

THE EFFECTS OF *ZINGIBER ZERUMBET* ETHANOL EXTRACT ON THE PROLIFERATION, CELL CYCLE, APOPTOSIS AND MIGRATION OF AGS GASTRIC CANCER CELLS

Nguyen Phu Hung*, Le Thi Thanh Huong, Mai Van Linh, Tran Van Phi

TNU - University of Sciences

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Received: 09/7/2021</p> <p>Revised: 27/7/2021</p> <p>Published: 28/7/2021</p>	<p>Gastric cancer is the most common malignant cancer worldwide. Although there have been many advances in the current treatment for gastric cancer, the mortality rate from this cancer is still high, requiring further research to find new drugs and supportive treatment products. In this study, we evaluated the effects of ethanol extract from of <i>Zingiber zerumbet</i> leaves on proliferation, cell cycle, apoptosis by MTT assay, Flow cytometry and cell migration analyses. The results showed that the ethanol extract from the <i>Zingiber zerumbet</i> leaves slowed the increase in the number of AGS cells, with an IC₅₀ value of 2.09 mg/mL, in 48 h of treatment. At a concentration of 0.2 mg/mL, the extract stopped the cell cycle in the G₀/G₁ phase with cell accumulation in this phase of 74.4% compared with 66.9% in the control sample. Apoptosis rate increased to 14.0% (0.2 mg/mL) and 61.2% compared with 4.4% in the control. Furthermore, the ethanol extract reduced the migratory capacity of AGS cells. The data obtained from this study suggested that <i>Zingiber zerumbet</i> is a potential medicinal plant to fight gastric cancer.</p>
<p>KEYWORDS</p> <p>Gastric cancer</p> <p><i>Zingiber zerumbet</i></p> <p>Cell migration</p> <p>Apoptosis</p> <p>Cell cycle</p>	

ẢNH HƯỞNG CỦA CAO CHIẾT ETHANOL TỪ CÂY GỪNG GIÓ (*ZINGIBER ZERUMBET*) LÊN SỰ TĂNG SINH, CHU KỲ TẾ BÀO, APOPTOSIS VÀ KHẢ NĂNG DI TRÚ CỦA TẾ BÀO UNG THƯ DẠ DÀY AGS

Nguyễn Phú Hùng*, Lê Thị Thanh Hương, Mai Văn Linh, Trần Văn Phi

Trường Đại học Khoa học – ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
<p>Ngày nhận bài: 09/7/2021</p> <p>Ngày hoàn thiện: 27/7/2021</p> <p>Ngày đăng: 28/7/2021</p>	<p>Ung thư dạ dày là dạng ung thư ác tính và phổ biến trên thế giới. Mặc dù đã có nhiều tiến bộ trong điều trị hiện nay đối với ung thư dạ dày, song tỷ lệ chết vì loại ung thư này còn cao, đòi hỏi tiếp tục phải nghiên cứu tìm kiếm các loại thuốc và chế phẩm hỗ trợ điều trị mới. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá tác động của dịch chiết ethanol từ lá của cây Gừng gió lên sự tăng sinh, chu kỳ tế bào, apoptosis bằng các phân tích MTT, Flow cytometry và di trú tế bào. Kết quả cho thấy rằng, dịch chiết ethanol từ lá cây Gừng gió làm chậm sự tăng lên về số lượng của tế bào AGS với giá trị IC₅₀ trong 48h xử lý là 2,09 mg/mL. Ở nồng độ 0,2 mg/mL, dịch chiết đã làm dừng chu kỳ tế bào ở pha G₀/G₁ với tỷ lệ tích lũy tế bào ở pha này là 74,4% so với 66,9% ở mẫu đối chứng. Tỷ lệ apoptosis tăng lên 14,0% (0,2 mg/mL) và 61,2% so với 4,4% ở mẫu đối chứng. Xa hơn nữa, dịch chiết từ lá cây Gừng gió đã làm giảm khả năng di trú của tế bào AGS. Dữ liệu thu được từ nghiên cứu này cho thấy, Gừng gió là cây thuốc tiềm năng để chống lại ung thư dạ dày.</p>
<p>TỪ KHÓA</p> <p>Ung thư dạ dày</p> <p>Gừng gió</p> <p>Di trú tế bào</p> <p>Apoptosis</p> <p>Chu kỳ tế bào</p>	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.4740>

* Corresponding author. Email: hungnguyenphu@tnu.edu.vn

1. Giới thiệu

Ung thư nói chung và ung thư dạ dày nói riêng đang được xem là một trong những vấn đề có ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe cộng đồng. Mặc dù đã có những nỗ lực của hệ thống y tế trong việc hạn chế sự lây nhiễm của vi khuẩn *Helicobacter pylori* trong cộng đồng cũng như cải thiện các phương pháp chuẩn đoán và điều trị, nhưng tỷ lệ mắc ung thư dạ dày vẫn đang gia tăng ở nhiều quốc gia [1]. Việt Nam nằm trong 10 nước có tỉ lệ mắc ung thư dạ dày cao nhất thế giới với tỉ lệ mắc trung bình ở cả 2 giới tính là 15,5 trên tổng số 100.000 dân, cao hơn mức trung bình của thế giới là 11,1. Tỉ lệ tử vong do ung thư dạ dày của Việt Nam là 12,6 cao hơn nhiều so với mức trung bình trên thế giới là 7,7. Nguyên nhân là do phần lớn các trường hợp ung thư dạ dày ở Việt Nam khi được chẩn đoán đã ở giai đoạn muộn [2].

Các liệu pháp điều trị truyền thống như hóa trị và xạ trị đang bộc lộ những hạn chế trong hiệu quả điều trị ung thư như tình trạng kháng điều trị. Việc xúc tiến các nghiên cứu nhằm tìm kiếm các phương pháp và thuốc mới có hiệu quả hơn đang được nhiều quốc gia đặc biệt chú trọng. Sàng lọc và tìm kiếm các hợp chất tiềm năng từ tự nhiên, đặc biệt là từ các nguồn thảo dược đã và đang tiến hành ở nhiều phòng thí nghiệm trên thế giới. Những nỗ lực này sẽ thúc đẩy việc ra đời những thuốc điều trị mới với kỳ vọng ức chế hiệu quả sự phát triển của ung thư cũng như ít gây ra các phản ứng phụ đối với cơ thể [3].

Cây Gừng gió (*Zingiber zerumbet* (L.) Smith) thuộc chi *Zingiber* được trồng và sử dụng ở nhiều nơi tại khu vực Đông Nam Á, trong đó có Việt Nam. Gừng gió được sử dụng rộng rãi trong dân gian để làm gia vị và điều trị nhiều loại bệnh liên quan đến nhiễm độc, đau nhức, viêm và các bệnh về đường tiêu hóa. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, Gừng gió có chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học như zerumbone, zingiberene, saponins và một số hợp chất khác có tác động chống viêm, chống oxy hóa, kháng khuẩn và chống ung thư [4]. Dịch chiết từ Gừng gió được báo cáo là có tác động ức chế hoạt động của enzyme cyclooxygenase (COX) ở cả hệ thống thần kinh ngoại vi và trung ương, cũng như ức chế sự tổng hợp các chất trung gian gây viêm [5]. Chien và cộng sự đã công bố kết quả nghiên cứu về tác động chống viêm của các hợp chất phân lập từ *Z. zerumbet* được thử nghiệm trên chuột và trên tế bào nuôi cấy *in vitro* [6]. Bên cạnh đó, hoạt tính kháng tế bào ung thư của Gừng gió đã được đề cập ở một số dạng ung thư khác nhau [7]-[9].

Các nghiên cứu đã được tiến hành ở các khu vực khác nhau cho thấy, tỷ lệ thành phần các hợp chất có hoạt tính sinh học của Gừng gió thay đổi tùy thuộc vào điều kiện sinh thái, từ đó, có tác động khác nhau lên các bệnh lý được điều trị. Ở Việt Nam, Gừng gió đã được sử dụng từ lâu và rất phổ biến trong các bài thuốc dân gian. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào được thực hiện để đánh giá tác động của Gừng gió lên các tế bào ung thư. Nghiên cứu này nhằm đánh giá tác động ức chế của dịch chiết Gừng gió lên các tế bào ung thư dạ dày AGS.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cây Gừng gió (*Zingiber zerumbet* (L.) Smith) thuộc chi *Zingiber*, họ Gừng (Zingiberaceae) thu thập tại huyện Định Hóa, tỉnh Thái Nguyên (Hình 1).

Dòng tế bào ung thư dạ dày AGS nhận được từ Viện Sức khỏe và Nghiên cứu Y học Quốc gia - Cộng hòa Pháp.

2.2. Phương pháp thu thập và xác định tên khoa học của cây Gừng gió

Sử dụng phương pháp thu thập mẫu cây Gừng gió theo phương pháp của Nguyễn Nghĩa Thìn (2007) [10].

Xác định tên khoa học theo phương pháp chuyên gia, kết hợp với cuốn “Từ điển cây thuốc Việt Nam” (bộ mới) tập 2 của Võ Văn Chi [11].



Hình 1. Cây Gừng gió (*Zingiber zerumbet* (L.) thu nhận tại Thái Nguyên

2.3. Phương pháp thu dịch chiết cây Gừng gió

300 gam mẫu lá của cây Gừng gió được thu nhận từ thực địa được tiến hành rửa sạch nhiều lần bằng nước và sấy khô bằng tủ sấy 42°C , trong 48 h. 15 gam bột mịn được nghiền từ mẫu lá sau khi sấy khô được cho vào ống Falcon thể tích 50 mL chứa 30 mL ethanol tuyệt đối và được lắc ở tốc độ 200 rpm/ phút, trong thời gian 48 h. Cặn thu được sau khi lọc được cho bay hơi ở nhiệt độ 42°C và được bảo quản ở -20°C để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.4. Phương pháp nuôi cấy và xử lý tế bào với cao chiết từ cây Gừng gió

Dòng tế bào ung thư dạ dày AGS được nuôi cấy trong điều kiện bề mặt đĩa tám dính (2D) chứa môi trường RPMI1640 bổ sung 1% hỗn hợp kháng sinh Ampicillin/Streptomycin (P/S); nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C , 5% CO_2 .

Cao chiết được hòa tan trong DMSO và sau đó pha loãng trong môi trường nuôi cấy. Các nồng độ dịch chiết từ cây Gừng gió được sử dụng là 0,1; 0,2; 0,4; 0,6 và 0,8 mg/mL để xử lý tế bào trong 48 h.

2.5. Phương pháp phân tích chu kỳ tế bào và apoptosis bằng Flow cytometry

Sau 48 h xử lý với dịch chiết Gừng gió ở nồng độ 0,2 mg/mL, các tế bào được tách khỏi bề mặt đĩa bằng cách xử lý với trypsin/EDTA và được thu lại bằng ly tâm 1.500 rpm trong 3 phút và được cố định trong ethanol 75% qua đêm ở nhiệt độ -20°C . Tiếp theo, tế bào được nhuộm với dung dịch Fluorochrome chứa 50 mg/mL PI (Propidium Iodide) trong thời gian 2 h ở 4°C trước khi phân tích bằng hệ thống Flow cytometry BD-Accuri C6 plus (BD-Biosciences). Dữ liệu được phân tích bằng phần mềm chuyên dụng cho hệ thống BD-Accuri C6 plus.

2.6. Phân tích khả năng di trú của tế bào

Khả năng di trú của tế bào phản ánh sức sống của tế bào khỏe mạnh so với tế bào già yếu, lão hóa. Các bước tiến hành: Loại bỏ môi trường nuôi cấy; Tạo một đường ranh giới trên đĩa nuôi cấy bằng cách chia lớp tế bào trên bề mặt thành 2 phần; Rửa bề mặt đĩa bằng dung dịch đệm PBS 1X để loại bỏ các tế bào bong khỏi bề mặt đĩa, sau đó tiến hành xử lý với dịch chiết của cây Gừng gió; Quan sát sự thay đổi kích thước đường phân chia dưới kính hiển vi soi ngược ở độ phóng đại 100 lần.

2.7. Phương pháp phân tích thống kê

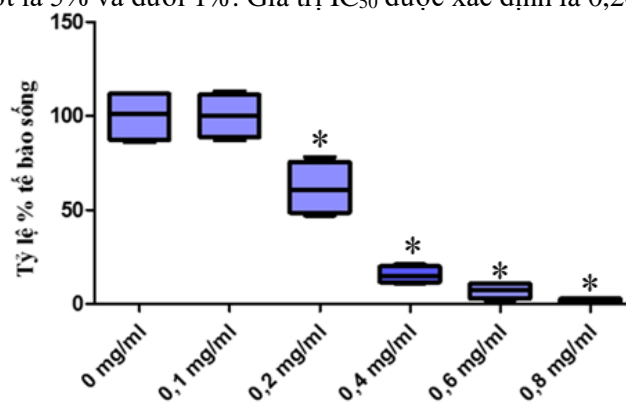
Phân tích giá trị khác biệt về mặt thống kê giữa các nhóm đối chứng và nhóm xử lý với dịch chiết theo kiểm định Mann – Whitney bằng phần mềm GraphPad Prism 5.0.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Tác động của dịch chiết từ lá cây Gừng gió lên sự phân chia của tế bào AGS

Các tế bào ung thư dạ dày AGS được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy có chứa dịch chiết ethanol từ cây Gừng gió với các nồng độ khác nhau từ 0 mg/mL (đối chứng) đến 0,8 mg/mL. Kết quả đánh giá tác động của dịch chiết lên sự tăng sinh tế bào trình bày trong Hình 2.

Trong môi trường nuôi cấy có bổ sung dịch chiết từ cây Gừng gió 0,1 mg/mL, mật độ và số lượng tế bào trên môi trường nuôi cấy không có sự thay đổi rõ rệt so với đối chứng. Ở các môi trường nuôi cấy có nồng độ cao từ 0,4 mg/mL đến 0,8 mg/mL, tỷ lệ tế bào sống giảm mạnh, tỷ lệ tế bào chết tăng. Các tế bào có hiện tượng mất khả năng bám dính trên bề mặt nuôi cấy, co cụm thành từng đám tế bào. Ở nồng độ cao chiết 0,4 mg/mL, chỉ còn xấp xỉ 20% số lượng tế bào quan sát được là các tế bào sống. Ở nồng độ 0,6 mg/mL và 0,8 mg/mL của dịch chiết, tỷ lệ tế bào sống được xác định lần lượt là 5% và dưới 1%. Giá trị IC_{50} được xác định là 0,209 mg/mL.



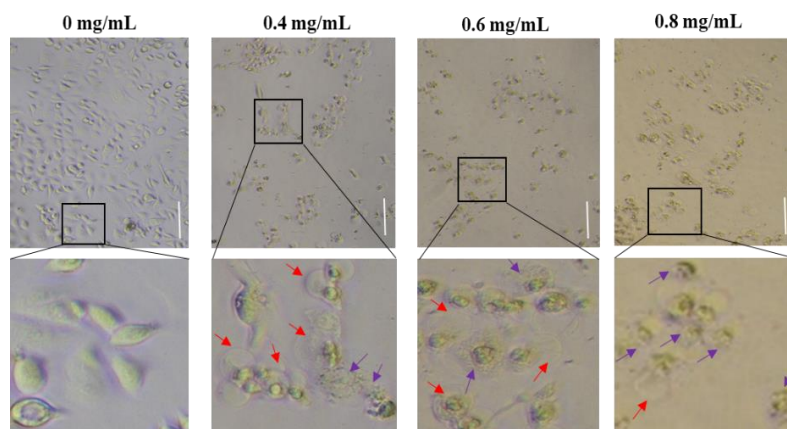
Hình 2. Ảnh hưởng của cao chiết ethanol từ lá của cây Gừng gió lên tỷ lệ phần trăm tế bào sống của tế bào ung thư dạ dày AGS. $P < 0,05$, $n = 5$

Trước đó, một nghiên cứu của Choi và cộng sự đã đánh giá tác động của dịch chiết ethanol từ lá của cây *Paeonia suffruticosa* lên sự phát triển của dòng tế bào ung thư AGS. Kết quả nghiên cứu này đã chỉ ra rằng, dịch chiết ethanol từ lá của cây *Paeonia suffruticosa* có khả năng ức chế sự tăng sinh của tế bào AGS ở các mức độ khác nhau phụ thuộc vào nồng độ và thời gian. Trong thời gian nuôi cấy 48 h, giá trị IC_{50} của dịch chiết ethanol *Paeonia suffruticosa* tác động lên AGS được xác định là 0,22 mg/mL. Trong khi đó, trong thời gian nuôi cấy là 72 h, giá trị IC_{50} được xác định là 0,2 mg/mL [12]. Trong một nghiên cứu khác, dịch chiết ethanol từ cây *Linum album* đã được xác định có tác động ức chế sự tăng sinh tế bào AGS. Hơn nữa, dịch chiết từ các bộ phận khác nhau và ở các giai đoạn phát triển khác nhau của cây *Linum album* cũng đã tác động ức chế sự tăng sinh tế bào AGS ở các mức độ khác nhau. Theo kết quả nghiên cứu này, giá trị IC_{50} thấp nhất là 0,35 mg/mL ở dịch chiết của thân rễ cây *Linum album* giai đoạn ra hoa. Giá trị IC_{50} lớn nhất được xác định là 0,894 mg/mL của dịch chiết từ quả [13].

Nghiên cứu chiết xuất zerumbone từ cây Gừng gió của Ali và cộng sự đã cho thấy, giá trị IC_{50} của zerumbone đối với tế bào ung thư Hela là 7,8 μ g/mL. Hơn nữa, khi sử dụng phương pháp tinh sạch tối ưu, giá trị IC_{50} đã tiếp tục giảm xuống còn 4,3 μ g/mL [14]. Như vậy có thể thấy rằng, các hợp chất từ thực vật khi tinh sạch có tác dụng ức chế các tế bào mạnh hơn rất nhiều so với dịch chiết từ thực vật.

3.2. Đánh giá tác động của dịch chiết từ cây Gừng gió lên hình thái tế bào ung thư dạ dày AGS

Cùng với tác động thay đổi về khả năng tăng sinh của tế bào nuôi cấy AGS, dịch chiết ethanol từ cây Gừng gió cũng tác động đến kiểu hình của các tế bào AGS nuôi cấy. Các tế bào nuôi cấy được phân tích kiểu hình dưới kính hiển vi soi ngược ở độ phóng đại 200 lần và 400 lần. Các thay đổi về kiểu hình tế bào nuôi cấy được thể hiện trong Hình 3.



Hình 3. Ảnh hưởng của cao chiết ethanol từ lá của cây gừng gió lên hình thái tế bào ung thư dạ dày AGS. Mũi tên màu đỏ chỉ tế bào đang bước vào trạng thái chết. Mũi tên màu tím chỉ các tế bào đã chết

Ở các giếng đối chứng, các tế bào nuôi cấy có hình thoi dài hoặc hình ovan điển hình, chất nguyên sinh sáng màu. Trái lại, trong môi trường nuôi cấy có bổ sung dịch chiết với nồng độ từ 0,4 mg/mL trở lên, dễ dàng có thể quan sát được 2 dạng tế bào với những biến đổi về hình thái. Dạng biến đổi hình dạng thứ nhất (mũi tên màu đỏ) là các tế bào có kích thước nhỏ, có hiện tượng co chất nguyên sinh, chất nguyên sinh và nhân co lại cô đặc ở một khoảng không gian nhỏ phía trong màng tế bào làm tế bào quan sát có màu đậm hơn, quan sát thấy không bào lớn. Đây là các tế bào nuôi cấy còn hoạt động sống, có các đặc điểm giống với các tế bào đang trải qua quá trình apoptosis. Dạng tế bào biến đổi thứ hai quan sát được là các tế bào có nhân và tế bào chất cô đặc lại, màng tế bào bị phân giải (mũi tên màu tím). Đây là các tế bào đã chết do màng đã bị phân giải, kiểu hình đặc trưng cho các tế bào apoptosis.

Như vậy, dịch chiết ethanol từ cây gừng gió đã làm biến đổi hình dạng của tế bào AGS trong môi trường nuôi cấy. Các tế bào AGS trong môi trường nuôi cấy có bổ sung dịch chiết có những biến đổi điển hình giống với đặc điểm của tế bào đang trải qua quá trình chết do apoptosis. Số lượng các tế bào có kiểu hình chết tăng lên cùng với sự gia tăng của nồng độ cao chiết ethanol từ cây gừng gió.

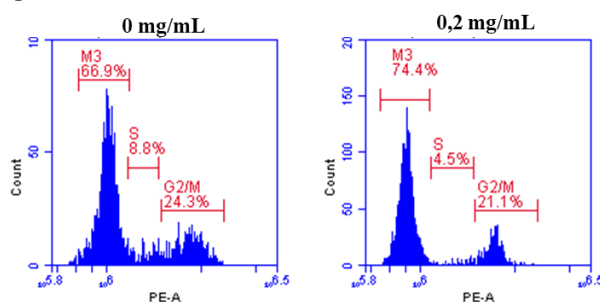
3.3. Kết quả về phân tích tác động của cao chiết ethanol từ cây gừng gió lên chu kỳ tế bào AGS

Rối loạn trong phân chia tế bào là một trong những đặc trưng cơ bản nhất của tế bào ung thư. Sự rối loạn trong chu kỳ phân chia tế bào đã dẫn tới sự phân chia mất kiểm soát của các tế bào ung thư. Do đó, ức chế chu kỳ tế bào là một trong những đích quan trọng để phát triển các loại thuốc chống ung thư hiện nay [15].

Để đánh giá tác động của cao chiết ethanol từ cây gừng gió lên chu kỳ tế bào, các tế bào AGS đã được nuôi cấy trên môi trường có chứa cao chiết ở nồng độ 0,2 mg/mL. Các mẫu đối chứng không được bổ sung cao chiết vào môi trường nuôi cấy. Phân tích chu kỳ tế bào bằng kỹ thuật Flow cytometry (Hình 4) cho thấy rằng, sau 48 h xử lý, tỷ lệ tế bào ở pha G0/G1 đã tăng từ 66,9% (ở mẫu đối chứng) lên 74,4% ở các tế bào được xử lý với dịch chiết. Pha G0/G1 là pha của chu kỳ tế bào mà tại đó các tế bào ở trạng thái không có các hoạt động phân chia tế bào, từ đây có thể chuyển qua trạng thái phân chia tế bào hoặc đi vào quá trình chết tế bào. Cùng với đó, tỷ lệ tế bào đang trong kỳ phân bào (pha S) cũng giảm đi đáng kể từ 8,8% xuống 4,5%. Như vậy có thể thấy rằng, cao chiết từ cây gừng gió đã ức chế sự tăng sinh tế bào nuôi cấy AGS thông qua khả năng làm các tế bào ngưng trệ chu kỳ tại pha không phân chia (G0/G1).

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra, nhiều hợp chất từ thực vật có khả năng làm dừng chu kỳ phân chia tế bào ở nhiều loại ung thư khác nhau. Công bố của Miho Akimoto và cộng sự đã chỉ ra rằng, hai hợp chất có mặt trong thành phần chiết xuất từ *Ginger* là 6-Shogaol và 6-gingerol có

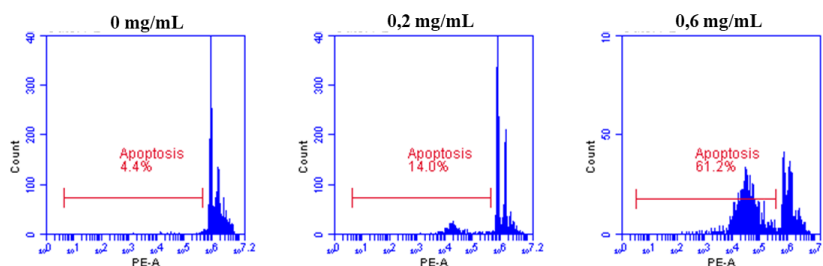
khả năng dừng chu kỳ phân chia của các tế bào dòng ung thư tụy Panc-1 ở pha G0/G1 trong điều kiện nuôi cấy [16]. Trong một nghiên cứu khác, Wani và cộng sự đã nghiên cứu trên zerumbone, một hợp chất thực vật được phân lập từ Gừng gió và công bố rằng zerumbone có khả năng ức chế sự phát triển của các tế bào ung thư gan phụ thuộc vào liều lượng sử dụng thông qua dừng chu kỳ tế bào ở pha G2/M [17].



Hình 4. Ảnh hưởng của cao chiết ethanol từ lá của cây Gừng gió lên chu kỳ tế bào ung thư dạ dày AGS

3.4. Kết quả về phân tích tác động của cao chiết ethanol từ cây Gừng gió lên apoptosis của tế bào ung thư dạ dày AGS

Ảnh hưởng của cao chiết ethanol từ cây Gừng gió lên apoptosis của tế bào ung thư dạ dày AGS được phân tích bằng kỹ thuật Flow cytometry ở các nồng độ dịch chiết trong môi trường nuôi cấy là 0,2 mg/mL và 0,6 mg/mL. Kết quả xác định tỷ lệ tế bào AGS apoptosis được thể hiện ở Hình 5.



Hình 5. Ảnh hưởng của cao chiết ethanol từ lá của cây Gừng gió lên apoptosis của tế bào ung thư dạ dày AGS

Từ kết quả phân tích có thể thấy rằng, tỷ lệ tế bào AGS ở trạng thái apoptosis đã có sự gia tăng đáng kể khi được xử lý với cao chiết ethanol từ cây Gừng gió. Sau 48 h tiếp xúc với cao chiết, tỷ lệ tế bào apoptosis tăng lên 14% ở nồng độ cao chiết 0,2 mg/mL và 61,2% ở nồng độ 0,6 mg/mL, so với 4,4% ở các tế bào đối chứng. Như vậy, độc tính của cao chiết với tế bào nuôi cấy AGS đã tăng lên khi tăng nồng độ xử lý. Kết quả phân tích tác động lên apoptosis cũng trùng khớp với kết quả quan sát hình thái tế bào đã trình bày trước đó.

Apoptosis là một trong những phương thức chủ yếu để cơ thể loại bỏ các tế bào sai hỏng về gene, đó cũng là cách thức cơ thể chống lại sự phát sinh ung thư [18]. Apoptosis là một đích điều trị quan trọng trong nghiên cứu và phát triển các liệu pháp điều trị cũng như các dược phẩm sử dụng trong điều trị ung thư [19]. Trong những năm gần đây, việc sàng lọc các thảo dược có khả năng ức chế sự tăng sinh tế bào thông qua cơ chế gây chết tế bào bằng con đường apoptosis được đặc biệt quan tâm [20].

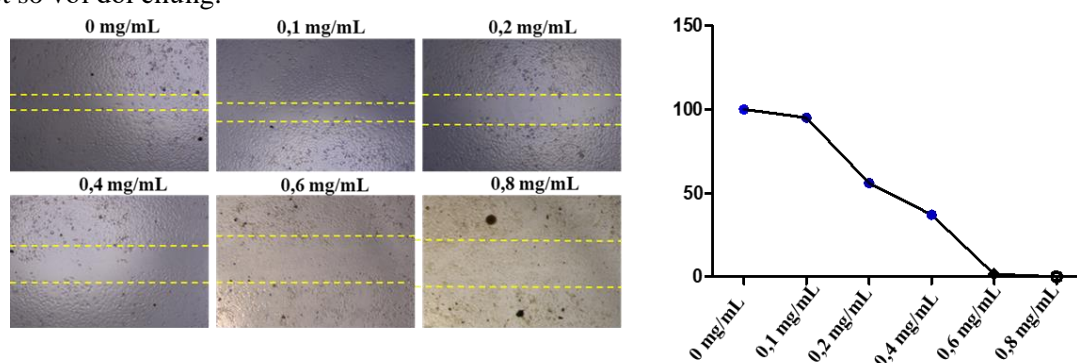
Trong một nghiên cứu gần đây, khi xử lý các tế bào SW740 bằng dịch chiết ethanol *Cyrtopodion scabrum* ở các nồng độ khác nhau đã cho thấy tỷ lệ tế bào apoptosis đã tăng lên đáng kể so với đối chứng và tỷ lệ tế bào apoptosis tăng lên khi tăng nồng độ dịch chiết trong môi trường nuôi cấy [21]. Trong một nghiên cứu khác, Choi và cộng sự đã phân tích tác động của dịch chiết ethanol từ loài *Paeonia suffruticosa* (PSE) lên tế bào nuôi cấy AGS ở nồng độ dịch chiết 0,2 mg/mL, sau các mốc thời gian 12 h, 24 h và 36 h tiếp xúc với dịch chiết, tỷ lệ tế bào apoptosis đã

tăng lên tương ứng là 3,81%; 12,09% và 18,75%. Như vậy, dưới tác động của dịch chiết PSE, tỷ lệ tăng lên của tế bào apoptosis còn phụ thuộc vào thời gian xử lý với dịch chiết [13].

3.5. Kết quả về đánh giá tác động của cao chiết ethanol từ cây gừng gió lên khả năng di trú của tế bào AGS

Khả năng di trú của tế bào trên mô hình nuôi cấy 2D phản ánh sức sống của tế bào khỏe mạnh so với tế bào già yếu, lão hóa. Trong nghiên cứu này, để đánh giá ảnh hưởng của cao chiết ethanol từ cây gừng gió lên khả năng di trú của dòng tế bào ung thư dạ dày AGS, một khoảng trống giữa đĩa nuôi cấy đã được tạo ra trước khi bổ sung dịch chiết ở các nồng độ khác nhau trong 48 h nuôi cấy (Hình 6).

Quan sát Hình 6 có thể thấy khoảng cách giữa 2 đường phân chia đã nhanh chóng được thu hẹp lại ở các giếng đối chứng và giếng xử lý với nồng độ thấp (0,1 mg/mL). Trái ngược lại, khoảng trống tương ứng tại các giếng được xử lý với nồng độ cao hơn có chiều rộng lớn hơn rõ rệt so với đối chứng.



Hình 6. Ảnh hưởng của cao chiết ethanol từ lá của cây gừng gió lên mức độ di trú của tế bào ung thư dạ dày AGS; * $p < 0,05$; $n = 5$

Cụ thể hơn, ở nồng độ 0,2 mg/mL, mức độ di trú của tế bào AGS trong môi trường nuôi cấy đã giảm còn khoảng 65% so với đối chứng. Ở nồng độ 0,4 mg/mL, khả năng di trú của tế bào AGS trong môi trường nuôi cấy giảm khoảng 50% so với đối chứng. Ở nồng độ tăng lên 0,6 mg/mL và 0,8 mg/mL gần như tế bào bị chết hoàn toàn và mất khả năng di trú.

Như vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi đã quan sát được khả năng ức chế sự di trú của tế bào AGS trong môi trường nuôi cấy chứa chiết ethanol từ cây gừng gió. Mức độ ức chế tăng lên theo chiều tăng của nồng độ dịch chiết trong môi trường nuôi cấy.

Trong một nghiên cứu khác, Stephanie và cộng sự cũng đã chỉ ra khả năng ức chế sự di trú tế bào ung thư vú của một số hợp chất từ thực vật như 6- gingerol, fisetin, quercetin, curcumin, EGCG. Nghiên cứu này đã chỉ ra khả năng ức chế sự di trú đối với tế bào ung thư vú của các hợp chất thực vật phụ thuộc vào nồng độ của hợp chất trong môi trường nuôi cấy và dòng tế bào ung thư chịu tác động [20]. Như vậy có thể thấy rằng, tác động ngăn cản di trú của gừng gió đối với tế bào AGS có thể là tiền đề quan trọng để tiến hành những nghiên cứu sâu hơn về khả năng ức chế sự di căn của loại thảo dược này đối với tế bào ung thư.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, dịch chiết từ lá của cây gừng gió đã ngăn cản sự tăng sinh đối với tế bào AGS và làm thay đổi kiểu hình của tế bào. Các phân tích Flow cytometry đã cho thấy, dịch chiết gừng gió ức chế chu kỳ phân chia, làm tích lũy tế bào ở pha G0/G1, đồng thời gia tăng tỷ lệ apoptosis của tế bào. Cuối cùng, dịch chiết từ gừng gió được chỉ ra là ngăn cản sự di trú của tế bào AGS. Sàng lọc này là tiền đề cho những nghiên cứu sâu hơn về khả năng chống di căn của loại thảo dược này đối với tế bào ung thư dạ dày.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] F. Mégraud, E. Bessède, and C. Varon, "Helicobacter pylori infection and gastric carcinoma," *Clin Microbiol Infect*, vol. 21, no. 11, pp. 984-990, Nov. 2015, doi: 10.1016/j.cmi.2015.06.004.
- [2] H. Sung *et al.*, "Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries," *CA Cancer J Clin*, vol. 71, no. 3, pp. 209-249, May 2021, doi: 10.3322/caac.21660.
- [3] A. Ohtsu, "Chemotherapy for metastatic gastric cancer: past, present, and future," *J Gastroenterol*, vol. 43, no. 4, pp. 256-264, 2008, doi: 10.1007/s00535-008-2177-6.
- [4] N. J. Yob, S. M. Jofrry, M. M. R. M. M. Affandi, L. K. Teh, M. Z. Salleh, and Z. A. Zakaria, "Zingiber zerumbet (L.) Smith: A Review of Its Ethnomedicinal, Chemical, and Pharmacological Uses," *Evid Based Complement Alternat Med*, vol. 2011, p. 543216, 2011, doi: 10.1155/2011/543216.
- [5] Z. A. Zakaria, A. S. Mohamad, C. T. Chear, Y. Y. Wong, D. A. Israf, and M. R. Sulaiman, "Antiinflammatory and antinociceptive activities of Zingiber zerumbet methanol extract in experimental model systems," *Med Princ Pract*, vol. 19, no. 4, pp. 287-294, 2010, doi: 10.1159/000312715.
- [6] T. Y. Chien, L. G. Chen, C. J. Lee, F. Y. Lee, and C. C. Wang, "Anti-inflammatory constituents of Zingiber zerumbet," *Food Chemistry*, vol. 110, no. 3, pp. 584-589, Oct. 2008, doi: 10.1016/j.foodchem.2008.02.038.
- [7] K. Kalantari *et al.*, "A Review of the Biomedical Applications of Zerumbone and the Techniques for Its Extraction from Ginger Rhizomes," *Molecules*, vol. 22, no. 10, p. E1645, Sep. 2017, doi: 10.3390/molecules22101645.
- [8] M. Tian, X. Wu, Y. Hong, H. Wang, G. Deng, and Y. Zhou, "Comparison of Chemical Composition and Bioactivities of Essential Oils from Fresh and Dry Rhizomes of Zingiber zerumbet (L.) Smith," *Biomed Res Int*, vol. 2020, p. 9641284, 2020, doi: 10.1155/2020/9641284.
- [9] M. H. Zahra *et al.*, "Alpinia zerumbet (Pers.): Food and Medicinal Plant with Potential In Vitro and In Vivo Anti-Cancer Activities," *Molecules*, vol. 24, no. 13, p. E2495, Jul. 2019, doi: 10.3390/molecules24132495.
- [10] V. C. Vo, *Dictionary of Vietnamese medical plants*. Medical Publishing House, 2012.
- [11] N. T. Nguyen, *Research Methods in Plant Sciences*. Hanoi National University Publishing House, 2007.
- [12] E. A. Asl, J. F. Mehrabadi, D. Afshar, H. Noorbazargan, H. Tahmasebi, and A. Rahimi, "Apoptotic Effects of Linum album Extracts on AGS Human Gastric Adenocarcinoma Cells and ZNF703 Oncogene Expression," *Asian Pac J Cancer Prev*, vol. 19, no. 10, pp. 2911-2916, Oct. 2018, doi: 10.22034/APJCP.2018.19.10.2911.
- [13] H. S. Choi, H.-S. Seo, J. H. Kim, J.-Y. Um, Y. C. Shin, and S.-G. Ko, "Ethanol extract of Paeonia suffruticosa Andrews (PSE) induced AGS human gastric cancer cell apoptosis via fas-dependent apoptosis and MDM2-p53 pathways," *J Biomed Sci*, vol. 19, p. 82, Sep. 2012, doi: 10.1186/1423-0127-19-82.
- [14] A. Ghasemzadeh, H. Z. E. Jaafar, A. Rahmat, and M. K. Swamy, "Optimization of microwave-assisted extraction of zerumbone from Zingiber zerumbet L. rhizome and evaluation of antiproliferative activity of optimized extracts," *Chem Cent J*, vol. 11, p. 5, 2017, doi: 10.1186/s13065-016-0235-3.
- [15] T. Otto and P. Sicinski, "Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy," *Nat Rev Cancer*, vol. 17, no. 2, pp. 93-115, Feb. 2017, doi: 10.1038/nrc.2016.138.
- [16] M. Akimoto, M. Iizuka, R. Kanematsu, M. Yoshida, and K. Takenaga, "Anticancer Effect of Ginger Extract against Pancreatic Cancer Cells Mainly through Reactive Oxygen Species-Mediated Autotic Cell Death," *PLoS ONE*, vol. 10, no. 5, p. e0126605, May 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0126605.
- [17] N. A. Wani *et al.*, "Reprogramming of Glucose Metabolism by Zerumbone Suppresses Hepatocarcinogenesis," *Mol Cancer Res*, vol. 16, no. 2, pp. 256-268, Feb. 2018, doi: 10.1158/1541-7786.MCR-17-0304.
- [18] S. Elmore, "Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death," *Toxicol Pathol*, vol. 35, no. 4, pp. 495-516, Jun. 2007, doi: 10.1080/01926230701320337.
- [19] I. M. Ghobrial, T. E. Witzig, and A. A. Adjei, "Targeting apoptosis pathways in cancer therapy," *CA Cancer J Clin*, vol. 55, no. 3, pp. 178-194, Jun. 2005, doi: 10.3322/canjclin.55.3.178.
- [20] S. L. Ham *et al.*, "Phytochemicals potently inhibit migration of metastatic breast cancer cells," *Integr Biol (Camb)*, vol. 7, no. 7, pp. 792-800, Jul. 2015, doi: 10.1039/c5ib00121h.
- [21] M. Rashidi *et al.*, "Selective Cytotoxicity and Apoptosis-Induction of Cyrtopodium scabrum Extract Against Digestive Cancer Cell Lines," *Int J Cancer Manag*, vol. 10, no. 5, May 2017, doi: 10.5812/ijcm.8633.