [1]. Alloxan monohydrate thường được sử dụng để đánh giá tiềm năng điều trị đái tháo đường của các hợp chất tinh khiết và chiết xuất thực vật [2]. Bệnh đái tháo đường thường liên quan trực tiếp đến sự rối loạn chuyển hóa của enzyme glucose-6-phosphatase [3], hexokinase [4] và glucose-6-phosphate dehydrogenase [5]. Trong đó, glucose-6-phosphatase là enzyme cần thiết cho việc điều hòa hàm lượng glucose huyết ở người bệnh đái tháo đường. Tăng hoạt động của enzyme glucose-6-phosphatase là một trong những nguyên nhân chính gây nên bệnh đái tháo đường [6]. Một số nghiên cứu đã chứng minh rằng, enzyme glucose-6-phosphatase tìm thấy chủ yếu trong gan, thậm chí giữ vai trò quan trọng trong việc điều hòa glucose huyết ở mức bình thường [7]. Do đó, hoạt động của enzyme glucose-6-phosphatase ở gan, thậm chí được điều hòa là một trong những mục tiêu nghiên cứu thuốc hỗ trợ trị bệnh đái tháo đường. Bên cạnh đó, alloxan monohydrate cũng gây tổn thương đến cấu trúc gan chuột dẫn đến sự hình thành các tổ chức đại thực bào, phá vỡ trật tự của các tế bào gan [8]. Đối với thận, alloxan monohydrate gây ra viêm cầu thận, tắc nghẽn, thoái hóa mạch máu, bong tróc và thoái hóa lớp biểu mô liên kết [9].

Cây mớp gai (*Lasia spinosa*) thường được sử dụng để chữa phù thũng, đau nhức các khớp xương từ đầu gối xuống bàn chân, đau nhức lưng, đau nhức đầu, táo bón, ngứa lở ngoài da cũng như chữa ho và viêm họng, các bệnh xơ gan, di chứng do sốt rét, trị tê thấp, đau cổ, cầm máu, trị lã [10], [11]. Bên cạnh đó, nghiên cứu về thành phần hóa học cho thấy, trong cây mớp gai có chứa alkaloid, carbohydrate, saponin, glycoside, tannin, phenolic và flavonoid [12]. Ngoài ra, cây mớp gai cũng có dược tính cao, bao gồm kháng giun sán, kháng viêm, kháng oxy hóa, điều hòa lipid huyết, hạn chế khối u [12]. Do đó, nghiên cứu này tập trung vào dược tính của thân mớp gai được sử dụng như một loại thuốc truyền thống ở An Giang trong phòng và điều trị nhiều bệnh nguy hiểm, nhằm làm sáng tỏ tiềm năng dược liệu của loài thực vật này.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu



Hình 1. Hình ảnh cây mớp gai sau khi được thu về

Thân cây mớp gai được thu tại xã Châu Lăng, huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang. Mẫu cây mớp gai được định danh bởi PGS. TS. Ngô Thanh Phong (phụ trách giảng dạy các học phần Thực vật học tại Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ).

Vật liệu thí nghiệm: Thân cây mớp gai. Chuột *Mus musculus* giống đực khỏe mạnh có khối lượng 30-35 gram được cung cấp bởi viện Pasteur thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Điều chế cao chiết

Mẫu thân mớp gai sau khi thu về được tiến hành rửa sạch, thái lát sấy khô ở nhiệt độ từ $45\pm 1^{\circ}\text{C}$. Mẫu khô được xay nhuyễn thành bột và được ngâm trong ethanol 99,5%. Mẫu được tiến

hành ngâm 03 lần, mỗi lần ngâm khoảng 24 giờ, dịch ngâm được cô quay chân không đuổi dung môi thu được cao ethanol thân mớp gai.

2.3. Khảo sát hiệu quả điều hòa enzyme glucose-6-phosphatase gan và thận chuột

Chuột khỏe mạnh, được tiến hành gây tổn thương bằng alloxan monohydrate liều 135 mg/kg khối lượng chuột (alloxan monohydrate được pha trong dung dịch nước muối sinh lý 0,9% và được tiêm vào xoang bụng chuột). Những con chuột được xem là bị tổn thương bởi alloxan monohydrate khi có hàm lượng glucose huyết ≥ 200 mg/dL [13]. Sau 7 ngày tiêm alloxan monohydrate, những con chuột có hàm lượng glucose huyết ≥ 200 mg/dL được chọn và đưa vào trong bố trí thí nghiệm. Chuột được bố trí thành 6 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức gồm 5 con chuột bao gồm: nhóm chuột đối chứng sinh lý (chuột bình thường); nhóm đối chứng bệnh lý (chuột bị tổn thương bởi alloxan monohydrate không được điều trị); nhóm chuột được điều trị bằng Glucophage liều 108 mg/kg; nhóm chuột được điều trị bằng cao chiết thân mớp gai lần lượt ở các liều 100; 200; 400 mg/kg. Trong 28 ngày thử nghiệm, chuột được đo hàm lượng glucose huyết cách 7 ngày/1 lần. Kết thúc thí nghiệm chuột được giải phẫu thu lấy gan, thận và chia làm 2 phần:

Phần 1: Xác định hàm lượng enzyme glucose-6-phosphatase

Hoạt động của enzyme glucose-6-phosphatase trong gan và thận được xác định theo quy trình của Punitha (2005) [14] có hiệu chỉnh. Gan và thận chuột được thu lấy để xác định hoạt tính của enzyme glucose-6-phosphatase bằng cách nghiền gan của các nghiệm thức trong 1 mL dung dịch đệm sucrose (0,25 M; pH = 6,5). Dịch đồng thể được đem ly tâm ở 4°C với tốc độ 3000 vòng/phút trong 10 phút. Phần dịch nổi được sử dụng để khảo sát hoạt động của enzyme glucose-6-phosphatase. Hoạt động của enzyme glucose-6-phosphatase được thực hiện theo quy trình sau: Hỗn hợp phản ứng gồm 100 μ L dung dịch sucrose/EDTA (0,1 M; pH=6,5), 200 μ L glucose-6-phosphate 0,1 M được pha trong dung dịch đệm citrate (0,1 M; pH=6,5) cùng với 100 μ L dịch đệm citrate (0,1 M; pH=6,5). Sau đó hỗn hợp phản ứng được thêm vào 100 μ L dung dịch đồng thể đã được ly tâm, lắc mạnh eppendorf rồi đem ủ ở 37°C trong 30 phút. Phản ứng được kết thúc bằng 1 mL TCA/ascorbate (20%/2%, w/v) và tiếp tục đem ly tâm với tốc độ 3000 vòng/phút trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. Tiếp theo, lấy 500 μ L vừa ly tâm cho vào eppendorf 2 mL có sẵn 250 μ L ammonium molybdate 1%. Cuối cùng, hoạt động của enzyme glucose-6-phosphatase được khảo sát gián tiếp thông qua sự thay đổi hàm lượng phosphate vô cơ được tạo ra do sự chuyển hóa glucose-6-phosphate thành glucose và phosphate vô cơ, bằng cách đo quang phổ góc phosphate vô cơ được phát hiện ở bước sóng 820 nm.

Phần 2. Xác định cấu trúc mô gan và thận chuột

Gan và thận chuột được cố định trong formol 4% sử dụng phương pháp nhuộm kép hai màu tương phản là hematoxylin và eosin Y để quan sát cấu trúc vi thể mô bệnh học gan chuột theo mô tả của Oyebadejo *et al.* (2014) [9], có hiệu chỉnh. Thông qua quan sát cấu trúc mô gan, thận có thể xác định được mức độ tổn thương mô gan, thận của alloxan monohydrate và khả năng phục hồi tổn thương mô học gan, thận dưới tác động của cao chiết thân mớp gai.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả điều chế cao chiết ethanol thân mớp gai

Cao chiết thân mớp gai được điều chế bằng phương pháp ngâm trong ethanol 99,5%, với tỷ lệ 500 g bột thân mớp gai trong 500 mL ethanol (1:10, w:v). Sau 24 giờ ngâm, tiến hành cô quay chân không đuổi dung môi thu được 5 g cao chiết ethanol, tỷ lệ thu hồi cao chiết là 1%.

3.2. Ảnh hưởng của alloxan monohydrate và cao chiết thân mớp gai đến hàm lượng glucose huyết

Hàm lượng glucose huyết của chuột thử nghiệm dưới tác động của alloxan monohydrate và cao chiết thân mớp gai được trình bày trong Bảng 1. Chuột bình thường uống nước cất không có sự thay đổi về hàm lượng glucose huyết. Sau khi tiêm alloxan monohydrate, các nhóm chuột thử nghiệm có hàm lượng glucose huyết tăng cao từ $377,64 \pm 6,66$ đến $479,56 \pm 34,31$ mg/dL (gấp 3,1

đến 3,64 lần so với lúc chưa gây tổn thương). Như vậy, alloxan monohydrate đã có tác động xấu đến chuột thử nghiệm làm cho hàm lượng glucose huyết tăng cao bất thường. Kết quả này có sự tương đồng với một số nghiên cứu trước đây của Okyar (2001), Eman (2003), Kim (2009) về khả năng làm tăng hàm lượng glucose huyết của alloxan monohydrate [15]-[17]. Nhóm nghiên cứu nhận thấy, nhóm chuột bị gây tổn thương bởi alloxan monohydrate và không được điều trị có hàm lượng glucose huyết tiếp tục tăng từ $377,64 \pm 6,66$ mg/dL lên $581,04 \pm 15,35$ mg/dL. Alloxan monohydrate gây ra sự phá hủy các tế bào β của các đảo nhỏ Langerhans trong tuyến tụy dẫn đến giảm tổng hợp và bài tiết insulin, làm tăng glucose huyết ở chuột [18]. Trong khi đó, nhóm chuột bị tổn thương bởi alloxan monohydrate được điều trị bằng Glucophage liều 108 mg/kg thì hàm lượng glucose huyết giảm dần từ $393,48 \pm 7,80$ mg/dL (sau khi bị tổn thương) xuống còn $193,68 \pm 13,51$ mg/dL (sau 21 ngày điều trị), giảm 2,03 lần so với lúc chưa được điều trị.

Bảng 1. Hàm lượng glucose huyết (mg/dL) của chuột thử nghiệm

Nghiem thuc	Truoc khi gay ton thuong	Hàm lượng glucose huyết chuột sau khi gây bệnh và điều trị (mg/dL)			
		Sau khi gây ton thuong	Sau khi điều trị		
			07 ngày	14 ngày	21 ngày
BT	$123,30^{aA} \pm 4,02$	$126,00^{dA} \pm 6,36$	$125,64^{dA} \pm 5,40$	$128,52^{dA} \pm 6,05$	$128,16^{dA} \pm 6,16$
AM	$121,76^{aE} \pm 7,58$	$377,64^{cD} \pm 6,66$	$395,28^{aC} \pm 10,07$	$480,96^{aB} \pm 11,90$	$581,04^{aA} \pm 15,35$
AM, Glu108	$126,82^{aC} \pm 12,0$	$393,48^{bcA} \pm 7,80$	$338,76^{cA} \pm 90,28$	$242,64^{bB} \pm 16,95$	$193,68^{bB} \pm 13,51$
AM, MG100	$131,46^{aE} \pm 2,93$	$437,08^{abA} \pm 56,42$	$380,22^{bB} \pm 52,18$	$318,82^{bC} \pm 25,01$	$180,50^{bD} \pm 16,51$
AM, MG200	$124,86^{aE} \pm 2,67$	$479,56^{aA} \pm 34,31$	$306,60^{cB} \pm 11,86$	$239,12^{bC} \pm 16,56$	$181,72^{bD} \pm 16,40$
AM, MG400	$126,06^{aD} \pm 1,11$	$411,36^{bcA} \pm 49,29$	$279,00^{cB} \pm 20,24$	$229,60^{cC} \pm 14,34$	$147,40^{cD} \pm 8,76$

Ghi chú: các mẫu tự theo sau các giá trị trong cùng một cột hoặc hàng giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa về mặt thống kê ở mức 5%. Chữ in hoa: so sánh theo hàng; chữ viết thường: so sánh theo cột. BT - Nghiệm thức chuột làm đối chứng sinh lý; AM - Chuột bình thường bị tổn thương bởi alloxan monohydrate; AM, Glu108 - Chuột bình thường tổn thương bởi alloxan monohydrate và được điều trị bằng Glucophage liều 108 mg/kg; AM, MG100 AM, MG 200 AM, MG 400 - Chuột bình thường tổn thương bởi alloxan monohydrate và được điều trị bằng cao chiết thân mướp gai liều 100 mg/kg, 200 mg/kg, 400 mg/kg.

Trong khi alloxan monohydrate làm tăng hàm lượng glucose huyết ở chuột thử nghiệm thì việc sử dụng cao chiết thân mướp gai lại có những tác động tích cực đến hàm lượng glucose huyết ở nhóm chuột bị tổn thương. Cao chiết thân mướp gai giúp giảm hàm lượng glucose huyết trên chuột bị tổn thương bởi alloxan monohydrate. Cao chiết thân mướp gai liều 100 mg/kg làm cho hàm lượng glucose huyết giảm từ $437,08 \pm 56,42$ mg/dL xuống còn $180,50 \pm 16,51$ mg/dL sau 21 ngày điều trị. Tương tự vậy, hàm lượng glucose huyết ở chuột bị tổn thương bởi alloxan monohydrate ($479,56 \pm 34,31$ mg/dL) sau khi sử dụng cao chiết thân mướp gai liều 200 mg/kg giảm còn $181,72 \pm 16,40$ mg/dL. Đặc biệt, cao chiết thân mướp gai ở liều 400 mg/kg ($147,40 \pm 8,76$ mg/dL) làm cho hàm lượng glucose huyết giảm tương đương ($p > 0,05$) với hàm lượng glucose huyết lúc chưa bị tổn thương ($126,06 \pm 1,11$ mg/dL). Nhìn chung, cao chiết thân mướp gai ở tất cả các liều khảo sát đã làm giảm một cách đáng kể hàm lượng glucose huyết của chuột bị tổn thương bởi alloxan monohydrate sau 21 ngày sử dụng. Cao chiết thân mướp gai tại liều 100 mg/kg đã có thể làm cho hàm lượng glucose huyết của chuột về mức bình thường (< 200 mg/dL). Từ đó, cho thấy tiềm năng ứng dụng của loài thực vật này trong việc điều hòa glucose huyết. So với nhóm chuột sử dụng thuốc thương mại Glucophage liều 108 mg/kg khối lượng chuột hiệu quả hạ glucose huyết cũng diễn ra đáng kể so với nhóm chuột bị tổn thương bởi alloxan monohydrate. Glucophage có hiệu quả hạ glucose huyết kém hơn cao chiết thân mướp gai ở liều 400 mg/kg.

3.3. Hiệu quả điều hòa hàm lượng enzyme glucose-6-phosphatase ở gan và thận chuột

Khả năng điều hòa hoạt động của enzyme glucose-6-phosphatase của cao chiết thân mướp gai được tiến hành ở những con chuột bị tổn thương bởi alloxan monohydrate. Nghiên cứu này dựa vào hàm lượng phosphate vô cơ được sinh ra trong quá trình chuyển hóa glucose-6-phosphate

thành glucose sẽ đánh giá được hoạt động của enzyme glucose-6-phosphatase ở gan và thận chuột được chọn làm thí nghiệm. Hàm lượng phosphate vô cơ ở gan, thận chuột được trình bày trong Bảng 2.

Kết quả thực nghiệm trình bày trong Bảng 2 cho thấy, hàm lượng phosphate vô cơ được tạo ra do quá trình chuyển hóa glucose-6-phosphate của enzyme glucose-6-phosphatase ly trích từ gan, thận chuột bị thương bởi alloxan monohydrate không điều trị là cao nhất ($9,93 \pm 0,36$ mg/dL ở gan; $6,74 \pm 0,49$ mg/dL ở thận), khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,5$) so với nhóm chuột bình thường. Ở nhóm chuột bị tổn thương bởi alloxan monohydrate được điều trị bằng Glucophage liều 108 mg/kg có hàm lượng phosphate vô cơ tạo ra ở gan là $2,00 \pm 0,22$ mg/dL, ở thận là $3,65 \pm 0,17$ mg/dL thấp hơn nhóm chuột bị tổn thương bởi alloxan monohydrate không được điều trị, tương đương giảm 4,97 lần ở gan và 1,85 lần ở thận.

Cao chiết thân mướp gai lần lượt ở các liều 100, 200 và 400 mg/kg làm cho chuột bị tổn thương bởi alloxan monohydrate có hàm lượng phosphate vô cơ tạo ra ở gan, thận giảm tỷ lệ nghịch với liều dùng của cao chiết. Nghiên cứu nhận thấy, nhóm chuột được điều trị bằng cao chiết thân mướp gai liều 200 mg/kg có hàm lượng phosphate vô cơ tạo ra ở gan và thận lần lượt là $2,24 \pm 0,14$ mg/dL và $2,52 \pm 0,17$ mg/dL, tương ứng giảm 4,43 và 2,67 lần so với nhóm chuột bị tổn thương bởi alloxan monohydrate không được điều trị. Nhóm chuột được điều trị bằng cao chiết thân mướp gai liều 400 mg/kg làm cho hàm lượng phosphate vô cơ tạo ra là ít nhất $1,69 \pm 0,12$ mg/dL ở gan và $1,68 \pm 0,15$ mg/dL ở thận, giảm lần lượt là 5,90 và 4,02 lần so với nhóm chuột bị tổn thương bởi alloxan monohydrate không được điều trị và khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$). Kết hợp giữa hàm lượng glucose huyết đã xác định được ở Bảng 1 và hàm lượng phosphate vô cơ trình bày trong Bảng 2 cho thấy có một mối liên kết giữa hai chỉ tiêu này. Hàm lượng phosphate vô cơ càng cao chứng tỏ hoạt động của enzyme glucose-6-phosphatase càng mạnh. Hoạt tính của enzyme glucose-6-phosphatase càng mạnh dẫn đến sự giải phóng của nhiều glucose, làm tăng hàm lượng glucose huyết dẫn đến bệnh đái tháo đường. Cao chiết thân mướp gai ở các liều 100, 200 và 400 mg/kg đã làm giảm hoạt tính của enzym glucose-6-phosphatase ở gan, thận chuột dẫn đến giảm hàm lượng glucose huyết và phosphate vô cơ. Điều này đã được chứng minh thông qua hàm lượng glucose huyết và phosphate vô cơ được trình bày trong Bảng 1 và 2.

Bảng 2. Hàm lượng phosphate vô cơ ở gan, thận chuột

Nghiệm thức	Nồng độ phosphate vô cơ (mg/dL)	
	Gan	Thận
BT	$2,75^c \pm 0,21$	$1,89^d \pm 0,14$
AM	$9,93^a \pm 0,36$	$6,74^a \pm 0,49$
AM, Glu108	$2,00^d \pm 0,22$	$3,65^b \pm 0,17$
AM, MG100	$4,30^b \pm 0,14$	$3,63^b \pm 0,21$
AM, MG200	$2,24^d \pm 0,14$	$2,52^c \pm 0,17$
AM, MG400	$1,69^e \pm 0,12$	$1,68^d \pm 0,15$

Ghi chú: Các mẫu tự theo sau các giá trị trong cùng một cột giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa về mặt thống kê ở mức 5% ($p < 0,05$). BT - Nghiệm thức chuột làm đối chứng sinh lý; AM - Chuột bình thường tổn thương bởi alloxan monohydrate; AM, Glu108 - Chuột bình thường tổn thương bởi alloxan monohydrate và được điều trị bằng Glucophage liều 108 mg/kg; AM, MG100 AM, MG200 AM, MG400 - Chuột bình thường tổn thương bởi alloxan monohydrate và được điều trị bằng cao chiết thân mướp gai liều 100 mg/kg, 200 mg/kg, 400 mg/kg.

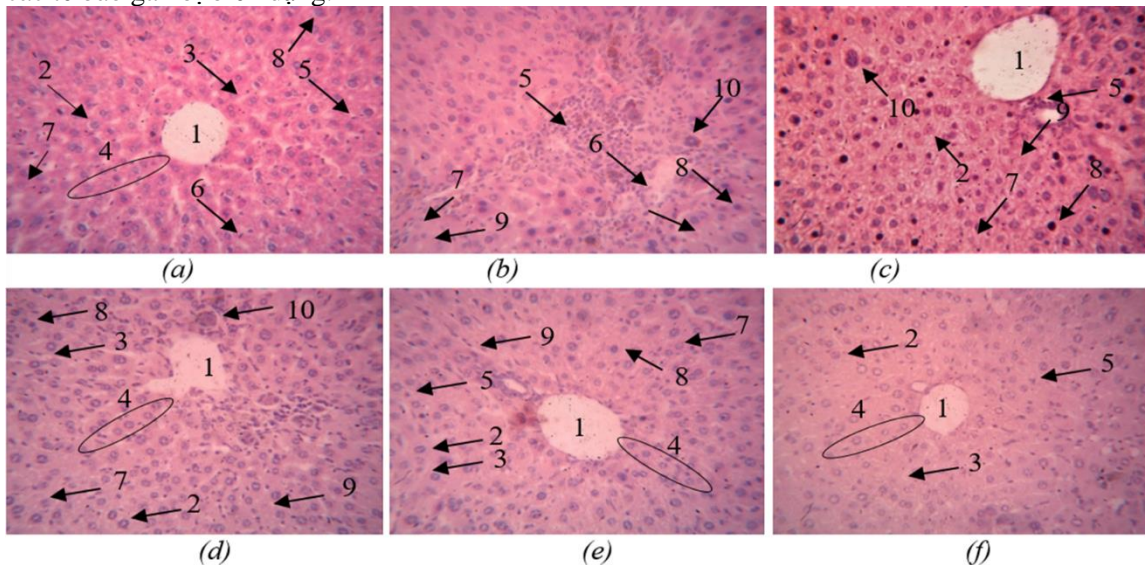
3.4. Hiệu quả bảo vệ gan, thận chuột thông qua khả năng phục hồi cấu trúc vi thể

Khả năng bảo vệ gan, thận của cao chiết thân mướp gai trên chuột bị tổn thương bởi alloxan monohydrate được trình bày trong Hình 2 và Hình 3. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh thực hiện tiêu bản mô bệnh học là một bằng chứng khẳng định khả năng phục hồi tổn thương về mặt giải phẫu cấu trúc tế bào gan và thận.

Ở nhóm chuột bình thường (Hình 2 (a)), các tế bào gan tròn đều xếp khít nhau, hướng về tĩnh mạch trung tâm đều tương ứng với thí nghiệm của Phan Kim Định và đồng tác giả (2018) [8].

Ở nhóm chuột bị tổn thương bởi alloxan monohydrate (Hình 2 (b)), tế bào gan chuột bị tổn thương nghiêm trọng, xuất hiện nhiều tổ chức đại thực bào len lỏi giữa các tế bào và bao quanh các mạch, không thấy rõ hình dạng của tĩnh mạch trung tâm, xuất hiện các biến dạng của nhân tế bào, cụ thể tế bào nhân đông, tế bào nhân tan, tế bào mất nhân. Ngược lại, nhóm chuột bị tổn thương bởi alloxan monohydrate được điều trị bằng Glucophage thì cho kết quả phục hồi cấu trúc gan khả quan (Hình 2 (c)), giảm số lượng của các tổ chức đại thực bào song song với đó đã nhìn rõ được tĩnh mạch trung tâm, tuy nhiên vẫn còn xuất hiện các biến dạng của tế bào gan.

Ở các nhóm chuột bị tổn thương được điều trị bằng cao chiết thân mướp gai, mang lại hiệu quả rất tích cực về việc phục hồi tổn thương cấu trúc giải phẫu gan của chuột bị tổn thương. Ở nhóm chuột được điều trị bằng cao chiết thân mướp gai liều 100 mg/kg (Hình 2 (d)), gan chuột đã có dấu hiệu phục hồi, tuy nhiên tĩnh mạch trung tâm vẫn chưa rõ, khả năng phục hồi kém hơn thuốc thương mại glucophage. Ở nhóm chuột được điều trị bằng cao chiết thân mướp gai liều 200 mg/kg (Hình 2 (e)), gan chuột được phục hồi tương đương với Glucophage và có một số điểm vượt trội hơn, các tế bào bình thường tròn đều, xếp khít nhau hướng về tĩnh mạch trung tâm điều này thì Glucophage chưa làm được trong 21 ngày điều trị. Ở nhóm chuột bị tổn thương bởi alloxan monohydrate được điều trị bằng cao chiết thân mướp gai liều 400 mg/kg (Hình 2 (f)), mang lại hiệu quả vượt trội nhất trong các nghiệm thức điều trị. Cao chiết thân mướp gai liều 400 mg/kg đã làm cấu trúc mô gan phục hồi về hình dạng tương đương với nhóm chuột bình thường: tĩnh mạch trung tâm phục hồi hình dạng rõ rệt, các tế bào gan xếp khít nhau hướng về tĩnh mạch trung tâm, các tổ chức đại thực bào giảm nhiều nhất trong các nghiệm thức điều trị còn lại, ít nhìn thấy được các tế bào gan bị biến dạng.



Hình 2. Hình ảnh mô bệnh học gan chuột

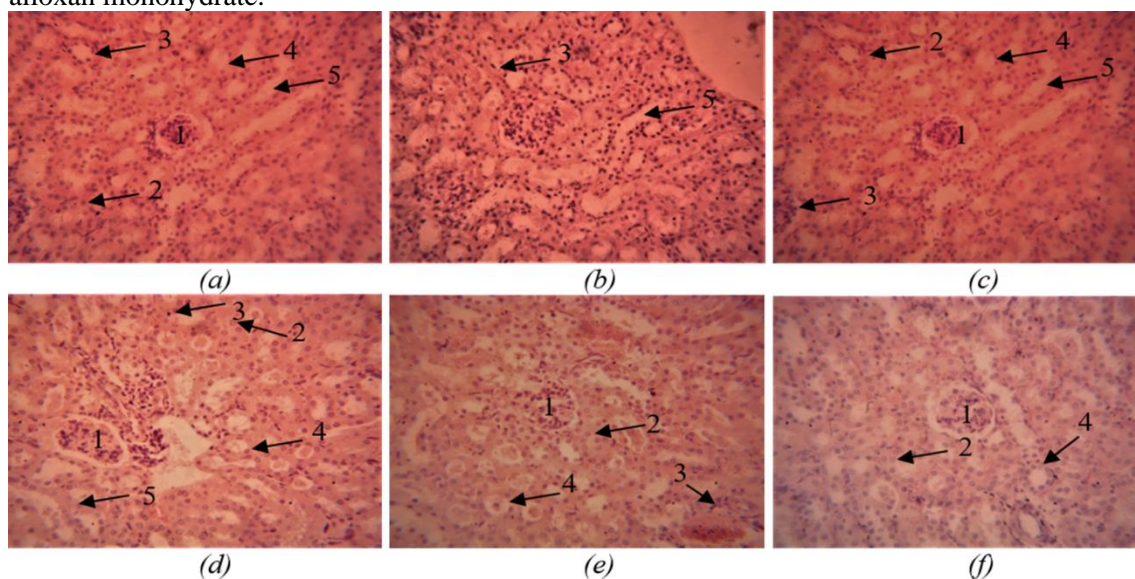
Ghi chú: (a): cấu trúc vi thể mô gan chuột bình thường, (b): cấu trúc vi thể mô gan chuột bị tổn thương bởi alloxan monohydrate, (c): Cấu trúc vi thể mô gan chuột bị tổn thương được điều trị bằng glucophage, (d) (e) (f): Cấu trúc vi thể mô gan chuột bị tổn thương được điều trị bằng cao chiết thân cây mướp gai các liều 100 mg/kg, 200 mg/kg, 400 mg/kg khối lượng chuột. 1. Tĩnh mạch; 2. Tế bào gan bình thường; 3. Xoang gan; 4. Dây tế bào gan; 5. Tế bào Mono; 6. Tế bào Kupffer; 7. Tế bào nhân tan; 8. Tế bào nhân đông; 9. Tế bào mất nhân; 10. Tế bào gan phồng to

Về việc đánh giá khả năng phục hồi cấu trúc giải phẫu mô học thận, cần đánh giá thông qua các đánh giá khả năng phục ở các vị trí cầu thận, ống thận và cấu trúc tế bào. Theo nghiên cứu của

Oyebadejo (2014) [9], alloxan monohydrate gây tổn thương đến mô thận bao gồm tổn thương cầu thận, tổn thương màng nền ống thận và động mạch thận. Trong nghiên cứu này, cầu thận, màng nền ống thận và động mạch thận đều đã bị tổn thương. Kết quả này có sự tương đồng với nghiên cứu của Oyebadejo (2014) [9]. Ở nhóm chuột bình thường (Hình 3 (a)), cầu thận vẫn nguyên vẹn và ít bị tổ chức đại thực bào xâm nhập, các ống thận không bị biến dạng. Trong khi đó, nhóm chuột bị tổn thương bởi alloxan monohydrate (Hình 3 (b)), cầu thận đã bị tổ chức đại thực bào xâm nhập hầu như là toàn vẹn. Xuất hiện nhiều biến dạng của tế bào thận, nhiều nhất là tế bào nhân đông.

Ở nhóm chuột được điều trị bằng Glucophage (Hình 3 (c)), cấu trúc giải phẫu mô học của thận chuột đã phục hồi một phần nào, đã thấy rõ được cầu thận, các tế bào bình thường, số lượng tổ chức đại thực bào giảm, ống thận bình thường. Tuy nhiên, vẫn còn xuất hiện nhiều ống thận bị biến dạng, cầu thận vẫn còn nhiều tổ chức đại thực bào xâm nhập.

Cao chiết thân mướp gai đã cho hiệu quả vượt trội trong việc phục hồi cấu trúc giải phẫu mô học thận. Ở nhóm chuột được điều trị bằng cao chiết thân mướp gai liều 100 mg/kg (Hình 3 (d)), cầu thận đã cho ta thấy rõ được cấu trúc, tuy nhiên các tổ chức đại thực bào vẫn còn nhiều trong cấu trúc cầu thận, các tế bào ống thận bị biến dạng vẫn còn nhiều. Nhóm chuột được điều trị bằng cao chiết thân mướp gai liều 200 mg/kg (Hình 3 (e)), cấu trúc mô thận cho hiệu quả tương đương với thuốc thương mại Glucophage, tuy nhiên cầu thận vẫn còn nhiều đại thực bào xâm nhập. Cấu trúc mô thận khi được điều trị bằng cao chiết thân mướp gai liều 400 mg/kg (Hình 3 (f)) được phục hồi tương đương với nhóm chuột bình thường, cầu thận ở trạng thái không bị đại thực bào xâm nhập, ống thận và tế bào ở trạng thái bình thường. Như vậy, cao chiết thân cây mướp gai đã chứng minh được hiệu quả phục hồi cấu trúc mô gan và thận trên mô hình chuột gây tổn thương bởi alloxan monohydrate.



Hình 3. Cấu trúc vi thể mô bệnh học thận chuột

Ghi chú: (a): cấu trúc vi thể mô thận bình thường, (b) cấu trúc vi thể mô thận bị tổn thương bởi alloxan monohydrate, (c): cấu trúc vi thể mô thận bị tổn thương điều trị bằng glucophage, (d) (e) (f): cấu trúc vi thể mô thận bị tổn thương được điều trị bằng cao chiết thân cây mướp gai liều 100 mg/kg, 200 mg/kg, 400 mg/kg khối lượng chuột. 1. Cầu thận; 2. Tế bào thận bình thường; 3. Tổ chức đại thực bào; 4. Ống thận bình thường; 5. Ống thận bị biến dạng.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã chứng minh được cao chiết thân mướp gai có khả năng điều hòa hoạt động của enzyme glucose-6-phosphatase, từ đó làm giảm hàm lượng glucose huyết. Bên cạnh đó, cao chiết thân mướp gai còn có khả năng phục hồi cấu trúc mô gan, thận của chuột bị gây tổn thương bằng

alloxan monohydrate. Cao chiết ethanol thân cây mướp gai đã cho thấy tiềm năng ứng dụng trong ngành công nghiệp dược phẩm và trong việc hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường.

Lời cảm ơn

Nhóm nghiên cứu, xin chân thành cảm ơn trường Đại học Cần Thơ và Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh An Giang đã hỗ trợ kinh phí thực hiện đề tài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCE

- [1] S. Lenzen, "The mechanisms of alloxan and streptozotocin-induced diabetes," *Diabetologia*, vol. 51, no. 2, pp. 216-226, 2008.
- [2] M. I. Osasenaga, M. A. Abiola, and A. A. Oluseyi, "Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies," *National Library Medicina*, vol. 53, no. 6, pp. 365-374, 2017.
- [3] V. S. Emile and G. Isabelle, "The glucose-6-phosphate system," *Biochem Journal*, vol. 362, no. 3, pp. 513-532, 2002.
- [4] N. H. Gregory and R. Daniel, "Bush the bifunctional role of hexokinase in metabolism and glucose signaling," *Plant cell*, vol. 15, no. 11, pp. 2493-2496, 2003.
- [5] E. T. Nkhoma, C. Poole, V. Vannappagrari, S. A. Hall, and E. Beutler, "The global prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a systematic review and meta-analysis," *Blood Cells Mol Dis*, vol. 42, pp. 267-278, 2009.
- [6] W. Niels and M. Peter, "Glucose-6-phosphate inhibitors for the treatment of type 2 diabetes," *Expert opinion on therapeutic patents*, vol. 11, no. 9, pp. 1429-1441, 2001.
- [7] E. V. Schaftingen and I. Gerin, "The glucose-6-phosphatase system," *Biochem. Journal*, vol. 362, pp. 513-532, 2002.
- [8] A. P. Attanayake, K. A. P. W. Jayatilaka, L. K. B. Mudduwa, and C. Pathirana, "Biochemical and histological evaluation of three selected medicinal plant extracts of Sri Lanka origin on dyslipidemia and oxidative stress in alloxan monohydrate induced diabetic rats," *Journal of Botany*, vol. 2018, 2018, Art. no. 4204519.
- [9] S. Oyebadejo, E. Basse, A. Oyewunmi, V. Archibong, and E. Usoro, "Histopathological study of the liver of Alloxan induced diabetic rats and macerated *Allium sativum* (garlic) Ameliorative Effect," *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, vol. 4, no. 34, pp. 72-77, 2014.
- [10] V. V. Chi, *Medicinal vegetable plants*, Dong Thap general publisher, (in Vietnamese), 1998, p. 187.
- [11] P. H. Ho, *Herbaceous plants of Vietnamese*, version 3, Tre publisher, (in Vietnamese), 2003, p. 346.
- [12] U. K. Samamalee and D. N. Ammarathunga, "Phytochemical and ethno-pharmacological properties of *Lasia spinosa* (Kohila): a review," *World Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 6, no. 13, pp. 1-9, 2017.
- [13] L. Y. Zhao, O. J. Lan, Z. C. Huang, L. J. Ouyang, and F. H. Zeng, "Antidiabetic effect of a newly identified component of *Opuntia dillenii* polysaccharides," *Phytomedicine*, vol. 18, no. 8-9, pp. 661-668, 2011.
- [14] I. S. R. Punitha, K. Rajendran, A. Shirwaikar, and A. Shirwaikar, "Alcoholic Stem Extract of *Coscinium fenestratum* Regulates Carbohydrate Metabolism and Improves Antioxidant Status in Streptozotocin-Nicotinamide Induced Diabetic Rats," *US National Library of Medicine*, vol. 2, no. 3, pp. 375-281, 2005.
- [15] A. Okyar, A. Can, N. Akev, G. Baktir, and N. Suthepinar, "Effect of Aloe vera leaves on blood glucose level in Type I and Type II diabetic rat models," *Phytotherapy Research*, vol. 15, no. 2, pp. 157-161, 2001.
- [16] G. E. H. Eman, H. A. H. Mohamad, M. M. Ashraf, and A. K. Anwaar, "Effect of Aloe vera extract on some physiological parameters in diabetic albino rats," *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, vol. 12, pp. 53-61, 2003.
- [17] K. Kim, H. Kim, J. Kwon, S. Lee, H. Kong, S. Im, Y. H. Le, Y. R. Lee, S. T. Oh, T. H. Jo, Y. I. Park, C. K. Lee, and K. Kim, "Hypoglycemic and hypolipidemic effects of processed Aloe vera gel in a mouse model of non-insulin-dependent diabetes mellitus," *Phytotherapy Research*, vol. 16, no. 9, pp. 856-863, 2009.
- [18] H. Seibai, S. Selmi, K. Rtibi, N. Gharbi, and M. Sakly, "Protective effect of *Lavandula stoechas* and *Rosmarinus officinalis* essential oils against reproductive damage and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats," *Journal of Medicinal Food*, vol. 18, no. 2, pp. 241-249, 2015.