

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



NGUYỄN TRỊNH THẠCH THỊ

**ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG HẠ GLUCOSE
MÁU CỦA VIÊN NANG GYDENPHY
TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SỸ

HÀ NỘI, NĂM 2021

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



NGUYỄN TRỊNH THẠCH THỊ

**ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG HẠ GLUCOSE
MÁU CỦA VIÊN NANG GYDENPHY
TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SỸ

Chuyên ngành : Y học Cổ truyền

Mã số : 8720115

Người hướng dẫn khoa học: 1. TS. Nguyễn Duy Tuân

2. PGS. TS. Nguyễn Hoàng Ngân

HÀ NỘI, NĂM 2021

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành Luận văn thạc sĩ Y khoa chuyên ngành Y học cổ truyền với đề tài “*Đánh giá tác dụng hạ glucose máu của viên nang Gydenphy trên động vật thực nghiệm*”, tôi xin trân trọng bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới:

Đảng ủy, Ban Giám hiệu, Phòng Đào tạo sau Đại học Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam và các thầy cô Học viện đã tạo điều kiện và giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và làm luận án.

Và lời cảm ơn chân thành đến TS. Nguyễn Duy Tuân, PGS.TS. Nguyễn Hoàng Ngân là những người Thầy đã trực tiếp hướng dẫn giúp đỡ tận tình trong suốt thời gian học tập và nghiên cứu. Quý Thầy Cô đã cung cấp tài liệu thông tin khoa học cần thiết cho luận văn này, giúp đỡ tôi sửa chữa thiếu sót, động viên tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu.

Các Nhà khoa học trong Hội đồng đánh giá luận văn đã cho tôi những góp ý sâu sắc để tôi hoàn thiện luận văn này.

Xin chân thành biết ơn người thân cùng toàn thể bạn bè đã luôn ở bên ủng hộ tinh thần và giúp đỡ tôi trong khóa học này.

Hà Nội, ngày 05 tháng 04 năm 2021

Học viên

Nguyễn Trịnh Thạch Thi

LỜI CAM ĐOAN

Tôi tên là: Nguyễn Trịnh Thạch Thi

Là học viên lớp Cao học khóa 11 – Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam. Tôi xin cam đoan:

Đây là công trình nghiên cứu khoa học độc lập của riêng tôi dưới sự hướng dẫn của TS. Nguyễn Duy Tuân và PGS.TS. Nguyễn Hoàng Ngân.

Các số liệu sử dụng phân tích trong luận văn có nguồn gốc rõ ràng, đã công bố theo đúng quy định. Các kết quả nghiên cứu trong luận văn do tôi tự tìm hiểu, phân tích một cách trung thực, khách quan và đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nghiên cứu.

Kết quả của nghiên cứu này chưa từng được công bố trong bất kỳ nghiên cứu nào khác.

Hà Nội, ngày 05 tháng 04 năm 2021

Học viên

Nguyễn Trịnh Thạch Thi

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Tổng quan về Đái tháo đường theo Y học hiện đại	3
1.1.1. Định nghĩa	3
1.1.2. Dịch tễ	3
1.1.3. Nguyên nhân.....	4
1.1.4. Sinh lý bệnh và phân loại	4
1.1.5. Chẩn đoán.....	6
1.1.6. Thuốc điều trị	6
1.2. Tổng quan về Đái tháo đường theo Y học cổ truyền.....	11
1.2.1. Quan niệm theo Y học cổ truyền.....	11
1.2.2. Nguyên nhân theo Y học cổ truyền	12
1.2.3. Phân thể lâm sàng và điều trị theo Y học cổ truyền	12
1.2.4. Phân tích thành phần viên nang theo Y học cổ truyền	14
1.2.5. Các nghiên cứu về các bài thuốc, vị thuốc Y học cổ truyền điều trị Đái tháo đường.....	14
1.3. Tổng quan về Viên nang GYDENPHY	17
1.3.1. Nguồn gốc	17
1.3.2. Thành phần	17
1.3.3. Giảo cổ lam	17
1.3.4. Thạch học tía	19
1.3.5. Me rừng	21
1.4. Tổng quan về mô hình gây Đái tháo đường trên động vật thực nghiệm....	22
1.4.1. Mẫu chuột kiểu mô phỏng đái tháo đường type 1	22
1.4.2. Mẫu chuột gây đái tháo đường type 2.....	23

CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	24
2.1. Vật liệu, đối tượng nghiên cứu	24
2.1.1. Chế phẩm nghiên cứu	24
2.1.2. Động vật nghiên cứu.....	25
2.1.3. Thiết bị nghiên cứu	26
2.2. Phương pháp nghiên cứu	27
2.2.1.Đánh giá tác dụng hạ đường huyết của viên nang Gydenphy trên chuột nhắt trắng theo kiểu mô phỏng đái tháo đường type 1	27
2.2.2. Đánh giá tác dụng hạ đường huyết của viên nang Gydenphy trên chuột cống trắng theo kiểu mô phỏng đái tháo đường type 2	28
2.3. Địa điểm nghiên cứu.....	32
2.4. Thời gian nghiên cứu.....	32
2.5. Thiết kế nghiên cứu	32
2.6. Xử lý số liệu.....	32
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	33
3.1. Kết quả đánh giá tác dụng của Gydenphy trên mô hình gây đái tháo đường type 1 ở chuột nhắt trắng bằng Streptozotocin (STZ).....	33
3.1.1. Kết quả gây mô hình gây đái tháo đường type 1 ở chuột nhắt trắng.....	33
3.1.2. Tác dụng hạ đường huyết của viên nang Gydenphy trên mô hình đái tháo đường type 1 ở chuột nhắt trắng.	33
3.2. Kết quả đánh giá tác dụng của Gydenphy trên mô hình gây đái tháo đường type 2 ở chuột cống trắng.	35
3.2.1. Ảnh hưởng của Gydenphy lên cân nặng, thức ăn và nước uống tiêu thụ của chuột.....	35
3.2.2. Ảnh hưởng của Gydenphy lên nồng độ glucose và insulin máu chuột.	36
3.2.3. Ảnh hưởng của viên nang Gydenphy lên chỉ số đánh giá nội môi của chức năng tế bào β tụy tạng.....	37
3.2.4. Sự thay đổi phần trăm khối lượng tụy so với khối lượng cơ thể	40
3.2.5. Hình ảnh mô bệnh học của tụy ở các lô chuột nghiên cứu	42

CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN	43
4.1. Bàn luận về mô hình nghiên cứu	43
4.2. Bàn luận về tác dụng hạ glucose máu của viên nang Gydenphy	47
KẾT LUẬN	54
1. Tác dụng của viên nang Gydenphy trên chuột nhắt trắng gây Đái tháo đường type 1.	54
2. Tác dụng của viên nang Gydenphy trên chuột cống trắng gây Đái tháo đường type 2.	54
KHUYẾN NGHỊ	56
TÀI LIỆU THAM KHẢO	1

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

ADA	: The American Diabetes Association (Hiệp Hội Đái tháo đường Mỹ)
BN	: Bệnh nhân
ĐTĐ	: Đái tháo đường
GP	: <i>Gynostemma pentaphyllum</i>
HFD	: High fat diet (Chế độ ăn giàu chất béo)
IFG	: Impaired fasting glucose (Rối loạn Glucose huyết đói)
IGT	: Impaired glucose tolerance (Rối loạn dung nạp Glucose)
KT	: Kháng thể
PTP-1B	: Protein tyrosine phosphatase 1B
STZ	: Streptozocin
TCCS	: Tiêu chuẩn cơ sở
VN	: Việt Nam
WHO	: World Health Organization (Tổ chức Y tế thế giới)
YHCT	: Y học cổ truyền
YHHĐ	: Y học hiện đại

DANH MỤC BẢNG/ BIỂU

Chương 2

Bảng 2. 1. Số lượng chuột thí nghiệm.....	26
---	----

Chương 3

Bảng 3.1. Nồng độ Glucose máu chuột sau tiêm STZ (Mean \pm SD).....	33
---	----

Bảng 3. 2. Nồng độ Glucose máu chuột sau uống Gydenphy (Mean \pm SD).....	33
---	----

Bảng 3. 3. Kết quả đánh giá cân nặng, thức ăn và nước uống, tiêu thụ của chuột...	35
---	----

Bảng 3. 4. Kết quả đánh giá nồng độ glucose và insulin máu chuột ($n = 10$, Mean \pm SD)	36
---	----

Bảng 3. 5. Ảnh hưởng của chế phẩm lên chỉ số HOMA-IR ($n = 10$, Mean \pm SD).....	37
---	----

Sơ đồ chương 2

Sơ đồ 2. 1. Quy trình nghiên cứu mô hình đánh giá tác dụng hạ glucose trên chuột gây ĐTĐ type 1	28
---	----

Sơ đồ 2. 2. Quy trình đánh giá tác dụng hạ glucose máu trên chuột gây ĐTĐ type 2	30
---	----

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Chương 1

Hình 1. 1. Cây Giảo cổ lam [68].....	17
Hình 1. 2. Cây Thạch斛 [26].....	19
Hình 1. 3. Cây Me rừng [43].....	21

Chương 2

Hình 2. 1. Viên nang Gydenphy được bào chế.....	24
Hình 2. 2. Chuột cống trắng chủng Wistar (a) và chuột nhắt trắng chủng Swiss (b).....	25
Hình 2. 3. Máy xét nghiệm sinh hóa	26
Hình 2. 4. Kim đầu tù và cân điện tử	27
Hình 2. 5. Chuột uống thuốc bằng kim đầu tù.....	31

ĐẶT VẤN ĐỀ

Năm 2017, trên toàn cầu, ước tính có khoảng 462 triệu người bị ảnh hưởng bởi Đái tháo đường (ĐTĐ) type 2, tương ứng với 6,28% dân số thế giới. Hơn 1 triệu trường hợp tử vong được cho là do bệnh này chỉ trong năm 2017, là nguyên nhân tử vong thứ 9. Việt Nam đã tăng hạng trong hai thập kỷ qua. Hiện nay, ở Việt Nam có khoảng 5,76 triệu người mắc đái tháo đường [60].

Ở bệnh nhân Đái tháo đường, tình trạng tăng glucose máu kéo dài dẫn đến những rối loạn chuyển hóa, để lại những hậu quả xấu đối với hệ tim mạch gây nên nhiều các biến chứng mạn. Do vậy, các thuốc điều trị nhằm kiểm soát glucose máu, có thể giảm được nguy cơ tiến triển của các biến chứng, hạn chế tác dụng phụ của thuốc ngày càng trở nên cấp thiết và là vấn đề quan tâm hàng đầu.

Theo Y học cổ truyền Đái tháo đường có nhiều điểm tương đồng với chứng Tiêu khát, và có nhiều vị thuốc, bài thuốc có hiệu quả trong điều trị chứng này trong thực nghiệm và cả trên lâm sàng [1],[6],[12]. Hiện nay, nhiều nhà khoa học ở Việt Nam, thế giới đang có xu hướng tìm kiếm và phát triển các thuốc nguồn gốc tự nhiên vừa có hiệu quả tốt, vừa ít tác dụng phụ, có thể dùng trong thời gian lâu dài [17]. Cao Bằng là nơi có điều kiện khí hậu thuận lợi cho nhiều dược liệu quý sinh trưởng và phát triển, trong đó có me rừng, thạch斛 tía, giảo cổ lam được đánh giá là có chất lượng tốt, hàm lượng hoạt chất cao. Đây cũng là những vị thuốc quý đã được dân gian sử dụng, cũng như một số nghiên cứu trong và ngoài nước đánh giá cao về tác dụng hạ Glucose máu, điều chỉnh rối loạn mỡ máu,...

Tuy nhiên, hiện nay chưa có các nghiên cứu về kết hợp những vị thuốc trên. Viên nang Gydenphy là sản phẩm của đề tài cấp tỉnh Cao Bằng, bào chế từ quả me rừng, giảo cổ lam và thạch斛 tía thu hái ở tỉnh này. Sản phẩm được bào chế tại Học viện Quân y, có quy trình bào chế và tiêu chuẩn cơ sở được đánh giá, thẩm định. Với các thành phần dược liệu có hàm lượng hoạt chất tốt, định hướng tác dụng trong dự phòng và điều trị tăng glucose máu cùng một số tác dụng quý khác. Sự phối kết hợp các dược liệu với những thành phần hoạt chất khác nhau, cơ chế tác dụng lên hạ glucose máu khác nhau, hỗ trợ cho nhau tạo tác dụng hiệp đồng, giúp sản phẩm

đạt hiệu quả cao trong hạ glucose máu. Do đó, chúng tôi tiến hành đề tài “*Đánh giá tác dụng hạ Glucose máu của viên nang Gydenphy trên động vật thực nghiệm*” với các mục tiêu :

1. *Đánh giá tác dụng hạ Glucose máu của viên nang Gydenphy trên chuột nhắt gây Đái tháo đường type 1.*

2. *Đánh giá tác dụng hạ Glucose máu của viên nang Gydenphy trên chuột cống gây Đái tháo đường type 2.*

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan về Đái tháo đường theo Y học hiện đại

1.1.1. Định nghĩa

Bệnh ĐTD là bệnh rối loạn chuyển hóa không đồng nhất, có đặc điểm tăng glucose huyết do khiếm khuyết về tiết insulin, về tác động của insulin, hoặc cả hai. Tăng glucose mạn tính trong thời gian dài gây nên những rối loạn chuyển hóa carbohydrate, protide, lipide, gây tổn thương ở nhiều cơ quan khác nhau, đặc biệt ở tim và mạch máu, thận, mắt, thần kinh [10],[15],[21],[22],[29].

1.1.2. Dịch tễ

1.1.2.1. Thế giới

Gánh nặng bệnh tật liên quan đến ĐTD đang gia tăng và ở mức cao ở mọi quốc gia, bởi sự gia tăng tỷ lệ béo phì và lối sống không lành mạnh [61].

Theo Liên đoàn ĐTD Thế giới (IDF), năm 2015 toàn thế giới có 415 triệu người (trong độ tuổi 20-79) bị ĐTD, năm 2040 con số này sẽ là 642 triệu, tương đương cứ 10 người có 1 người bị ĐTD [15],[41], 75% người mắc sống ở các nước có thu nhập thấp và trung bình [41].

Năm 2017, trên toàn cầu, ước tính có khoảng 462 triệu người bị ảnh hưởng bởi ĐTD type 2, tương ứng với 6,28% dân số thế giới. Hơn 1 triệu trường hợp tử vong được cho là do ĐTD chỉ trong năm 2017, là nguyên nhân tử vong thứ 9. Một số khu vực, như các quốc đảo ở Thái Bình Dương, đang có tỷ lệ lưu hành bệnh cao nhất. Các nước Đông Nam Á, như Indonesia, Malaysia, Thái Lan và Việt Nam, đã tăng hạng trong hai thập kỷ qua [12].

Nam giới có tỷ lệ mắc bệnh cao hơn một chút so với nữ giới (6219 so với 5898/100.000 trường hợp). Tuổi bắt đầu phát hiện chẩn đoán mới cũng có phần sớm hơn ở nam giới, tỷ lệ mắc cao nhất ở tuổi 55 [51]. Bên cạnh đó, cùng với việc sử dụng thực phẩm không thích hợp gia tăng, ít/không hoạt động thể lực ở trẻ em, bệnh ĐTD type 2 đang có xu hướng tăng ở cả trẻ em, trở thành vấn đề sức khỏe cộng đồng nghiêm trọng [15].

1.1.2.2. Việt Nam

Hiện nay, ở Việt Nam có khoảng 5,76 triệu người mắc. Tỷ lệ hiện mắc ĐTĐ so sánh có điều chỉnh theo tuổi trong dân số VN là xấp xỉ 6% vào năm 2017 [60].

Theo kết quả điều tra STEPwise về các yếu tố nguy cơ của bệnh không lây nhiễm do Bộ Y tế thực hiện năm 2015, ở nhóm tuổi từ 18-69, cho thấy tỷ lệ ĐTĐ toàn quốc là 4,1%, tiền ĐTĐ là 3,6% [15].

1.1.3. Nguyên nhân

1.1.3.1. Đái tháo đường type 1

Nguyên nhân không rõ: một số trường hợp ĐTĐ type 1 không có nguyên nhân, bệnh này bị thiếu insulin trầm trọng và dễ bị nhiễm ceton acid nhưng không có bằng chứng tự miễn.

Nguyên nhân di truyền: thể bệnh này có yếu tố di truyền rất rõ, thiếu các yếu tố tự miễn với tế bào β , không kết hợp với nhóm HLA, BN có lúc cần insulin để sống sót có lúc không.

Ngoài ra sự thiếu sót acid amin (acid aspartic) ở vị trí 57 của chuỗi DQ dễ mắc bệnh ĐTĐ type 1 hơn những người có acid amin này [1].

1.1.3.2. Đái tháo đường type 2

Đặc điểm quan trọng nhất trong sinh lý bệnh của ĐTĐ type 2 là có sự tương tác giữa yếu tố gen và yếu tố môi trường: là nhóm các yếu tố có thể can thiệp để làm giảm tỷ lệ mắc bệnh. Các yếu tố đó là: Sự thay đổi lối sống, chất lượng thực phẩm, các stress về tâm lý. Tuổi thọ ngày càng tăng, nguy cơ mắc bệnh càng cao: Đây là yếu tố không thể can thiệp được [13].

1.1.4. Sinh lý bệnh và phân loại

1.1.4.1. Đái tháo đường type 1

Do tế bào β bị phá hủy nên BN không còn hoặc còn rất ít insulin, 95% do cơ chế tự miễn (1A), 5% vô căn (1B). BN bị thiếu hụt insulin, tăng glucagon trong máu, không điều trị sẽ bị nhiễm toan ceton. BN cần insulin để ổn định glucose huyết. Người lớn tuổi có thể bị ĐTĐ tự miễn diễn tiến chậm [31].

ĐTĐ type 1 tự miễn thường có các tự kháng thể (KT) trong máu trước khi xuất hiện bệnh, lúc mới chẩn đoán: kháng thể kháng Glutamic acid decarboxylase

65, KT kháng Insulin, KT kháng tyrosine phosphatase IA 2, KT kháng Zinc transpoeter 8. Khi bệnh kéo dài, các kháng thể sẽ giảm dần. Gen mã hóa nhóm phù hợp tổ chức lớp II DR DQ có liên quan đến tăng nguy cơ ĐTĐ type 1 [15].

1.1.4.2. Đái tháo đường type 2

Gồm những người có thiếu insulin tương đối cùng với đề kháng insulin. Giai đoạn đầu hoặc cả đời BN ĐTĐ type 2 không cần đến insulin.

Đa số BN có béo phì hoặc thừa cân, béo phì vùng bụng có liên quan với tăng acid béo trong máu, mô mỡ cũng tiết ra một số hormon làm giảm tác dụng của insulin ở các cơ quan đích như gan, tế bào mỡ, tế bào cơ (đề kháng insulin tại các cơ quan đích). Do tình trạng đề kháng insulin, ở giai đoạn đầu tế bào β bù trừ và tăng tiết insulin trong máu, nếu tình trạng đề kháng insulin kéo dài hoặc nặng dần, tế bào β sẽ không tiết đủ insulin và ĐTĐ type 2 lâm sàng sẽ xuất hiện [31]. Tình trạng đề kháng insulin có thể cải thiện khi giảm cân, hoặc dùng một số thuốc nhưng không bao giờ hoàn toàn trở lại bình thường. Yếu tố di truyền ảnh hưởng mạnh trong bệnh ĐTĐ type 2 [1]. Nếu tìm được một gen cụ thể gây tăng glucose huyết, BN sẽ được xếp vào thể bệnh chuyên biệt của ĐTĐ [15].

1.1.4.3. Đái tháo đường thai kỳ ĐTĐ thai kỳ

Được chẩn đoán trong 3 tháng giữa hoặc 3 tháng cuối của thai kỳ và không có bằng chứng về ĐTĐ type 1, type 2 trước đó. Nếu phụ nữ có thai 3 tháng đầu được phát hiện tăng glucose huyết thì chẩn đoán là ĐTĐ chưa được chẩn đoán hoặc chưa được phát hiện và dùng tiêu chí chẩn đoán như ở người không có thai [15],[16].

1.1.4.4. Thể bệnh chuyên biệt của ĐTĐ - Đái tháo đường thứ phát

Khiếm khuyết trên nhiễm sắc thể thường, di truyền theo gen trội tại tế bào β . ĐTĐ đơn gen thể MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young). Khiếm khuyết trên nhiễm sắc thể thường, di truyền theo gen lặn tại tế bào β . Khiếm khuyết gen liên quan đến hoạt tính insulin. Bệnh lý tụy. ĐTĐ do thuốc, hóa chất. Các hội chứng bất thường nhiễm sắc thể khác đôi khi cũng kết hợp với ĐTĐ [20], [15].

1.1.5. Chẩn đoán

1.1.5.1. Chẩn đoán Đái tháo đường

Theo ADA dựa vào 1 trong 4 tiêu chuẩn:

- IFG (Impaired fasting glucose): Glucose \geq 126 mg/dL (hay 7 mmol/L)
 hoặc: - IGT (Impaired glucose tolerance): Glucose huyết tương ở thời điểm sau 2 giờ làm nghiệm pháp dung nạp glucose đường uống 75g theo hướng dẫn của WHO \geq 200 mg/dL (hay 11,1 mmol/L)

- HbA1c \geq 6,5% (48 mmol/mol). Xét nghiệm phải được thực hiện ở phòng thí nghiệm được chuẩn hóa theo tiêu chuẩn quốc tế.

- Ở BN có triệu chứng kinh điển hoặc mức glucose huyết ở thời điểm bất kỳ \geq 200 mg/dL (hay 11,1 mmol/L).

Nếu không có triệu chứng kinh điển (tiểu nhiều, uống nhiều, ăn nhiều, sụt cân không rõ nguyên nhân), xét nghiệm chẩn đoán ở trên cần lặp lại lần 2 để xác định. Thời gian thực hiện sau lần 1 có thể từ 1-7 ngày. Tại VN, nên dùng phương pháp đơn giản và hiệu quả để chẩn đoán là định lượng glucose huyết tương lúc đói 2 lần \geq 126 mg/dL (hay 7 mmol/L). Nếu HbA1c được đo tại phòng xét nghiệm được chuẩn hóa quốc tế, có thể đo HbA1c 2 lần để chẩn đoán ĐTĐ [20].

1.1.5.2. Chẩn đoán tiền đái tháo đường

Chẩn đoán tiền ĐTĐ khi có một trong các rối loạn sau đây:

- IFG: Định lượng từ 100 (5,6mmol/L) đến 125 mg/dL (6,9 mmol/L), hoặc
 - IGT: Glucose huyết tương ở thời điểm 2 giờ sau khi làm nghiệm pháp dung nạp glucose bằng đường uống 75 g từ 140 (7.8 mmol/L) đến 199 mg/dL (11 mmol/L), hoặc

- HbA1c từ 5,7% (39 mmol/mol) đến 6,4% (47 mmol/mol). Những tình trạng IFG này chưa đủ tiêu chuẩn để chẩn đoán ĐTĐ nhưng có nguy cơ xuất hiện các biến chứng mạch máu lớn của ĐTĐ, gọi là tiền ĐTĐ (pre-diabetes) [15].

1.1.6. Thuốc điều trị

1.1.6.1. Thuốc điều trị ĐTĐ type 1

Liệu pháp Insulin: Ở ĐTĐ type 1 tế bào β gần như mất hoàn toàn chức năng. Điều trị bằng insulin là cần thiết cho những người mắc ĐTĐ type 1 [23]. Trong ba

thập kỷ qua, qua nhiều bằng chứng sử dụng nhiều mũi tiêm insulin hàng ngày hoặc tiêm dưới da thông qua kim truyền là sự kết hợp hiệu quả và an toàn cho những người mắc ĐTD type 1. Bệnh nhân ĐTD type 1 nhu cầu có thể được ước tính dựa trên trọng lượng, với liều lượng dao động từ 0,4 - 1,0 đơn vị / kg / ngày. Cần lượng cao hơn được trong tuổi dậy thì, mang thai và bệnh tật [22].

Insulin duy trì mức glucose máu gần mức độ sinh lý, được chứng minh là cách tốt nhất để phòng các bệnh về mạch máu, làm giảm tỷ lệ tử vong, kéo dài tuổi thọ và nâng cao chất lượng cuộc sống của người ĐTD. Có thể chỉ định insulin ngay từ lần khám đầu tiên nếu HbA1C > 9,0% và glucose máu lúc đói trên 15,0 mmol/l (270 mg/dL). Người bệnh ĐTD type 2 đang mắc một bệnh cấp tính khác; ví dụ nhiễm trùng nặng, nhồi máu cơ tim, đột quy... Người bệnh ĐTD suy thận có chống chỉ định dùng thuốc viên hạ glucose máu; người bệnh có tổn thương gan... Người ĐTD mang thai hoặc ĐTD thai kỳ. Điều trị các thuốc hạ glucose máu bằng thuốc viên không hiệu quả, dị ứng với các thuốc viên hạ glucose máu [13].

1.1.6.2. Thuốc điều trị ĐTD type 2

- *Sulfonylurea*: Nhóm sulfonylurea có chứa nhân sulfonic acid urea, khi thay đổi cấu trúc hóa học sẽ cho ra các loại chế phẩm khác nhau về hoạt tính. Thuốc kích thích tế bào β tụy tiết insulin. Thuốc gắn vào kênh kali phụ thuộc ATP (KATP) nằm trên màng tế bào β tụy làm đóng kênh này, do đó làm phân cực màng tế bào. Khi màng tế bào β phân cực, kênh calci phụ thuộc điện thế sẽ mở ra, calci sẽ đi vào trong tế bào làm phóng thích insulin từ các hạt dự trữ. Thuốc làm giảm HbA1c từ 1 – 1,5%. Thuốc Sulfonylurea thuộc thế hệ thứ nhất như Tolbutamide, Chlorpropamide, Tolazamide, hiện nay ít được dùng. Các thuốc thế hệ 2 (như Glyburide/glibenclamide, Gliclazide, Glimepiride, Glipizide) được ưa dùng hơn các thuốc thế hệ 1.

+ Glyburide/glibenclamide: Glyburide được chuyển hóa ở gan thành chất dẫn xuất kém hoạt tính trừ khi bệnh nhân có suy thận. Tác dụng sinh học của glyburide kéo dài đến 24 giờ sau khi uống 1 liều vào buổi sáng, do đó nguy cơ hạ glucose huyết cao, nhất là ở người già, suy gan, suy thận. Chống chỉ định: suy thận, dị ứng.

+ Glimepiride: Thuốc có tác dụng kéo dài, thời gian bán hủy 5 giờ, có thể uống ngày 1 lần vào buổi sáng. Thuốc được chuyển hóa hoàn toàn ở gan thành chất không còn nhiều hoạt tính

+ Gliclazide: Thuốc có hàm lượng 80mg, tác dụng kéo dài 12 giờ. Liều khởi đầu 40- 80mg/ngày. Liều tối đa 320 mg/ngày. Dạng phóng thích chậm có hàm lượng 30-60mg, liều khuyến cáo tối đa của dạng phóng thích chậm là 120 mg/ngày. Thuốc được chuyển hóa hoàn toàn ở gan thành chất dẫn xuất bất hoạt. Thuốc ít gây hạ glucose huyết hơn các loại sulfonylurea khác [38] và được chọn vào danh sách các thuốc thiết yếu để điều trị ĐTD của Tổ Chức Y tế Thế giới [15].

+ Glipizide: Thuốc hiện không lưu hành tại Việt Nam. Thuốc được chuyển hóa 90% ở gan, phần còn lại thải qua thận. Chống chỉ định khi có suy gan.

- *Glinides* hiện có tại Việt Nam: Repaglinide hàm lượng 0,5-1-2mg Cơ chế tác dụng tương tự như sulfonylurea. Thuốc làm giảm HbA1c từ 1 – 1,5%. Thuốc được hấp thu nhanh ở ruột, chuyển hoá hoàn toàn ở gan và thải qua mật, do đó thời gian bán hủy ngắn dưới 1 giờ. Thuốc làm tăng tiết insulin nhanh nên liều thường dùng là 0,5-1 mg uống trước các bữa ăn 15 phút. Liều tối đa 16 mg/ngày. Tác dụng chủ yếu của thuốc là giảm glucose huyết sau ăn. Thuốc cũng làm tăng cân và có nguy cơ hạ glucose huyết tuy thấp hơn nhóm sulfonylurea. Do thời gian bán hủy ngắn, thuốc có thể dùng ở người già, khi suy thận.

- *Metformin* là thuốc duy nhất trong nhóm biguanide còn được sử dụng hiện nay. Thuốc khác trong nhóm là phenformin đã bị cấm dùng vì tăng nguy cơ nhiễm acid lactic. Cơ chế tác dụng: giảm sản xuất glucose ở gan. Có tác dụng yếu trên tăng hiệu ứng incretin. Thuốc làm giảm HbA1c khoảng 1 – 1,5%. Liều thường dùng 500-2000 mg/ngày. Ít khi cần dùng đến liều 2500mg/ngày, ở liều này tác dụng giảm glucose huyết không tăng nhiều nhưng tác dụng phụ sẽ nhiều hơn [15]. Metformin làm giảm mức đường huyết theo một số cơ chế khác nhau, đặc biệt là thông qua cơ chế không qua tụy mà không làm tăng bài tiết insulin. Nó làm tăng tác dụng của insulin; do đó, nó được gọi là "chất nhạy cảm insulin". Metformin cũng ức chế sản

xuất glucose nội sinh của gan, chủ yếu là do làm giảm tốc độ tạo gluconeogenesis và ảnh hưởng nhỏ đến quá trình đường phân. Hơn nữa, metformin kích hoạt enzym adenosine monophosphat kinase (AMPK) dẫn đến ức chế các enzym quan trọng tham gia vào quá trình tổng hợp gluconeogenesis và glycogen trong gan đồng thời kích thích tín hiệu insulin và vận chuyển glucose trong cơ. AMPK điều chỉnh sự trao đổi chất của tế bào và cơ quan và bất kỳ sự giảm năng lượng gan nào cũng dẫn đến sự hoạt hóa của AMPK [63].

- *Thiazolidinedione (TZD hay glitazone)* cơ chế tác dụng: Hoạt hóa thụ thể PPAR γ , tăng biểu lộ chất chuyên chở glucose loại 1-4 (GLUT1 và GLUT4) giảm nồng độ acid béo trong máu, giảm sản xuất glucose tại gan, tăng adiponectin và giảm sự phóng thích resistin từ tế bào mỡ, tăng chuyển hóa tế bào mỡ kém biệt hóa (preadipocytes) thành tế bào mỡ trưởng thành. Thuốc làm tăng nhạy cảm với insulin ở tế bào cơ, mỡ và gan. Giảm HbA1c từ 0,5 – 1,4%. Hiện nay tại Việt Nam chỉ có Pioglitazone còn được sử dụng. Nhóm TZD không gây hạ glucose huyết nếu dùng đơn độc. Chống chỉ định: suy tim độ III-IV theo Hiệp Hội Tim New York (NYHA), bệnh gan đang hoạt động, enzyme gan ALT tăng gấp 2,5 giới hạn trên của trị số bình thường.

- *Ức chế enzyme α -glucosidase* cơ chế tác dụng: thuốc cạnh tranh và ức chế tác dụng của enzyme thủy phân đường phức thành đường đơn, do đó làm chậm hấp thu carbohydrat từ ruột [12]. Giảm HbA1c từ 0,5 – 0,8% Thuốc chủ yếu giảm glucose huyết sau ăn, dùng đơn độc không gây hạ glucose huyết. Tác dụng phụ chủ yếu ở đường tiêu hóa do tăng lượng carbohydrat không được hấp thu ở ruột non đến đại tràng, bao gồm: sinh bọng, đầy hơi, đi ngoài phân lỏng. Uống thuốc ngay trước ăn hoặc ngay sau miếng ăn đầu tiên. Bữa ăn phải có carbohydrat. Thuốc hiện có tại Việt Nam: Acarbose (Glucobay), hàm lượng 50 mg. Liều đầu có thể từ 25 mg uống ngay đầu bữa ăn, 3 lần/ngày.

- *Thuốc có tác dụng Incretin* làm tăng tiết insulin tùy thuộc mức glucose và ít nguy cơ gây hạ glucose huyết. Ruột tiết ra nhiều loại incretin, hormon ở ruột có tác dụng tăng tiết insulin sau ăn bao gồm glucagon like peptide-1 (GLP-1) và glucose

dependent insulinotropic polypeptide (GIP). Nhóm này gồm 2 loại: thuốc đồng vận thụ thể GLP-1 dạng tiêm (glucagon like peptide 1 receptor analog- GLP-1RA) và thuốc ức chế enzyme dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4). Glucagon like peptide 1 là một hormon được tiết ra ở phần xa ruột non khi thức ăn xuống đến ruột. Thuốc làm tăng tiết insulin khi glucose tăng trong máu, và giảm tiết glucagon ở tế bào alpha tụy; ngoài ra thuốc cũng làm chậm nhu động dạ dày và phần nào gây chán ăn. GLP-1 bị thoái giáng nhanh chóng bởi enzyme dipeptidyl peptidase - 4, do đó các thuốc ức chế enzyme DPP- 4 duy trì nồng độ GLP-1 nội sinh, không làm tăng cân và không gây hạ glucose huyết. Ức chế enzyme DPP-4 (Dipeptidyl peptidase-4) cơ chế ức chế enzyme DPP- 4, một enzyme thoái giáng GLP-1, do đó làm tăng nồng độ GLP-1 (glucagon-like peptide) có hoạt tính. Thuốc ức chế enzyme DPP-4 làm giảm HbA1c từ 0,5 – 1,4%. Dùng đơn độc không gây hạ glucose huyết, không làm thay đổi cân nặng. Thuốc được dung nạp tốt. Hiện tại ở Việt nam có các loại: Sitagliptin, Saxagliptin, Vildagliptin, Linagliptin. Thuốc đồng vận thụ thể GLP-1 (GLP-1RA: GLP-1 Receptor Analog). Hiện nay tại Việt Nam chỉ lưu hành Liraglutide.

- *Thuốc ức chế kênh đồng vận chuyển Natri-glucose SGLT2 (Sodium Glucose Transporter 2)* Glucose được lọc qua cầu thận sau đó được tái hấp thu chủ yếu ở ống thận gần dưới tác dụng của kênh đồng vận chuyển Natri-glucose (Sodium Glucose coTransporters (SGLT). SGLT2 giúp tái hấp thu khoảng 90% glucose lọc qua cầu thận, do đó ức chế tác dụng kênh này ở bệnh nhân ĐTĐ típ 2 sẽ làm tăng thải glucose qua đường tiểu và giúp giảm glucose huyết. Hiện nay tại Việt Nam chỉ lưu hành thuốc Dapagliflozin.

- *Các loại thuốc viên phối hợp*: do bản chất đa dạng của cơ chế bệnh sinh ĐTĐ típ 2, việc phối hợp thuốc trong điều trị sẽ mang lại hiệu quả giảm glucose huyết tốt hơn, đồng thời giảm tác dụng phụ khi tăng liều một loại thuốc đến tối đa. Nguyên tắc phối hợp là không phối hợp 2 loại thuốc trong cùng 1 nhóm, thí dụ không phối hợp gliclazide với glimepiride. Ngoài ra viên thuốc phối hợp 2 nhóm thuốc sẽ giúp cho số viên thuốc cần sử dụng ít hơn, làm tăng tính tuân thủ dùng thuốc của bệnh nhân. Bất lợi của viên thuốc phối hợp là không thể chỉnh liều 1 loại

thuốc. Hiện nay tại Việt Nam có các thuốc viên phối hợp Glyburide/ Metformin (glucovance), Amaryl/ Metformin (coAmaryl), Sitagliptin/Metformin (Janumet), Vildagliptin/ Metformin (Galvusmet), Saxagliptin/Metformin (Komboglyze) dạng phóng thích chậm. Pioglitazone/Metformin [13].

1.2. Tổng quan về Đái tháo đường theo Y học cổ truyền

1.2.1. Quan niệm theo Y học cổ truyền

ĐTĐ thuộc phạm vi chứng “Tiêu khát” của YHCT [1], [12]. Tên bệnh “Tiêu khát” bắt nguồn từ sách Nội kinh. Từ đời Đường về sau, sách vở y gia căn cứ vào 3 chủ chứng của bệnh này là: uống nhiều, ăn nhiều, tiểu nhiều mà đặt tên thành “thượng tiêu”, “trung tiêu”, “hạ tiêu” để làm tiêu chuẩn biện chứng. Chủ chứng: Khát uống nhiều, hay ăn mà gầy, tiểu tiện luôn đi mà nhiều hoặc nước tiểu có vị ngọt [9].

- Bệnh được phát hiện và mô tả sớm từ thế kỷ thứ IV – V trước Công nguyên. Trong “Hoàng đế Nội kinh tố vấn” gọi là chứng “tiêu” hay “tiêu khát”.

- Sách “Linh khu, Ngũ biến thiên” viết: “Ngũ tạng giai nhu nhược giả, thiên bệnh tiêu đan”. Nghĩa là: “Ngũ tạng hư nhược dễ bị bệnh tiêu”.

- Trong “Ngoại trị bị yếu, Tiêu khát môn” viết: “Tiêu khát giả, nguyên kỳ phát động, thử tắc thận suy sở trí, mỗi phát tức tiện chí điểm”. Dịch nghĩa: “Bệnh tiêu khát ban đầu do thận suy nên mỗi khi tiểu tiện nước tiểu có vị ngọt” [1].

- Theo Tuệ Tĩnh (Tuệ Tĩnh toàn tập): tiêu khát là chứng trên thì muốn uống nước, dưới thì ngày đêm đi đái rất nhiều. Nguyên nhân do dâm dục quá độ, trà rượu không chừng, hoặc ăn nhiều đồ xào nướng, hoặc thường uống thuốc bằng kim thạch làm cho khô kiệt chất nước trong thận, khí nóng trong tâm cháy rục, tam tiêu nung nấu, ngũ tạng khô ráo, từ đó sinh ra chứng tiêu khát [17].

- Theo “Hải Thượng Y tông tâm lĩnh, Y trung quan kiện”: bệnh tiêu khát phần nhiều do hỏa làm tiêu hao chân âm, năm chất dịch bị khô kiệt mà sinh ra.

Theo sự ghi chép qua các thời đại, thấy có nhiều yếu tố liên quan. Yếu tố thứ nhất là tiên thiên bất túc, chỉ nguyên khí bị hư. Yếu tố thứ hai là hậu thiên: do điều kiện ăn uống thất thường, quá no hay quá đói, ăn quá nhiều chất béo ngọt. Yếu tố hậu thiên cũng cần kể tới là quá trình sống, trạng thái tinh thần, không ổn định, căng

thăng quá mức kéo dài (lo lắng, bực tức, buồn phiền, kinh sợ). Các nguyên nhân này hay gặp ở người cao tuổi [12].

1.2.2. Nguyên nhân theo Y học cổ truyền

Nguyên nhân gây bệnh có khi một nhưng đa số là nhiều nhân tố phối hợp:

- Tiên thiên thiên bất túc: do bẩm tố, ngũ tạng hư yếu, ngũ tạng hư yếu, tinh khí của ngũ tạng đưa đến tàng trữ ở thận giảm sút, dẫn tới tinh khuy dịch kiệt mà gây chứng tiêu khát.

- Ăn uống không điều độ: ăn quá nhiều thứ béo ngọt hoặc uống quá nhiều rượu, ăn nhiều đồ xào nướng lâu ngày làm nung nấu, tích nhiệt ở Tỳ Vị, nhiệt tích lâu ngày thiêu đốt tân dịch mà gây chứng tiêu khát.

- Tình chí thất điều: do nghĩ căng thẳng thái quá, hoặc do uất ức lâu ngày, lao tâm lao lực quá độ làm cho ngũ chí cực uất mà hóa hỏa. Hỏa thiêu đốt phế, vị thận, làm cho phế táo, vị nhiệt, thận âm hư. Thận âm hư làm tân dịch giảm, phế táo làm mất chức năng tuyên phát, không đưa tinh hoa của thủy cốc đi nuôi cơ thể được mà dồn xuống bàng quang nên người bệnh khát nước, tiểu nhiều, nước tiểu có vị ngọt.

- Phòng lao quá độ: do đam mê tử sắc, sinh hoạt bừa bãi làm cho thận tinh khuy tổn, hư hỏa nội sinh lại làm thủy kiệt thêm. Cuối cùng thận hư, phế táo, vị nhiệt, do đó xuất hiện tiêu khát.

- Dùng thuốc ôn táo kéo dài làm hao tổn âm dịch: ngày xưa có người thích dùng phương thuốc “Tráng dương chí thạch” là loại thuốc rất táo nhiệt, làm hại chân âm và sinh tiêu khát. Ngày nay không dùng thạch đượ để uống, muốn tăng hoạt động tình dục thì uống thuốc tráng dương có tính ôn táo, lại uống kéo dài sẽ sinh táo nhiệt ở trong, âm dịch hao tổn nên sinh tiêu khát [1],[12].

1.2.3. Phân thể lâm sàng và điều trị theo Y học cổ truyền

Theo các nghiên cứu mới, phân thể lâm sàng ở Thượng tiêu, Trung tiêu, Hạ tiêu không còn phù hợp với diễn biến phức tạp của bệnh ĐTĐ hiện nay, [12] bệnh nhân không có những triệu chứng tiêu biểu của Tiêu khát mà có thể diễn tiến sang giai đoạn biến chứng. Vì vậy, các nhà lâm sàng đã tổng hợp những triệu chứng thường gặp của bệnh nhân ĐTĐ từ đó tổng hợp thành các chứng hậu để điều trị [12] [90]. Các thể thường thấy trên lâm sàng:

- Thể Vị âm hư, tân dịch khuy tổn: Miệng khô, họng táo, ăn nhiều, mau đói, đại tiện bí kết, chất lưỡi đỏ, rêu lưỡi vàng, hoặc rêu lưỡi trắng khô, mạch trầm huyền.

Pháp trị: Dưỡng âm sinh tân. Tăng dịch thang gia giảm (Sinh địa, huyền sâm, Mạch môn, Thiên hoa phấn, Cát căn, Thạch học).

- Thể Vị âm hư, Vị hỏa vượng: Khát nước, uống nhiều, ăn nhiều, mau đói, cảm giác mệt mỏi, nóng trong người, tiểu tiện nhiều lần, lượng nhiều, nước tiểu vàng đục, đại tiện bí kết, chất lưỡi đỏ, rêu lưỡi vàng khô, mạch hoạt sắc.

Pháp trị: tư âm thanh nhiệt. Bài Tăng dịch thang hợp Bạch hổ thang gia giảm (Thạch cao, Tri mẫu, Huyền sâm, Sinh địa, Mạch môn, Thiên hoa phấn).

- Thể khí âm lưỡng hư: Miệng khô, họng táo, mệt mỏi, đoản khí, lưng gối mỏi yếu, hồi hộp, trống ngực có thể kèm theo tức ngực hoặc đau thắt ngực, tự hãn, đạo hãn, hoa mắt, chóng mặt, ù tai, chân tay tê bì, cảm giác vô lực, thị lực giảm, chất lưỡi bệu, rêu lưỡi trắng, mạch trầm vi.

Pháp trị: ích khí dưỡng âm. Bài Sinh mạch tán hợp Tăng dịch thang gia vị (Nhân sâm, Mạch môn, Ngũ vị tử, Sinh địa, Huyền sâm, Hoàng kỳ, Cát căn, Hoài sơn, Sơn thù)

- Thể Thận âm hư: miệng khát, mệt mỏi, lưng gối mỏi yếu, cảm giác nóng trong, có lúc bốc hỏa, ngủ ít, hay mê, đại tiện táo, tiểu tiện vàng sẫm, chất lưỡi đỏ, rêu lưỡi vàng dày, khô, mạch trầm tế sắc.

Pháp trị: tư bổ thận âm. Bài Lục vị địa hoàng hoàn gia giảm (Sinh địa, Hoài sơn, Sơn thù, Đơn bì, Phục linh, Trạch tả, Thiên hoa phấn, Kỷ tử, Thạch học).

- Thể Thận Dương hư: Miệng khát, không muốn uống nước, mệt mỏi, đoản khí, sợ lạnh, chân tay lạnh, phù mắt hoặc chân, sắc mặt u ám, tai khô, răng lung lay muốn rụng, không muốn ăn, liệt dương, đại tiện lỏng hoặc lúc lỏng lúc táo, tiểu tiện đục, lượng nhiều, chất lưỡi đậm tía, rêu lưỡi trắng khô, mạch trầm vi vô lực.

Pháp trị: Bổ dương, ích khí, dưỡng thận. Bài Thận khí hoàn gia giảm (Sinh địa, Hoài sơn, Sơn thù, Đơn bì, Phục linh, Trạch tả, Phụ tử, Quế chi, Kim anh tử, Hoàng kỳ, Khiếm thực, Thiên hoa phấn).

Châm cứu: BỔ (Thận du, cách du, Thái khê, Phục lưu, Thủy tuyền, Tam âm giao, Vị du, Phục lưu). Tả (Thái xung, Túc tam lý, Phong long). Nhĩ châm (Phế, Vị, Nội tiết, Thận, Bàng quang). Mai hoa châm gõ dọc kinh Bàng quang hai bên cột sống từ Tỳ du đến Bàng Quang du.

Khí công – Dưỡng sinh: luyện ý, luyện thở, luyện hình thể.

Xoa bóp bấm huyệt vùng lưng, tứ chi [12].

1.2.4. Phân tích thành phần viên nang theo Y học cổ truyền

Theo quan điểm YHCT các vị thuốc dùng trong bài thuốc hạ đường huyết (điều trị chứng Tiêu khát) có các tác dụng chính như sau: BỔ khí (tăng quá trình hấp thu oxy để tạo năng lượng của tế bào, tăng cường khả năng hoạt động của cơ quan); BỔ âm, sinh tân dịch (tăng chuyển hoá các chất đường – đạm – mỡ và quá trình chuyển hoá nước của tế bào); Hoạt huyết (thúc đẩy sự lưu thông của máu, chống sự hình thành cục máu đông); Thanh nhiệt (chống viêm, tăng quá trình thải độc của cơ thể).

Giảo cổ lam vị đắng, tính hàn vào kinh Can, Phế với tác dụng bổ khí, hoạt huyết, thanh nhiệt, giải độc [14].

Thạch斛 tía có tác dụng bổ âm, sinh tân, chỉ khát, vào các kinh Vị, Thận, Phế. Công năng chủ trị: Tư âm thanh nhiệt, ích vị sinh tân chủ trị âm hư nội nhiệt, tân dịch hao tổn (nóng sốt nhẹ, bứt rứt, háo khát). Vị âm hư, vị nhiệt (ăn kém, nôn khan, môi miệng khô, lở loét miệng), tiêu khát [6],[14].

Và Me rừng có tác dụng chỉ khát, sinh tân, thanh nhiệt. Có tác dụng nhuận Phế, hóa đờm, sinh tân [6].

Sự kết hợp của ba loại dược liệu này tạo nên tác dụng tương đối đầy đủ, để hỗ trợ cho nhau trong điều trị chứng Tiêu khát theo YHCT.

1.2.5. Các nghiên cứu về các bài thuốc, vị thuốc Y học cổ truyền điều trị Đái tháo đường

1.2.5.1. Trong nước

Năm 2010, theo nghiên cứu của Hứa Hoàng Oanh khảo sát tác dụng hạ glucose huyết của hai dạng bào chế trà thuốc và viên nang khô qua - đa búp đỏ trên chuột nhắt trắng. Cả hai dạng thuốc đều có tác động làm giảm glucose huyết của

chuột đái tháo đường đã gây tăng glucose huyết bởi alloxan sau khi sử dụng 14 ngày đối với viên nang Khô qua - Đa búp đỏ; từ ngày điều trị thứ 21 đối với trà thuốc Khô qua - Đa búp đỏ và không ảnh hưởng đến glucose huyết của chuột bình thường. Tác động làm giảm glucose huyết tương đương với gliclazide [4].

Năm 2012, nghiên cứu của Hứa Hoàng Oanh về khảo sát tương tác thuốc giữa nhân sâm và metformin trên chuột nhắt trắng gây tăng glucose huyết bằng alloxan 70mg/kg cho thấy có dấu hiệu của sự tương tác giữa Nhân sâm và metformin trên chuột bị gây đái tháo đường thực nghiệm bởi alloxan sau 14 ngày uống thuốc. Ở lô chuột uống đồng thời metformin và dịch chiết Nhân sâm, nồng độ glucose huyết giảm nhiều hơn so với lô chuột chỉ uống metformin ($p < 0,05$) [11].

Năm 2012, Nghiên cứu của Nguyễn Trần Châu Đỗ Mai Anh khảo sát tác động của cao chiết từ vỏ thân Vừng quả xoan trên bệnh đái tháo đường type 2 trên chuột nhắt được gây bệnh đái tháo đường. Có kết quả Cao Vừng quả xoan làm giảm nồng độ đường huyết của chuột sau 15 ngày dùng đường uống liều 2g/kg/ngày [8].

Năm 2014, theo nghiên cứu của Trần Hoàng trong nghiên cứu tác dụng hạ đường huyết của hạt móc mèo trên thực nghiệm. Với liều cao nhất được dùng từ cao chiết cồn hạt Móc mèo *C. bonduc* 500 mg/kg có tác dụng hạ đường huyết cao hơn so với liều 250 mg/kg ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt đáng kể giữa lô dùng glibenclamide (10 mg / kg thể trọng) với lô dùng cao chiết cồn hạt Móc mèo *C. bonduc* với liều 500 mg/kg ($p > 0,05$) từ ngày thứ 4 đến ngày thứ 7 [3].

Năm 2015, Dương Thị Mộng Ngọc và cộng sự đã khảo sát độc tính cấp và tác dụng hạ đường huyết thực nghiệm của cao nước chiết từ hỗn hợp 3 dược liệu (Mắc cỡ, Râu mèo, Mướp đắng) trên chuột nhắt trắng Swiss albino. Ở liều 1,4 g/kg thể trọng chuột/ ngày, cao chiết này có tác dụng làm giảm 33,15 % nồng độ glucose trong huyết thanh chuột bị Đái tháo đường bằng streptozotocin tương đương với tác dụng của gliclazid ở liều 200 mg/kg, đạt ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng bệnh lý ($p < 0,05$). Khi khảo sát độc tính cấp đường uống, không có chuột tử vong ở liều 16,45 g/kg thể trọng [2]

Năm 2019, Kiều Xuân Thy và cộng sự nghiên cứu sự tác động lên trọng lượng và đường huyết của chuột bị Đái tháo đường của cao nước lá Mật gấu thu

thập tại tỉnh Sóc Trăng. Cho kết quả cao nước từ bài thuốc lá Mật gấu uống liều 100 mg/kg và 200 mg/kg có tác động duy trì thể trạng và có tác động hạ đường huyết sau 15 ngày uống trên chuột bị ĐTĐ so với nhóm chứng glibenclamid 5 mg/kg [5].

1.2.5.2. Nước ngoài

Năm 2012, nghiên cứu về Hoàng Liên hoàn về tác dụng hạ đường huyết trên chuột mắc ĐTĐ do STZ gây ra, cho thấy chiết xuất có thể làm giảm mức đường huyết sau ăn của chuột mắc ĐTĐ. Hơn nữa, chiết xuất có thể ức chế hoạt động của sucrase và maltase trong ống nghiệm. Hoàn liên hoàn có tác dụng chống tăng đường huyết mạnh đối với chuột mắc bệnh ĐTĐ do STZ gây ra, thông qua việc ức chế sự gia tăng hoạt động của các disaccharidaza trong ruột và nâng cao mức insulin huyết tương ở chuột mắc bệnh ĐTĐ do streptozotocin gây ra [81].

Năm 2016, nghiên cứu của Muhammad Tayyab Akhtar chiết xuất từ Xuyên tâm liên trên chuột gây ĐTĐ béo phì. Chiết xuất từ cây Xuyên tâm liên được trong việc phục hồi cấu hình trao đổi chất bị rối loạn của chuột. Các nghiên cứu sâu hơn về chuyển hóa dựa trên cộng hưởng từ cùng với các phương pháp di truyền cổ điển và kỹ thuật phân tử hiện đại có thể giúp hiểu sâu hơn về các cơ chế liên quan đến sự phát triển và tiến triển của bệnh ĐTĐ và tác dụng chống ĐTĐ của chiết xuất nước *A. paniculata* [59].

Nghiên cứu của Ya Liu năm 2019 với hợp chất Shenqi (từ Nhân sâm, Hoàng kỳ, Sinh địa, Thiên hoa phấn, Sơn thù du, Hoài sơn, Bạc hà, Đại hoàng). Trong nghiên cứu này, hợp chất Shenqi và sitagliptin có thể cải thiện hiệu quả lipid huyết thanh, nồng độ hormone (insulin huyết thanh (INS), Glucagon (GC) và Glucagon-Like Peptide-1 (GLP) -1)), làm giảm phản ứng viêm (Protein phản ứng C quá mẫn cảm (hsCRP)), dao động đường huyết. Hợp chất Shenqi là một loại thuốc điều trị hiệu quả trên bệnh ĐTĐ type 2. Thể hiện khả năng ngăn ngừa dao động đường huyết, có thể bắt nguồn từ việc điều chỉnh lộ trình tín hiệu mTOR [76].

1.3. Tổng quan về Viên nang GYDENPHY

1.3.1. Nguồn gốc

Viên nang Gydenphy do học viện Quân y chiết xuất từ nguồn dược liệu từ tỉnh Cao Bằng cung cấp đạt tiêu chuẩn cơ sở (TCCS) (chi tiết Quy trình bào chế viên nang phần phụ lục)

1.3.2. Thành phần

Viên nang Gydenphy thành phần bao gồm (chi tiết phần phụ lục):

- Cao Giảo cổ lam 90,0mg. Chiết xuất từ phần thân trên mặt đất
- Cao Thạch斛 86,0mg. Chiết xuất từ toàn cây
- Cao Me rừng 224,0mg. Chiết xuất từ quả me rừng
- Tá dược vừa đủ 1 viên.

1.3.3. Giảo cổ lam

Tên gọi khác: Cam Trà vạn, Thất diệp đóm, cây trường sinh, cây cỏ Thần kỳ, Sâm phương nam, Ngũ diệp sâm.

Tên khoa học: *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb). Makino họ Bầu bí (Cucurbitaceae) .

Mô tả: Cây thảo có thân mảnh, leo nhờ tua cuốn đơn ở nách lá. Cây đực và



cây cái riêng biệt. Lá kép hình chân vịt. Cụm hoa hình chùy mang nhiều hoa nhỏ màu trắng, các cánh hoa rời nhau xoè hình sao, bao phấn dính thành đĩa, bầu có 3 vòi nhụy. Quả khô hình cầu, đường kính 5 -9 mm, khi chín màu đen.

Bộ phận dùng: Phần trên mặt đất phơi sấy khô. Phân bố: Giảo cổ lam sống ở độ cao 200m – 2000m ở các vùng phía Bắc của Việt Nam, Bắc Triều Tiên, Nhật Bản, Nam Trung Quốc.

Hình 1. 1. Cây Giảo cổ lam [71]

Tác dụng hạ glucose máu: Giảo cổ lam giúp ổn định đường huyết, hỗ trợ điều trị ĐTĐ type 2. Các chất trong Giảo cổ lam có tác dụng ổn định đường huyết trên BN ĐTĐ type 2. Giảo cổ lam hầu như không có tác dụng hạ đường huyết khi nồng độ đường trong máu ở

ngưỡng giới hạn bình thường mà chỉ làm giảm đường huyết trên đối tượng có nồng độ đường huyết cao [18].

Năm 2011, Vũ Thị Thanh Huyền phối hợp với Hội ĐTĐ Thụy Điển đánh giá tác dụng của trà Giảo cổ lam VN đối với sự nhạy cảm với insulin ở BN ĐTĐ type 2 chưa dùng thuốc thực hiện trên 65 BN ĐTĐ type 2 tại bệnh viện Lão Khoa Trung ương có chỉ số đường huyết lúc đói trong khoảng từ 9 mmol/l. Sau 12 tuần sử dụng trà Giảo cổ lam làm giảm đường huyết xuống 3 mmol/l, so với nhóm đối chứng không sử dụng. Nghiên cứu cũng nhận thấy nếu sử dụng một thuốc hạ đường huyết gliclazide trong 4 tuần sau đó chuyển sang sử dụng trà Giảo cổ lam trong 8 tuần cũng giúp làm giảm đường huyết lúc đói là 2,9 mmol/l so với nhóm chỉ sử dụng gliclazide đơn thuần trong 4 tuần đầu [42]. Đồng thời sử dụng trà Giảo cổ lam làm tăng mức độ nhạy cảm của tế bào với insulin, khả năng sử dụng glucose của tế bào, do đó giúp ổn định nồng độ đường trong máu .

Năm 2020, Zhu Kui Niu đã nghiên cứu tiến bộ về cơ chế, tác dụng của Giảo cổ lam và các thành phần hoạt động của nó trong việc cải thiện các biến chứng của ĐTĐ, và cung cấp tài liệu cho việc phát triển và sử dụng Giảo cổ lam. Tổng số 260 tài liệu liên quan đã được truy xuất, *Gynostemma pentaphyllum* và các thành phần hoạt tính của nó có thể cải thiện một loạt các biến chứng ĐTĐ, như bệnh thận do ĐTĐ, bệnh cơ tim do ĐTĐ, nhiễm trùng phức tạp do ĐTĐ, bệnh thần kinh do ĐTĐ,... Cơ chế liên quan đến việc điều hòa các chất hoạt tính, bảo vệ tế bào cầu thận, chống lại stress oxy hóa, ức chế xơ hóa mô kẽ thận và chống viêm; cải thiện hoạt động của enzym cơ tim, điều hòa của yếu tố tăng trưởng thần kinh [89].

Năm 2020, Wang Tong Zhuang nghiên cứu tác dụng hạ đường huyết của chiết xuất lá Giảo cổ lam trên chuột mắc ĐTĐ do streptozotocin (STZ), chiết xuất lá *Gynostemma pentaphyllum* liều cao làm giảm đáng kể lượng đường huyết lúc đói của chuột mắc ĐTĐ [86].

Năm 2020, Wang Zhao đã đánh giá hoạt tính chống oxy hóa, hạ đường huyết và chống viêm in vivo và in vitro của các hợp chất monome gypenoside của *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino nhằm tìm ra hợp chất có hoạt tính tốt và ít độc tính. Kết quả cho thấy, 5 hợp chất có tác dụng ức chế mạnh enzym α -

glucosidase phụ thuộc vào liều lượng. Người ta thấy rằng hợp chất 20-dihydroxydama-24-ethylene-21-axit cacboxylic 21,23-lacton 3-O- [α -L-Rhamnanopyranosyl (1 \rightarrow 2)] [β -D-xylopyranosyl (1 \rightarrow 3)] - 6-O-ethyl- β -D-glucopyranoside có thể đạt được hiệu quả hạ đường huyết tốt, đóng một vai trò tích cực trong việc chống viêm. Đồng thời có tác dụng bảo vệ nhất định đối với gan, thận và phổi [87].

Như vậy, tác dụng hạ đường huyết của giao cổ lam dựa trên các cơ chế: Kích thích tế bào β đảo tụy tăng tiết insulin [35]. Giảm tính kháng của tế bào đối với insulin . Giảm tổng hợp glucose ở gan [35],[80].

1.3.4. Thạch hộc tía

Tên gọi khác: Thạch hộc rỉ sắt còn gọi là kim thoa thạch hộc, thiết bì thạch hộc, hắc tiết thảo, hoàng thảo. Cây có tên thạch hộc là do cây này thường mọc ở trong các kẽ đá.



Hình 1. 2. Cây Thạch hộc [28]

Tên khoa học: *Dendrobium officinale* Kimura et Migo. Họ Lan Orchidaceae [6],[39]. Đã được định danh trong phần phụ lục.

Mô tả cây: Thạch hộc là cây phụ sinh mọc trên cây gỗ hay vách đá, cao 30-50 cm, thường mọc thành khóm. Thân hơi dẹt, có rãnh dọc, phía trên hơi dày hơn, có đốt dài 2,5- 3,0 cm, có vân dọc. Thân thạch hộc tía có màu tía, thân các thạch hộc khác có màu xanh. Lá mọc so le thành dãy đều hai bên thân, thuôn dài, hầu như không cuống, đầu lá hơi cuộn hình móng, có 5 gân dọc, dài 12 cm, rộng 2 - 3 cm.

Cụm hoa ở kẽ lá. Hoa to màu hồng, mọc thành chùm trên những cuống dài, mang 2 - 4 cánh hoa có cánh môi hình bầu dục, nhọn, cuốn thành phễu trong hoa, ở họng hoa có những điểm màu tím. Quả nang hơi hình thoi, khi khô tự mở. Hạt rất nhiều và nhỏ như bụi phấn. Cây mọc hoang ở rừng núi trên cây gỗ, được trồng làm cảnh ở Việt Nam. Trong chi Thạch học có nhiều loài dùng để làm thuốc quý.

Bộ phận dùng, phân bố, thu hái, chế biến: toàn cây, thu hái về mùa đông, phơi hoặc sấy khô, khi dùng tẩm rượu, đồ chín, thái nhỏ. Phân bố tự nhiên chủ yếu ở vùng rừng có độ cao 1.000 - 3.400 m so với mặt biển, thường phụ sinh vào cây gỗ hoặc vách đá có mọc rêu dưới tán rừng râm mát, trong điều kiện môi trường tự nhiên độ ẩm 70%, nhiệt độ không khí bình quân năm 12 - 18 độ C, lượng mưa 900 - 1.500 mm. Cây thạch học tía phân bố ở Việt Nam, Lào, Trung Quốc, Myanmar và nhiều nước nhiệt đới, cận nhiệt đới. Cây phân bố ở khắp các tỉnh miền núi nước ta, nhiều nhất ở các tỉnh có địa hình núi đá vôi như Hòa Bình, Ninh Bình, Thanh Hóa, Lào Cai, Lai Châu, Cao Bằng.

Thạch học tía có thể dùng đơn độc hoặc phối trộn với các dược liệu khác. Trong dược điển có đề cập đến nhiều loài Thạch học nhưng tốt nhất vẫn là Thạch học tía.

Tác dụng dược lý: Hạ đường huyết [39]. Năm 2016, Shao Zhen Hou đã kết luận nước chiết Thạch học có tác dụng làm giảm các biến chứng trên chuột gây ĐTD bằng STZ [66]. Năm 2017, Hong Zheng phát hiện ra mức đường huyết có thể giảm ở những con chuột cho uống dịch chiết từ Thạch học sau khi tiếp xúc với STZ, cho thấy tác dụng của nước chiết trong việc ngăn ngừa ĐTD. Các cơ chế trao đổi chất cơ bản về tác dụng của dịch chiết đã được khám phá thêm bằng cách sử dụng phương pháp chuyển hóa dựa trên cộng hưởng từ hạt nhân. Kết quả cho thấy tác



dụng hạ đường huyết có thể liên quan đến việc tăng tổng hợp glycogen ở gan, điều chỉnh năng lượng và chuyển hóa axit amin cũng như bảo vệ qua trung gian taurine chống lại stress oxy hóa

[40]. Năm 2018, Ming Zhao đã nghiên cứu dùng Thạch học điều trị bệnh thận do ĐTĐ bằng cách ngăn ngừa kháng insulin, dịch chiết Thạch học như một loại thuốc tự nhiên [58].

1.3.5. Me rừng

Tên gọi khác: chùm ruột núi, mận rừng, cam lam, trám rừng, me quả tròn, mắc kham, mạy kham (Tày)...

Tên khoa học: *Phyllanthus emblica* Linn Họ Thầu dầu (Euphorbiaceae) [6].

Đặc điểm thực vật: Cây gỗ nhỏ, cao khoảng 5- 7m, có khi cao hơn. Lá nhỏ xếp sát nhau thành hai dãy, trông như lá kép lông chim. Hoa nhỏ, màu vàng, mọc thành tán ở nách lá. Quả thịt hình cầu, có khía rất mờ. Ra hoa vào tháng 4, tháng 5.

Hình 1. 3. Cây Me rừng [45]

Phân bố: Cây me rừng phân bố rộng rãi ở vùng cận nhiệt đới và nhiệt đới châu Á như ở Trung Quốc, Ấn Độ, Indonesia, bán đảo Malaysia...[26]. Ở nước ta, cây mọc hoang hủ yếu ở khu vực miền núi phía Bắc (Cao Bằng, Lạng Sơn...) [14].

Bộ phận dùng: Rễ, vỏ cây và quả là những bộ phận được dùng làm thuốc. Rễ và vỏ cây thu hái quanh năm; quả thu hái vào tháng 8- 9 hàng năm (thời điểm quả bắt đầu chín).

Tác dụng dược lý: Crom trong me rừng có tác động tích cực cho người bị ĐTĐ [47]. Vì crom cần cho sự chuyển hoá các glucid và lipid. Riêng đối với insulin, crom tạo thuận lợi cho insulin liên kết với cơ quan thụ cảm của nó, do đó giúp cho sự đồng hoá đường glucose của các tế bào, tạo sự điều tiết tỷ lệ insulin trong máu, làm tăng tính nhạy cảm của các mô đối với insulin, bình thường và ổn định glycemik [30]. Theo nghiên cứu năm 2012 của Masharani, có mối liên hệ chặt chẽ giữa crom trong huyết thanh và sự thay đổi trong kháng insulin ($\beta = -0,83$, $p = 0,01$) [55]. Nghiên cứu năm 2019, của Pryanka Sarma kết luận các chất hóa thực vật của *P. emblica* là những chất chống ĐTĐ rất tiềm năng. Sử dụng các kỹ thuật hiện đại, các phân tử này có thể được sử dụng để phát triển một loại thuốc trị ĐTĐ hiệu quả [67].

1.4. Tổng quan về mô hình gây Đái tháo đường trên động vật thực nghiệm

1.4.1. Mẫu chuột kiểu mô phỏng đái tháo đường type 1

Đặc điểm chính của ĐTD type 1 là sự phá hủy tự miễn dịch của tế bào β tuyến tụy, dẫn đến thiếu sản xuất insulin. Ở các mô hình động vật, sự thiếu hụt insulin trong quá trình sản xuất có thể xảy ra do nhiều cơ chế khác nhau, từ việc cắt bỏ tế bào β bằng hóa chất đến các loài gặm nhấm sinh sản tự phát bệnh ĐTD tự miễn.

Trong các mô hình gây ĐTD type 1 về mặt hóa học, nhiều tế bào β nội sinh bị phá hủy, và do đó rất ít sản xuất insulin nội sinh, dẫn đến tăng đường huyết và giảm cân. Bệnh thường được gây ra khoảng 5-7 ngày trước khi bắt đầu thử nghiệm để đảm bảo tình trạng tăng đường huyết ổn định. Hai hợp chất chính được sử dụng để gây ra bệnh ĐTD là streptozotocin (STZ) hoặc alloxan. Do cấu trúc của chúng tương tự như glucose, động vật nhịn ăn có xu hướng nhạy cảm hơn. Cả alloxan và STZ đều tương đối không ổn định, và lý tưởng nhất là nên pha dung dịch ngay trước khi tiêm [50].

Cho một liều cao duy nhất từ 100 đến 200 mg/kg ở chuột từ 100 đến 200 mg, tùy thuộc vào chủng chuột. Điều này dẫn đến phá hủy nhanh chóng các tế bào β và gây tăng đường huyết [50]. Trong một số mô hình, một liều STZ duy nhất có hiệu quả gây ĐTD type 1. Tuy nhiên, ở chuột, nhiều liều thấp (40 mg / kg) là hiệu quả nhất trong việc duy trì khả năng sống của chuột và gây rối loạn chức năng tuyến tụy thông qua sự phá hủy miễn dịch. Đáp ứng này tương tự như trong giai đoạn khởi phát bệnh ĐTD type 1 ở người .

STZ với công thức $C_8H_{15}N_3O_7$ (2-deoxy[69]-2- (3- (methyl-3-nitrosoureido) - D -glucopyranose) [44],[69], là một loại kháng sinh được sản xuất bởi vi khuẩn *Streptomyces achromogens* và có đặc tính kháng khuẩn phổ rộng [50]. Nó chứa một phân tử glucose (ở dạng deoxy) được liên kết với một gốc metylnitrosourea, gốc glucose hướng đến các tế bào β tuyến tụy, STZ nhận ra thụ thể GLUT2 có nhiều trên màng tế bào β . Do đó, tế bào β tụy là mục tiêu cụ thể của STZ. Đối với tiêm trong phúc mạc, STZ có thể được loại bỏ hoàn toàn trong vòng 48 giờ sau khi uống và tác dụng methyl hóa DNA của nó nhanh chóng giảm

đi. Những bằng chứng này chỉ ra rằng độc tính cấp tính của STZ chỉ tồn tại rất ngắn. Tuy nhiên, chức năng của tế bào β tiếp tục giảm khi không có STZ có thể phát hiện được. Hiện nay người ta đã biết rằng chính tình trạng tăng đường huyết do nhiễm độc STZ cấp tính đã thúc đẩy sự phân hủy thêm tế bào β [78].

STZ ổn định trong khoảng 2 năm nếu được đóng băng (-20°C) và được bảo vệ khỏi ánh sáng. Trong dung dịch, STZ ổn định ở khoảng $\text{pH} = 4$ và do đó được chuẩn bị trong dung dịch đệm citrate lạnh ở $\text{pH} 4,5$ để tăng cường độ ổn định. Nếu không được sử dụng, dung dịch STZ có thể làm giảm khả năng gây bệnh ĐTĐ [57].

1.4.2. Mẫu chuột gây đái tháo đường type 2

Nguyên lý chung của phương pháp này là mô phỏng đặc điểm chính của ĐTĐ type 2: đề kháng insulin tại mô đích và thiếu hụt tương đối insulin trong máu. Động vật thường được chọn là chuột cống và chuột nhắt. Chuột nuôi bằng chế độ dinh dưỡng giàu năng lượng và giàu lipid trong một khoảng 4 tuần - 8 tuần để gây các rối loạn về chuyển hóa, đưa đến tình trạng đề kháng insulin, sau đó dùng hóa chất gây phá hủy tế bào β tuyến tụy gây nên tình trạng thiếu hụt insulin. Hóa chất thường dùng là streptozocin có đặc tính gây độc cho tế bào β tuyến tụy [34], [65].

Tiêm vào tĩnh mạch Streptozocin ở chuột trưởng thành, làm cho tuyến tụy sưng lên và cuối cùng gây thoái hóa tế bào β đảo Langerhans và gây ĐTĐ thực nghiệm. Từ quan điểm phúc lợi động vật và phù hợp cho nghiên cứu động vật, phạm vi liều STZ hiệu quả là 30-50 mg/kg dẫn đến hiệu quả trao đổi chất nhất quán ở tất cả động vật và không có động vật chết [34].

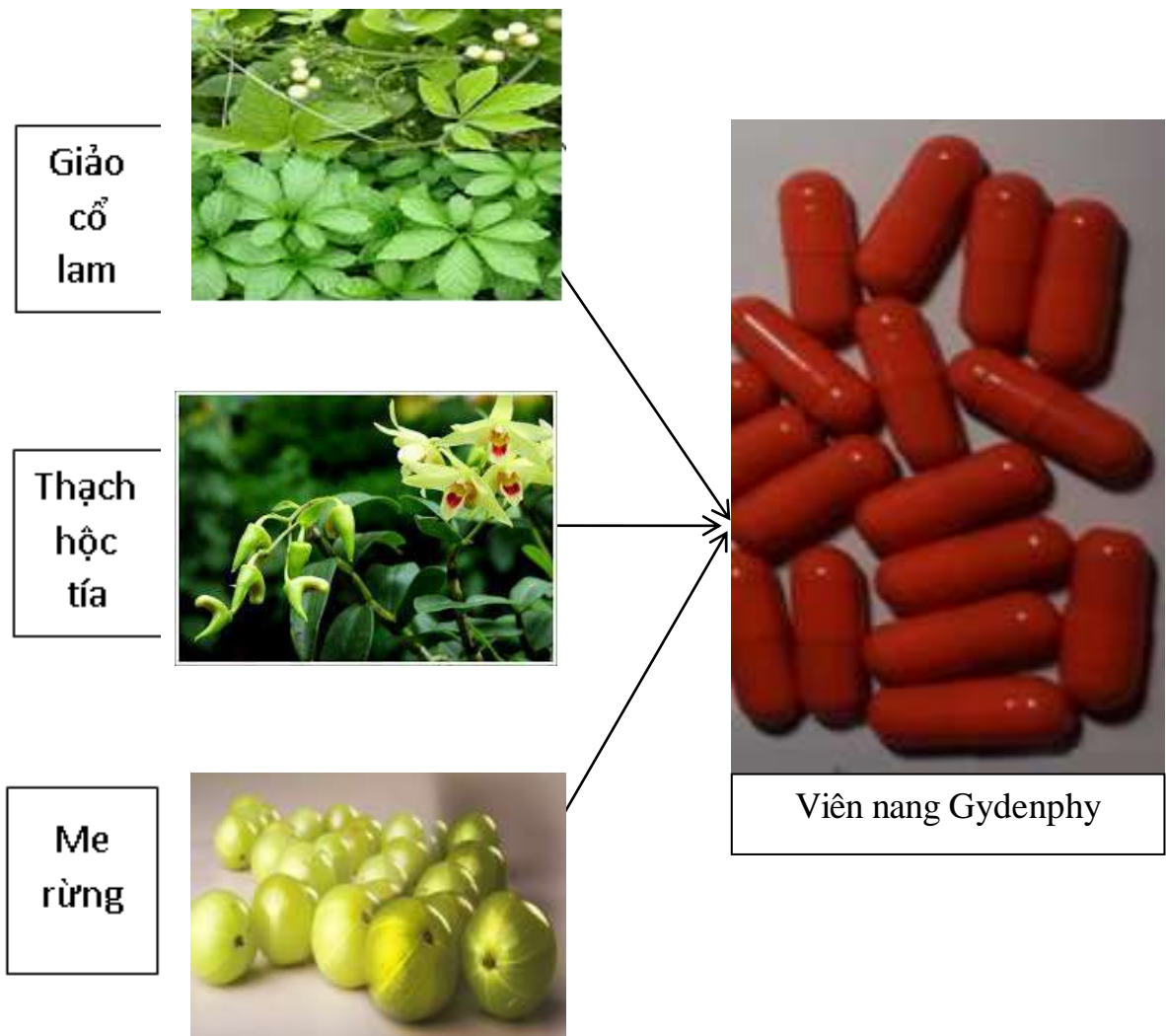
CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu, đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Chế phẩm nghiên cứu

Viên nang Gydenphy do Học viện Quân y cung cấp đạt tiêu chuẩn TCCS.

Viên nang Gydenphy thành phần bao gồm: bột cao Giảo cổ lam 90 mg chiết xuất từ phần thân trên mặt đất; bột cao Thạch học tía 86mg chiết xuất từ toàn cây ; bột cao Me rừng 224mg chiết xuất từ quả me rừng



Hình 2. 1. Viên nang Gydenphy được bào chế từ bột cao giảo cổ lam, thạch học tía và quả me rừng

Liều dùng được tính theo mg bột cao dược liệu/kg/ngày. Mỗi viên nang chứa 400mg cao dược liệu khô. Liều dự kiến sử dụng trên người là 6 viên nang/người/ngày, tương ứng 2400mg/người/ngày. Tính quân bình một người 50kg thì liều dùng dự kiến trên người sẽ là 48mg/kg/ngày. Quy đổi theo hệ số quy đổi từ người sang động vật thực nghiệm, liều tương đương trên chuột cống với hệ số quy đổi là 07 thì liều dự kiến có tác dụng trên chuột cống là 336mg/kg/ngày, liều tương đương trên chuột nhắt với hệ số quy đổi là 12 thì liều dự kiến có tác dụng trên chuột nhắt là 576mg/kg/ngày.

Thuốc tham chiếu: Gliclazid Stada 80mg của công ty liên doanh TNHH Stada - Việt Nam - VIỆT NAM. Hộp 6 vỉ x 10, số đăng ký VNB-4629-05, hạn dùng 6/2022, số lô. Liều dùng 10mg/kg theo nghiên cứu 2019 của Ezgi [36], [72].

Insulin (Humulin 70/30) do công ty HUMULIN Ấn Độ sản xuất hạn sử dụng 8/2021. Liều dùng insulin dựa trên nghiên cứu năm 2012 với liều 0.1U/kg theo nghiên cứu năm 2011 của Huỳnh Thị Thúy Kiều [7].

2.1.2. Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, chuột cống trắng chủng Wistar được cung cấp bởi Ban cung cấp động vật thí nghiệm - Học viện Quân y, nuôi dưỡng trong phòng nuôi động vật thí nghiệm ít nhất một tuần trước khi tiến hành thí nghiệm.



Hình 2. 2. Chuột cống trắng chủng Wistar (a) và chuột nhắt trắng chủng Swiss (b)

Các chuột khỏe mạnh được đánh giá gồm: lông mượt, mắt trong, hậu môn khô, hoạt động, vận động bình thường, ăn uống bình thường, chất thải bình thường. Việc lựa chọn chuột nghiên cứu được tiến hành bởi 2 kỹ thuật viên có nhiều kinh nghiệm. Sau khi lựa chọn xong, trực tiếp cán bộ nghiên cứu kiểm tra, đánh giá lại.

Chuột thí nghiệm được cho ăn thức ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu, nước sạch đun sôi để nguội uống tự do. Hàng ngày theo dõi ghi chép diễn biến kết quả thí nghiệm.

Bảng 2. 1. Số lượng chuột thí nghiệm

Động vật	N	Tiêu chuẩn	Nghiên cứu
Chuột nhắt trắng chủng Swiss	40	Cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 18 - 20g	Đánh giá tác dụng hạ đường huyết trên chuột nhắt trắng theo kiểu mô phỏng ĐTĐ type 1
Chuột cống trắng chủng Wistar	50	Giống đực, khỏe mạnh, trọng lượng 200 - 220g	Đánh giá tác dụng hạ đường huyết trên chuột cống theo kiểu mô phỏng ĐTĐ type 2

2.1.3. Thiết bị nghiên cứu

- Kim đầu tù cho chuột uống, cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1ml.
- Máy xét nghiệm sinh hóa tự động Chemix 180 hãng Sysmex.



Hình 2. 3. Máy xét nghiệm sinh hóa

- Cân điện tử của Nhật, độ chính xác 0,001 gam.

- Bộ dụng cụ mổ động vật cỡ nhỏ và các dụng cụ thí nghiệm khác.
- Que thử glucose máu và máy đọc kết quả One Touch Profile Metter do hãng Johnson & Johnson sản xuất.
- Máy xét nghiệm Elisa bán tự động Awareness Stat Fax 4200;
- Máy đo quang phổ (BioRad).
- Máy ly tâm lạnh Universal 320 (Hettich - Đức).



Hình 2. 4. Kim đầu tù và cân điện tử

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. *Đánh giá tác dụng hạ đường huyết của viên nang Gydenphy trên chuột nhắt trắng theo kiểu mô phỏng đái tháo đường type 1*

Chuột nhắt trắng Swiss giống đực, được tiêm màng bụng liều đơn STZ 150mg/kg để gây ĐTĐ theo kiểu mô phỏng ĐTĐ type 1. Glucose huyết được định lượng tại các thời điểm 0 giờ (trước tiêm STZ), 48 giờ và 7 ngày (sau khi tiêm). Các con chuột nào thể hiện mức glucose huyết ≥ 300 mg/dL được coi là bị ĐTĐ [37], [19]. Các con chuột bị ĐTĐ được chia 4 lô, mỗi lô 10 con.

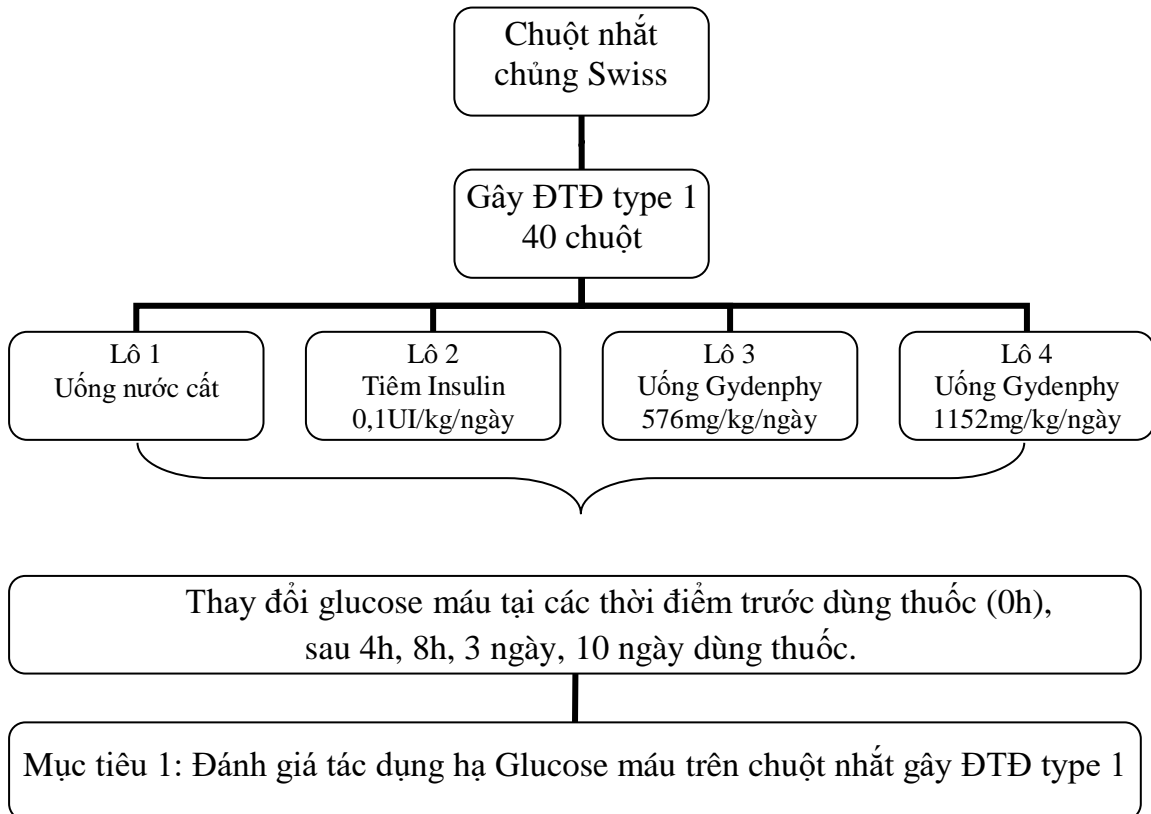
+ Lô 1 (lô chứng): uống nước cất.

+ Lô 2 (lô tham chiếu): tiêm Insulin tác dụng nhanh (Insulin thường) liều 0.1 UI/kg thể trọng/ngày.

+ Lô 3 (lô nghiên cứu): uống Gydenphy 576 mg/kg/ngày.

+ Lô 4 (lô nghiên cứu): uống Gydenphy 1152 mg/kg/ngày.

Chuột được cho uống hoặc tiêm theo phân lô trong 10 ngày. Xét nghiệm đường huyết ở các thời điểm trước dùng thuốc (0h), 4h, 8h sau dùng thuốc, và ở thời điểm sau 3 ngày và 10 ngày dùng thuốc (ngày 3 và ngày 10 lấy máu xét nghiệm ở thời điểm 4h sau dùng thuốc). Xử lý thống kê, so sánh giữa các lô, rút ra kết luận về tác dụng của chế phẩm trên chuột nhắt trắng theo kiểu mô phỏng ĐTĐ type 1.



Sơ đồ 2.1. Quy trình nghiên cứu mô hình đánh giá tác dụng hạ glucose trên chuột gây ĐTĐ

2.2.2. Đánh giá tác dụng hạ đường huyết của viên nang Gydenphy trên chuột cống trắng theo kiểu mô phỏng đái tháo đường type 2

*Thiết kế nghiên cứu

Chuột cống giống Wistar được nuôi trong phòng thí nghiệm 5 - 10 ngày trước khi tiến hành nghiên cứu, được cho ăn bằng thức ăn chuẩn dành riêng cho nghiên cứu, uống nước tự do. Sau đó, chuột cống trắng chia 5 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 (lô chứng): ăn chế độ ăn bình thường không HFD, uống nước cất.
- Lô 2 (lô mô hình): gây ĐTĐ type 2 + uống nước cất.
- Lô 3 (Gliclazid): gây ĐTĐ type 2 + uống Gliclazid liều 10mg/kg.

- Lô 4 (Gydenphy-1): gây ĐTĐ type 2 + uống Gydenphy 336 mg/kg/ngày.
- Lô 5 (Gydenphy-2): gây ĐTĐ type 2 + uống Gydenphy 672 mg/kg/ngày.

Chuột cống trắng gây ĐTĐ type 2 bằng chế độ ăn giàu năng lượng và chất béo (chế độ HFD) kết hợp với streptozotocin (STZ) liều thấp, theo David Miaffo và cộng sự, 2021 [33]. Chế độ ăn HFD gồm cholesterol, dầu dừa, fructose, mỡ lợn, bột ngô, men bia, canxi cacbonat, trong đó có 30 % năng lượng từ chất béo, 70% năng lượng từ carbohydrate. Chuột được cho ăn chế độ ăn HFD trong 4 tuần liên tiếp.

Sau đó, chuột được tiêm phúc mạc streptozotocin (STZ) 35mg/kg (pha trong citrate buffer 0,1M, pH 4,5). 72 h sau tiêm STZ, xét nghiệm glucose máu chuột. Những chuột có glucose máu ≥ 200 mg/dL được coi là bị ĐTĐ [34]. Sau đó, chuột được uống nước cất hoặc thuốc thử (theo phân lô) liên tục trong 28 ngày, trong thời gian này các chuột gây ĐTĐ vẫn duy trì chế độ ăn HFD.

* **Chỉ tiêu nghiên cứu**

Đánh giá cân nặng chuột, lượng thức ăn, nước uống, thể tích nước tiểu. Chuột được nhịn ăn qua đêm, lấy máu toàn phần từ đuôi chuột định lượng glucose máu, insulin máu (insulin máu được đo bằng ELISA)- kit thử (Rat Insulin ELISA Kit - Crystal Chem USA). Các chỉ số được đánh giá tại các thời điểm To (ngay trước uống thuốc), và Tc (sau uống thuốc ngày cuối 1 giờ).

Tính toán một số chỉ số đánh giá sự kháng insulin, gồm:

+ HOMA-IR (homeostatic model assessment of insulin-resistance – chỉ số đánh giá cân bằng nội môi của sự kháng insulin) [62]:

$$HOMA-IR = \text{glucose máu (mg/dL)} \times \text{insulin máu (\mu IU/mL)} / 405$$

+ HOMA- β (homeostatic model assessment of pancreatic β -cell function - chỉ số đánh giá cân bằng nội môi của chức năng tế bào β tụy tạng) [77]:

$$HOMA-\beta = 20 \times \text{insulin máu (\mu IU/mL)} / (\text{glucose máu (mMol/L)} - 3.5)$$

+ QUICKI (quantitative insulin sensitivity check index - chỉ số kiểm tra độ nhạy insulin định lượng) [54]:

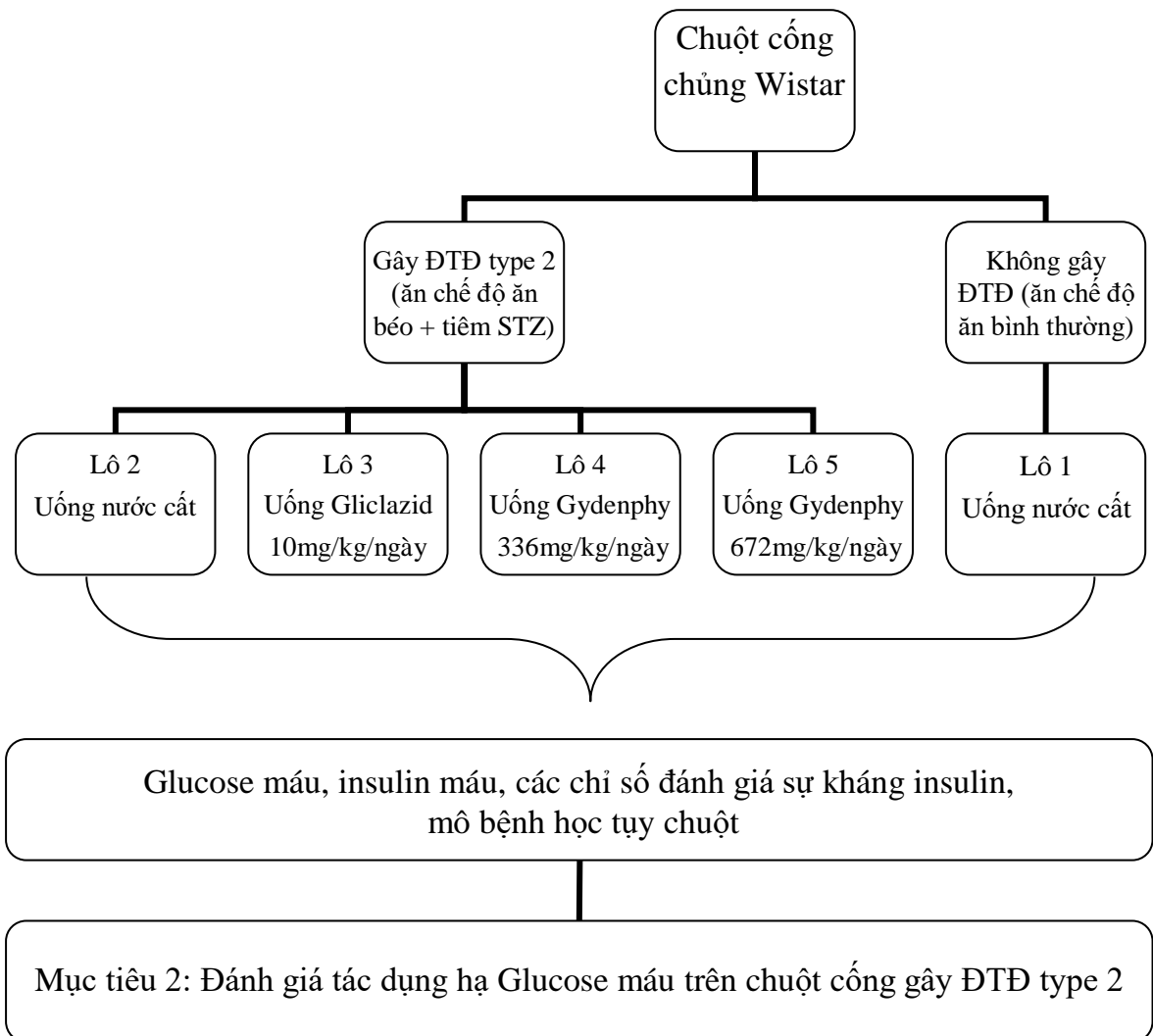
$$QUICKI = 1 / (\log \text{ glucose máu (mg/dL)} + \log \text{ insulin máu (\mu IU/mL)})$$

+ DI (insulin disposition index – chỉ số sắp xếp Insulin) [53]:

$$DI = HOMA-\beta / HOMA-IR$$

Sau khi lấy máu xét nghiệm Glucose và Insulin, mổ chuột, tách nhanh lấy tụy làm mô bệnh học. Đánh giá các thay đổi về cân nặng tuyến tụy (% so với cân nặng cơ thể). Tạng lấy ra được cố định ngay trong dung dịch formalin 10%. Tiến hành làm tiêu bản mô bệnh học nhuộm HE (hematoxylin & eosin) tụy của chuột. Đánh giá tổn thương mô bệnh học tụy của chuột. Tiêu bản mô bệnh học tụy của chuột được thực hiện và đọc kết quả tại khoa Giải phẫu bệnh pháp y - bệnh viện 103.

So sánh giữa các lô về nồng độ glucose máu, insulin máu và các chỉ số đánh giá sự kháng insulin để rút ra kết luận về tác dụng của thuốc thử.



Sơ đồ 2. 2. Quy trình đánh giá tác dụng hạ glucose máu trên chuột gây ĐTĐ type 2

2.2.3. Một số kỹ thuật thực hiện trên thực nghiệm

Cách pha Streptozotocin: Streptozotocin (STZ) dạng bột đông khô (Sigma, Hoa Kỳ) được bảo quản ở tủ -30°C , khi sử dụng sẽ được hòa tan trong buffer sodium citrat 0.1 M pH 4.5.

Vật liệu: Na-Citrat, axit citric, Streptozotocin, nước khử ion.

Các bước thực hiện:

- Hòa tan 14,71 g Na-Citrat trong 200 ml nước.
- Hòa tan 20,1 g axit citric trong 200 ml nước.
- Trộn 0,1 M Na-Citrat và 0,1 M axit Citric.
- Điều chỉnh pH đến 4,5 bằng axit Citric 0,1 M.
- Hòa tan streptozotocin trong dung dịch đệm Na-Citrate [49].

*** Kỹ thuật cho chuột uống cường bức**

- Cố định chuột bằng một tay.
- Tay còn lại dùng bơm tiêm có gắn kim đầu tù cho vào miệng chuột, bơm nước cất hoặc thuốc nghiên cứu vào thẳng dạ dày chuột theo liều đã xác định .



Hình 2. 5. Chuột uống thuốc bằng kim đầu tù

*** Kỹ thuật tiêm màng bụng chuột**

Giữ chuột đầu chúc xuống hai chân sau lên cao để nội tạng dốc xuống, sát trùng da bụng chuột bằng cồn 700 pha povidine, khi tiêm véo da bụng chuột để tránh tiêm vào nội tạng.

*** Kỹ thuật xét nghiệm glucose máu chuột**

Cố định chuột vào dụng cụ chuyên biệt, đuôi chuột được lau bằng nước ấm $30-40^{\circ}\text{C}$ để gây giãn mạch, sau đó lau khô và sát khuẩn bằng cồn 700. Dùng dao

phẫu thuật chích dọc theo đuôi chuột 2 mm, lấy giọt máu thứ hai thử bằng máy thử glucose máu OneTouch của hãng Johnson & Johnson. Sát trùng và cầm máu đuôi

2.3. Địa điểm nghiên cứu

Địa điểm: Bộ môn Dược lý – Học viện quân y.

Cơ quan đọc tiêu bản: Khoa Giải phẫu bệnh và Pháp y – Bệnh viện Quân Y 103 – Học viện Quân Y.

2.4. Thời gian nghiên cứu

Thời gian: nghiên cứu được tiến hành từ tháng 09/2020 đến tháng 03/2021.

2.5. Thiết kế nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu thực nghiệm có đối chứng so sánh trước – sau điều trị và so sánh với nhóm chứng.

2.6. Xử lý số liệu

Các số liệu được trình bày dưới dạng Mean \pm SD. Sử dụng test T – Student để so sánh sự khác nhau giữa hai giá trị trung bình, bằng phần mềm SPSS 20.0. Kết quả so sánh được coi là có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả đánh giá tác dụng của Gydenphy trên mô hình gây đái tháo đường type 1 ở chuột nhắt trắng bằng Streptozotocin (STZ)

3.1.1. Kết quả gây mô hình gây đái tháo đường type 1 ở chuột nhắt trắng

Bảng 3.1. Nồng độ Glucose máu chuột sau tiêm STZ (Mean \pm SD)

Thời điểm lấy máu	Nồng độ Glucose máu (mg/dL)				p
	Lô 1 (1)	Lô 2 (2)	Lô 3 (3)	Lô 4 (4)	
Trước tiêm STZ (a)	119,96 \pm 20,57	120,32 \pm 19,84	124,14 \pm 24,75	122,51 \pm 22,72	> 0,05
Sau tiêm 48h (b)	341,07 \pm 34,94	342,89 \pm 33,12	344,34 \pm 35,13	339,98 \pm 28,94	> 0,05
Sau tiêm 7 ngày (c)	401,31 \pm 77,53	399,67 \pm 88,09	406,22 \pm 79,90	400,04 \pm 84,63	> 0,05
p	$p_{b,c-a} < 0,01$	$p_{b,c-a} < 0,01$	$p_{b,c-a} < 0,01$	$p_{b,c-a} < 0,01$	-
	$p_{b-c} < 0,05$	$p_{b-c} < 0,05$	$p_{b-c} < 0,05$	$p_{b-c} < 0,05$	

Nhận xét:

- Tại thời điểm 48h sau tiêm STZ 150mg/kg, nồng độ Glucose máu chuột ở các lô dao động quanh 340 mg/dL, tăng cao so với trước khi tiêm STZ (dao động quanh 140 mg/dL), khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Nồng độ Glucose máu chuột các lô tiêm STZ sau đó tiếp tục tăng, tại thời điểm 7 ngày sau tiêm STZ nồng độ Glucose máu chuột lên ở mức quanh 400 mg/dL.

Với tiêu chí đánh giá chuột bị ĐTĐ mức glucose huyết ≥ 300 mg/dL, chuột ở các lô tiêm STZ tại thời điểm 48h sau tiêm đã được coi là ĐTĐ, và biểu hiện bệnh lý ĐTĐ của chuột ổn định và rõ rệt hơn tại thời điểm 7 ngày sau tiêm STZ.

3.1.2. Tác dụng hạ đường huyết của viên nang Gydenphy trên mô hình đái tháo đường type 1 ở chuột nhắt trắng.

Bảng 3. 2. Nồng độ Glucose máu chuột sau uống Gydenphy (Mean \pm SD)

Thời điểm lấy máu	Nồng độ Glucose máu (mg/dL)			
	Lô 1 (1) (Nước cất)	Lô 2 (2) (Insulin)	Lô 3 (3) (Gydenphy L1)	Lô 4 (4) (Gydenphy L2)
Tại 0h (a)	401,31 ± 77,53	399,67 ± 88,09	406,22 ± 79,90	400,04 ± 84,63
Sau 4h (b)	397,49 ± 79,44	177,63 ^Δ ± 29,67 (giảm 55,56 %)	314,13 ^{▲*} ± 35,13 (giảm 22,67 %)	308,49 ^{▲*} ± 28,94 (giảm 22,88 %)
Sau 8h (c)	393,48 ± 74,95	161,25 ^Δ ± 28,03 (giảm 59,65 %)	310,31 ^{▲*} ± 29,48 (giảm 23,61 %)	300,85 ^{▲*} ± 28,39 (giảm 24,80 %)
Sau 3 ngày (d)	391,12 ± 74,26	170,17 ^Δ ± 19,66 (giảm 57,42 %)	257,71 ^{Δ*} ± 28,39 (giảm 36,56 %)	248,98 ^{Δ*} ± 23,30 (giảm 37,76 %)
Sau 10 ngày (e)	389,12 ± 71,69	166,35 ^Δ ± 18,38 (giảm 58,38 %)	172,35 ^Δ ± 17,65 (giảm 57,57 %)	167,79 ^Δ ± 17,11 (giảm 58,05 %)
p	> 0,05	p _{b,c,d,e-a} < 0,01	p _{b,c-a} < 0,05; p _{d,e-a} < 0,01; p _{b,c-e} < 0,05;	

^Δ– p < 0,01 so với (1); [▲]– p < 0,05 so với (1); *– p < 0,05 so với (2)

Nhận xét:

- Các chuột ở lô 1 chỉ uống nước cất, sau 4h, 8h, 3 ngày và 10 ngày nồng độ glucose máu luôn ở mức cao, hầu như không thay đổi (p > 0,05).

- Nồng độ Glucose máu chuột ở lô 2 (tiêm Insulin) tại các thời điểm sau dùng thuốc giảm nhanh và mạnh (từ 55,56% đến 59,65%) so với trước dùng thuốc, với p < 0,01; đồng thời cũng giảm rõ khi so với ở lô 1 chỉ uống nước cất (p < 0,01).

- So với trước dùng thuốc, nồng độ Glucose máu ở các lô dùng Gydenphy (liều 1 và liều 2) tại thời điểm sau 4h giảm lần lượt là 22,67% và 22,88% (p < 0,05); tại thời điểm sau 8h giảm lần lượt là 23,61% và 24,08% (p < 0,05); tại thời điểm sau 3 ngày giảm lần lượt là 36,56% và 37,76% (p < 0,01); tại thời điểm sau 10 ngày giảm lần lượt là 57,57% và 58,05% (p < 0,01). So với ở lô 1 chỉ uống nước cất, nồng độ Glucose máu ở các lô dùng Gydenphy (liều 1 và liều 2) tại các thời điểm sau 4h và sau 8h giảm có ý nghĩa thống kê với p < 0,05; tại các thời điểm sau 3 ngày và sau 10 ngày giảm có ý nghĩa thống kê với p < 0,01. Nồng độ Glucose máu ở các lô dùng Gydenphy (liều 1 và liều 2) tại thời điểm sau 10 ngày dùng thuốc giảm nhiều nhất, giảm có ý nghĩa thống kê so với trong cùng lô tại các thời điểm sau 4h và sau 8h (p < 0,05), và tương đương so với ở lô dùng Insulin (p > 0,05).

3.2. Kết quả đánh giá tác dụng của Gydenphy trên mô hình gây đái tháo đường type 2 ở chuột cống trắng.

3.2.1. Ảnh hưởng của Gydenphy lên cân nặng, thức ăn và nước uống tiêu thụ của chuột.

Bảng 3. 3. Kết quả đánh giá cân nặng, thức ăn và nước uống, tiêu thụ của chuột ($n= 10$, Mean \pm SD)

Lô chuột nghiên cứu	Cân nặng chuột (g)		Thức ăn tiêu thụ (g/kg thể trọng)		Nước uống tiêu thụ (ml/kg thể trọng)	
	To	Tc	To	Tc	To	Tc
Lô 1 (1) (chứng)	223,52 \pm 15,08	253,85 \pm 12,46	68,12 \pm 8,92	94,21 \pm 8,48	77,43 \pm 9,25	96,28 \pm 10,42
Lô 2 (2) (mô hình)	231,25 \pm 21,12	221,92 ^Δ \pm 11,54	79,51 \pm 9,45	186,35 ^Δ \pm 21,52	82,93 \pm 8,54	218,62 ^Δ \pm 23,36
Lô 3 (3) (Gliclazid)	229,84 \pm 14,86	246,84* \pm 11,92	73,69 \pm 10,24	124,68* \pm 16,33	86,94 \pm 8,86	148,62* \pm 16,24
Lô 4 (4) (Gydenphy-1)	230,36 \pm 15,51	245,16* \pm 12,73	80,22 \pm 9,72	132,84* \pm 18,69	83,69 \pm 9,24	152,84* \pm 13,91
Lô 5 (5) (Gydenphy-2)	233,05 \pm 14,82	248,19* \pm 10,75	75,39 \pm 8,98	128,26* \pm 15,94	84,16 \pm 9,86	141,65* \pm 15,28

^Δ– p < 0,01 so với (1); *– p < 0,05 so với (2)

Nhận xét:

- Tại thời điểm To (ngay trước khi cho uống thuốc), cân nặng, lượng thức ăn tiêu thụ và lượng nước uống tiêu thụ của chuột ở các lô gây ĐTĐ đường như đều cao hơn so với lô chứng, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- Tại thời điểm Tc (1h sau uống thuốc lần cuối), lô mô hình có cân nặng giảm, tiêu thụ nước uống và thức ăn tăng so với lô chứng với $p < 0,01$. Các lô có dùng thuốc (lô 3, 4, 5) có cân nặng tăng, tiêu thụ nước uống và thức ăn giảm so với lô mô hình với $p < 0,05$.

3.2.2. Ảnh hưởng của Gydenphy lên nồng độ glucose và insulin máu chuột.

Bảng 3. 4. Kết quả đánh giá nồng độ glucose và insulin máu chuột ($n = 10$, Mean \pm SD)

Lô nghiên cứu	Glucose máu (mg/dL)			Insulin máu (μ IU/ml)		
	To	Tc	p_{c-o}	To	Tc	p_{c-o}
Lô 1 (1) (chúng)	93,52 \pm 11,28	95,85 \pm 12,06	$>0,05$	35,92 \pm 3,64	36,14 \pm 3,47	$>0,05$
Lô 2 (2) (mô hình)	253,62 Δ \pm 26,14	306,64 Δ \pm 31,73	$<0,05$	23,13 Δ \pm 2,55	18,32 Δ \pm 2,52	$<0,05$
Lô 3 (3) (Gliclazid)	249,98 Δ \pm 24,65	145,98* \blacktriangle \pm 16,65	$<0,05$	22,98 Δ \pm 2,49	28,95* \blacktriangle \pm 2,33	$<0,05$
Lô 4 (4) (Gydenphy-1)	251,73 Δ \pm 24,96	149,54* \blacktriangle \pm 15,82	$<0,05$	23,04 Δ \pm 2,51	27,34* \blacktriangle \pm 2,69	$<0,05$
Lô 5 (5) (Gydenphy-2)	250,85 Δ \pm 25,39	141,72* \blacktriangle \pm 14,96	$<0,05$	22,92 Δ \pm 2,46	29,26* \blacktriangle \pm 2,94	$<0,05$

Δ – $p < 0,01$ so với (1); \blacktriangle – $p < 0,05$ so với (1); * – $p < 0,05$ so với (2)

Nhận xét:

- Tại thời điểm To (ngay trước khi cho uống thuốc), ở các lô gây ĐTĐ (từ lô 2 đến lô 5) nồng độ glucose máu chuột đều cao hơn và nồng độ Insulin máu đều thấp hơn so với lô chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- Tại thời điểm Tc (1h sau uống thuốc lần cuối):

+ Nồng độ glucose máu ở lô mô hình cao hơn so với thời điểm To ($p < 0,05$), đồng thời cao hơn so với lô chứng ($p < 0,01$); nồng độ Insulin máu ở lô mô hình thấp hơn so với thời điểm To ($p < 0,05$), đồng thời thấp hơn so với lô chứng ($p < 0,01$).

+ Nồng độ glucose máu ở các lô dùng thuốc (lô 3, 4, 5) thấp hơn so với thời điểm To ($p < 0,05$), đồng thời thấp hơn so với lô mô hình ($p < 0,05$), tuy nhiên vẫn còn cao hơn so với lô chứng ($p < 0,05$); nồng độ Insulin máu ở các lô dùng thuốc (lô 3, 4, 5) cao hơn so với thời điểm To ($p < 0,05$), đồng thời cao hơn so với lô mô hình ($p < 0,05$), tuy nhiên vẫn còn thấp hơn so với lô chứng ($p < 0,05$).

- So sánh giữa các lô dùng thuốc (lô 3, 4, 5), nồng độ glucose máu và nồng độ insulin máu chuột ở các lô này không có sự khác biệt ($p > 0,05$).

3.2.3. Ảnh hưởng của viên nang Gydenphy lên chỉ số đánh giá nội môi của chức năng tế bào β tụy tạng.

3.2.3.1. Ảnh hưởng của Gydenphy lên chỉ số đánh giá cân bằng nội môi của sự kháng insulin.

Chỉ số đánh giá cân bằng nội môi của sự kháng insulin - homeostatic model assessment of insulin-resistance (HOMA-IR), được tính theo công thức:

$$\text{HOMA-IR} = \text{glucose máu (mg/dL)} \times \text{insulin máu (\mu IU/mL)} / 405$$

Kết quả về chỉ số đánh giá cân bằng nội môi của sự kháng insulin được trình bày ở bảng 3.5

Bảng 3. 5. Ảnh hưởng của chế phẩm lên chỉ số HOMA-IR (n = 10, Mean \pm SD)

Lô chuột nghiên cứu	HOMA-IR		
	To	Tc	p _{c-o}
Lô 1 (chứng) (1)	8,29 \pm 0,86	8,55 \pm 0,64	> 0,05
Lô 2 (mô hình) (2)	14,48 ^Δ \pm 1,35	13,86 ^Δ \pm 1,43	> 0,05
Lô 3 (Gliclazid) (3)	14,18 ^Δ \pm 1,42	10,43* [▲] \pm 0,98	< 0,05
Lô 4 (Gydenphy-1) (4)	14,32 ^Δ \pm 1,29	10,09* [▲] \pm 1,12	< 0,05
Lô 5 (Gydenphy-2) (5)	14,20 ^Δ \pm 1,51	10,24* [▲] \pm 1,04	< 0,05

^Δ-p < 0,01 so với (1); [▲]-p < 0,05 so với (1); *-p < 0,05 so với (2)

Nhận xét:

- Tại thời điểm To (trước dùng thuốc), các lô gây ĐTĐ (từ lô 2 đến lô 5) đều có chỉ số HOMA-IR cao hơn so với ở lô chứng (lô 1), khác biệt có ý nghĩa thống kê với p < 0,01.

- Tại thời điểm Tc (sau 28 ngày dùng thuốc), chỉ số HOMA-IR ở các lô dùng thuốc giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình (lô 2), với p < 0,05. Tuy nhiên chỉ số HOMA-IR ở các lô này còn cao hơn so với ở lô chứng (p < 0,05).

- So với tại thời điểm To (trước dùng thuốc), chỉ số HOMA-IR tại thời điểm Tc (sau dùng thuốc) ở các lô dùng thuốc thấp hơn có ý nghĩa thống kê với p < 0,05.

- So với giữa 3 lô dùng thuốc (lô 3, 4, 5), chỉ số HOMA-IR ở các lô này không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

3.2.3.2. Ảnh hưởng của viên nang Gydenphy lên chỉ số đánh giá nội môi của chức năng tế bào β tụy tạng.

Chỉ số đánh giá cân bằng nội môi của chức năng tế bào β tụy tạng - homeostatic model assessment of pancreatic β -cell function (HOMA- β), được tính theo công thức:

$$\text{HOMA-}\beta = 20 \times \text{insulin máu } (\mu\text{IU/mL}) / (\text{glucose máu (mMol/L)} - 3.5)$$

Kết quả về chỉ số đánh giá cân bằng nội môi của chức năng tế bào β tụy tạng được trình bày ở bảng 3.6.

Bảng 3.6. Ảnh hưởng của chế phẩm lên chỉ số HOMA- β (n = 10, Mean \pm SD)

Lô chuột nghiên cứu	HOMA- β		
	To	Tc	p _{c-o}
Lô 1 (chứng) (1)	423,70 \pm 45,81	396,05 \pm 40,75	> 0,05
Lô 2 (mô hình) (2)	43,68 ^Δ \pm 4,92	27,07 ^Δ \pm 2,64	< 0,05
Lô 3 (Gliclazid) (3)	44,24 ^Δ \pm 4,68	125,60 ^{**▲} \pm 13,36	< 0,01
Lô 4 (Gydenphy-1) (4)	43,95 ^Δ \pm 4,95	113,73 ^{**▲} \pm 12,45	< 0,01
Lô 5 (Gydenphy-2) (5)	43,92 ^Δ \pm 4,79	133,81 ^{**▲} \pm 15,12	< 0,01

^Δ-p < 0,01 so với (1); [▲]-p < 0,05 so với (1); ^{**}-p < 0,01 so với (2)

Nhận xét:

- Tại thời điểm To (trước dùng thuốc), các lô gây ĐTĐ (từ lô 2 đến lô 5) đều có chỉ số HOMA- β thấp hơn so với ở lô chứng (lô 1), khác biệt có ý nghĩa thống kê với p < 0,01.

- Tại thời điểm Tc (sau 28 ngày dùng thuốc), chỉ số HOMA- β ở các lô dùng thuốc tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình (lô 2), với p < 0,01. Tuy nhiên chỉ số HOMA- β ở các lô này còn cao hơn so với ở lô chứng (p < 0,05).

- Ở các lô dùng thuốc, so với tại thời điểm To (trước dùng thuốc), chỉ số HOMA- β tại thời điểm Tc (sau dùng thuốc) cao hơn có ý nghĩa thống kê với p < 0,01.

- So với giữa 3 lô dùng thuốc (lô 3, 4, 5), chỉ số HOMA- β ở các lô này không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

3.2.3.3. Ảnh hưởng của viên nang Gydenphy lên chỉ số đánh giá độ nhạy Insulin - quantitative insulin sensitivity check index (QUICKI).

Chỉ số đánh giá độ nhạy Insulin - quantitative insulin sensitivity check index (QUICKI), được tính theo công thức:

$$\text{QUICKI} = 1 / (\log \text{ glucose máu (mg/dL)} + \log \text{ insulin máu } (\mu\text{IU/mL}))$$

Kết quả về chỉ số đánh giá độ nhạy insulin được trình bày ở bảng 3.7.

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của chế phẩm lên chỉ số QUICKI (n = 10, Mean \pm SD).

Lô chuột nghiên cứu	QUICKI		
	To	Tc	p _{c-o}
Lô 1 (chúng) (1)	0,2839 \pm 0,0061	0,2825 \pm 0,0056	> 0,05
Lô 2 (mô hình) (2)	0,2653 [▲] \pm 0,0048	0,2667 [▲] \pm 0,0052	> 0,05
Lô 3 (Gliclazid) (3)	0,2661 [▲] \pm 0,0039	0,2756* \pm 0,0048	< 0,05
Lô 4 (Gydenphy-1) (4)	0,2657 [▲] \pm 0,0036	0,2769* \pm 0,0045	< 0,05
Lô 5 (Gydenphy-2) (5)	0,2659 [▲] \pm 0,0038	0,2764* \pm 0,0041	< 0,05

▲ – p < 0,05 so với (1); * – p < 0,05 so với (2)

Nhận xét:

- Tại thời điểm To (trước dùng thuốc), các lô gây ĐTĐ (từ lô 2 đến lô 5) đều có chỉ số QUICKI thấp hơn so với ở lô chúng (lô 1), khác biệt có ý nghĩa thống kê với p < 0,05.

- Tại thời điểm Tc (sau 28 ngày dùng thuốc), chỉ số QUICKI ở các lô dùng thuốc tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình (lô 2), với p < 0,05. Chỉ số QUICKI ở các lô này thấp hơn không có ý nghĩa thống kê so với ở lô chúng (p > 0,05).

- Ở các lô dùng thuốc, so với tại thời điểm To (trước dùng thuốc), chỉ số QUICKI tại thời điểm Tc (sau dùng thuốc) cao hơn có ý nghĩa thống kê với p < 0,05.

- So với giữa 3 lô dùng thuốc (lô 3, 4, 5), chỉ số QUICKI ở các lô này không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

3.2.3.4. Ảnh hưởng của viên nang Gydenphy lên chỉ số thải loại Insulin - insulin disposition index (DI).

Chỉ số thải loại Insulin - insulin disposition index (DI), được tính theo công thức:

$$DI = \text{HOMA-}\beta/\text{HOMA-IR}$$

Kết quả về chỉ số thải loại Insulin (DI) được trình bày ở bảng 3.8.

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của chế phẩm lên chỉ số DI (n = 10, Mean \pm SD).

Lô chuột nghiên cứu	Chỉ số thải loại Insulin (DI)		
	To	Tc	p _{c-o}
Lô 1 (chứng) (1)	51,06 \pm 5,05	46,35 \pm 5,04	> 0,05
Lô 2 (mô hình) (2)	3,04 ^Δ \pm 0,36	1,95 ^Δ \pm 0,18	< 0,05
Lô 3 (Gliclazid) (3)	3,10 ^Δ \pm 0,41	12,04 ^{**Δ} \pm 1,26	< 0,01
Lô 4 (Gydenphy-1) (4)	3,07 ^Δ \pm 0,39	11,27 ^{**Δ} \pm 1,15	< 0,01
Lô 5 (Gydenphy-2) (5)	3,09 ^Δ \pm 0,43	13,06 ^{**Δ} \pm 1,34	< 0,01

^Δ– p < 0,01 so với (1); ^{**}– p < 0,01 so với (2)

Nhận xét:

- Tại thời điểm To (trước dùng thuốc), các lô gây ĐTĐ (từ lô 2 đến lô 5) đều có chỉ số DI thấp hơn so với ở lô chứng (lô 1), khác biệt có ý nghĩa thống kê với p < 0,01.

- Tại thời điểm Tc (sau 28 ngày dùng thuốc), chỉ số DI ở các lô dùng thuốc tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình (lô 2), với p < 0,01. Tuy nhiên, chỉ số DI ở các lô này thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với ở lô chứng (p < 0,01).

- Ở các lô dùng thuốc, so với tại thời điểm To (trước dùng thuốc), chỉ số DI tại thời điểm Tc (sau dùng thuốc) cao hơn có ý nghĩa thống kê với p < 0,01.

- So với giữa 3 lô dùng thuốc (lô 3, 4, 5), chỉ số DI ở các lô này không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

3.2.4. Sự thay đổi phần trăm khối lượng tụy so với khối lượng cơ thể

Kết quả sự thay đổi phần trăm khối lượng tụy so với khối lượng cơ thể được trình bày ở bảng 3.9

Bảng 3.9. Phần trăm khối lượng tụy so với khối lượng cơ thể (n = 10, Mean \pm SD).

Lô nghiên cứu	Phần trăm khối lượng tụy so với khối lượng cơ thể (%)	% giảm so với (1)	% tăng so với (2)
Lô 1 (chứng) (1)	0,936 ± 0,062	-	-
Lô 2 (mô hình) (2)	0,518 ± 0,045	44,66 %	-
Lô 3 (Gliclazid) (3)	0,912 ± 0,068	2,56 %	76,06 %
Lô 4 (Gydenphy-1) (4)	0,896 ± 0,081	4,27 %	72,97 %
Lô 5 (Gydenphy-2) (5)	0,915 ± 0,089	2,24 %	76,64 %
Giá trị p	p ₂ < 0,01; p _{3,4,5-1} > 0,05; p _{4,5-3} > 0,05; p ₄₋₅ > 0,05	-	-

Nhận xét:

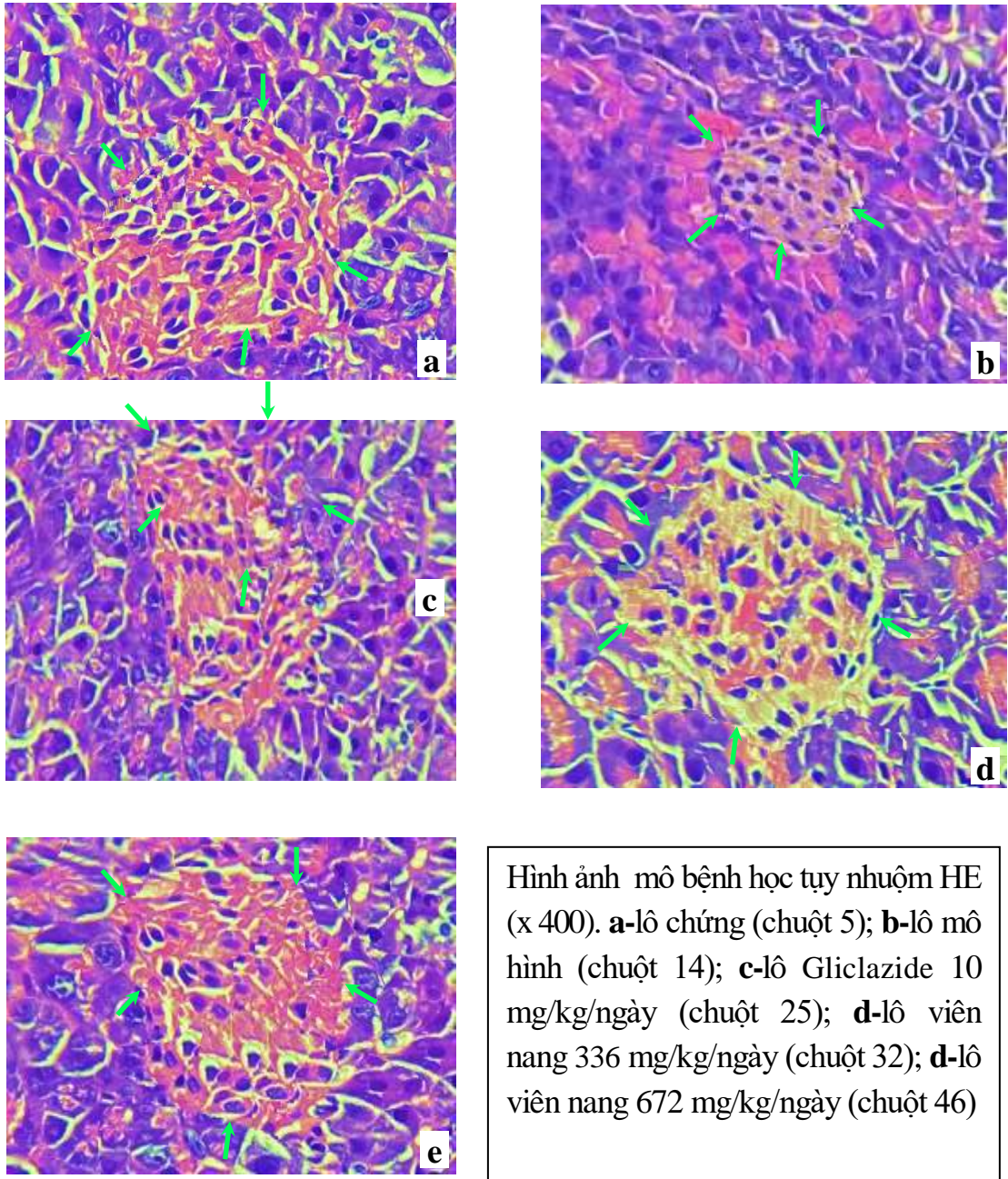
- So với lô chứng (lô 1), chuột ở lô mô hình (lô 2) có phần trăm khối lượng tụy so với khối lượng cơ thể thấp hơn 44,66 %, khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- So với lô mô hình (lô 2), chuột ở lô dùng Gliclazide 10 mg/kg/ngày (lô 3) và các lô dùng viên nang Gydenphy 336 mg/kg/ngày (lô 4), 672 mg/kg/ngày (lô 5) có phần trăm khối lượng tụy so với khối lượng cơ thể tăng tương ứng là 76,06 %; 72,97 % và 76,64 %, khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- So với lô chứng (lô 1), chuột ở lô dùng Gliclazide 10 mg/kg (lô 3) và các lô dùng viên nang Gydenphy 336 mg/kg/ngày (lô 4), 672 mg/kg/ngày (lô 5) có phần trăm khối lượng tụy so với khối lượng cơ thể thấp hơn tương ứng là 2,56 %; 4,27 % và 2,24 %, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh giữa các lô dùng thuốc (lô 3, lô 4, lô 5), chuột ở các lô này có phần trăm khối lượng tụy so với khối lượng cơ thể là tương đương ($p > 0,05$).

3.2.5. Hình ảnh mô bệnh học của tụy ở các lô chuột nghiên cứu



Nhận xét: Hình ảnh nhu mô tụy với các tiêu thụ được ngăn cách bởi vách xơ mảnh. Các tuyến ngoại tiết chứa nhiều chất tiết màu hồng. Tiểu đảo Langerhans (mũi tên chỉ trên hình) với các tế bào có bào tương sáng. Ở lô mô hình, tiểu đảo Langerhans của tụy có kích thước nhỏ hơn hẳn so với lô chứng cũng như so với các lô dùng thuốc. Ở các lô dùng thuốc, kích thước của tiểu đảo Langerhans được hồi phục về tương đương so với lô chứng.



CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN

4.1. Bàn luận về mô hình nghiên cứu

ĐTĐ type 1 có đặc điểm là sự phá hủy tự miễn dịch của tế bào β tuyến tụy, dẫn đến giảm sản xuất insulin. Ở các mô hình động vật, sự thiếu hụt insulin trong quá trình sản xuất có thể xảy ra bởi nhiều cơ chế khác nhau. Một số mô hình bệnh được sử dụng phổ biến như:

- Hóa chất gây hủy tế bào β của tuyến tụy, thường dùng là streptozocin và alloxan do cấu trúc của chúng tương tự glucose, gây thiếu hụt insulin, từ đó gây tăng glucose máu. Bệnh ĐTĐ do hóa chất gây ra thích hợp để sử dụng khi thử nghiệm các loại thuốc hoặc liệu pháp mà cơ chế hoạt động chính là hạ đường huyết theo cách không phụ thuộc vào tế bào β

- Phá hủy tế bào β tụy do quá trình tự miễn, bằng cách lai tạo các giống chuột có bệnh ĐTĐ type 1 là chuột ĐTĐ không béo phì (NOD) và chuột lai tạo (BB). Ngoài ra, một mô hình chuột tự miễn khác là chuột LEW.1AR1 / Ztm-idd.

- Chuột ĐTĐ phụ thuộc insulin do di truyền. Chuột AKITA được tạo ra ở Akita, Nhật Bản từ một con chuột C57BL/6NSlc với đột biến tự phát trong gen *insulin 2* ngăn cản quá trình xử lý chính xác pro-insulin.

- Mô hình gây ĐTĐ do virus gây ra. Các virus được sử dụng để gây ra ĐTĐ trên mô hình động vật bao gồm virus coxsackie B, virus viêm cơ tim và virus chuột Kilham. Ngoài ra, một mô hình virus chuyển gen trong đó một kháng nguyên virus xác định (nucleoprotein hoặc glycoprotein) của virus viêm màng não mô tế bào lympho (LCMV).

- Mô hình không sử dụng động vật gặm nhấm như lợn, chó và động vật linh trưởng.

Trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng mô hình ĐTĐ do hóa chất gây ra vì mô hình đơn giản, ĐTĐ do hóa chất gây ra thích hợp để sử dụng khi thử nghiệm các loại thuốc hoặc liệu pháp mà cơ chế hoạt động chính là hạ đường huyết theo cách không phụ thuộc vào tế bào β . ĐTĐ thường được gây ra khoảng 5–7 ngày trước khi

bắt đầu thử nghiệm để đảm bảo tình trạng tăng đường huyết ổn định [50]. Để gây ĐTD type 1, trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng streptozocin liều cao để gây phá hủy mạnh tế bào β của tụy tạng, từ đó gây thiếu hụt bền vững insulin, tương tự như cơ chế ĐTD type 1 ở người. STZ thúc đẩy sự phân hủy tế bào β , sau khi khởi phát ĐTD, rối loạn chức năng tế bào β được duy trì bởi tình trạng tăng đường huyết dai dẳng [78]. Liều STZ đơn gây ĐTD type 1 còn phụ thuộc vào chủng, giới dao động từ mức 100mg/kg-200mg/kg với một liều đơn duy nhất [56], [64]. Với chuột nhắt giống Swiss liều thích hợp để gây mức đường huyết $> 300\text{mg/dl}$, sau khi tiến hành dò liều chúng tôi nhận thấy liều STZ thích hợp gây ĐTD type 1 dao động quanh mức 150mg/kg. Dò liều từ 100mg/kg khởi đầu, sau đó tăng dần lên 10mg/kg cân nặng cho liều tiếp theo. Phù hợp với nghiên cứu năm 2016 của Badr Abdullah Aldahmash chuột được nhịn ăn trong 20 giờ trước khi gây ra ĐTD bằng cách tiêm STZ hòa tan trong dung dịch đệm citrate 0,1 M lạnh, pH 4,5 (luôn được chuẩn bị tươi để sử dụng ngay trong vòng 5 phút). STZ tiêm liều duy nhất (150 mg/kg) được tiêm trong màng bụng. Nồng độ đường huyết được đo sau 3 ngày tiêm STZ để xác định ĐTD. Các mẫu máu được thu thập từ đuôi, xác định glucose trong máu bằng phương pháp đo quang phổ glucose oxidase/ peroxidase (Braham và Tinder, 1972) [24]. Kết quả thực nghiệm của chúng tôi tiến hành gây ĐTD type 1 trên chuột nhắt trắng (bảng 3.1) cho thấy, trước khi tiêm STZ, nồng độ glucose máu chuột dao động quanh 120mg/dL. Sau khi tiêm STZ ngày nồng độ glucose máu chuột gây ĐTD type 1 tăng dần so với trước khi tiêm và cao hơn mức mong muốn là 300 mg/dl, thời điểm 48h glucose máu dao động quanh mức 340mg/dl và đặc biệt sau thời điểm tiêm 7 ngày nồng độ glucose máu chuột ổn định ở mức quanh 400mg/dl. Theo Brian L Furman [41], chuột nhắt trắng khi đường máu cao trên 180 mg/dL đã được xem là ĐTD mức độ nhẹ, và trên 300mg/dL được xem là ĐTD mức độ nặng. Với mô hình gây ĐTD bằng STZ liều cao gây huỷ hoại mạnh tế bào β đảo tụy, tạo ra tình trạng ĐTD mức độ nặng, cả về cơ chế và biểu hiện bệnh đều phù hợp với tình trạng ĐTD type 1 ở người. Mô hình gây ĐTD trên chuột nhắt trắng trong nghiên cứu này cho kết quả phù hợp với công bố của các tác giả khác [25], [41], và được xem là mô hình mô phỏng ĐTD type 1 trên động vật thực nghiệm.

ĐTĐ type 2 được đặc trưng bởi tình trạng kháng insulin và tế bào β không có khả năng bù đắp đủ. Do đó, mô hình động vật của ĐTĐ type 2 có xu hướng bao gồm mô hình kháng insulin và / hoặc mô hình suy tế bào β . Nhiều mô hình động vật của ĐTĐ type 2 bị béo phì, phản ánh tình trạng béo phì có liên quan chặt chẽ đến sự phát triển của ĐTĐ type 2. Một số mô hình được sử dụng phổ biến nhất cho ĐTĐ type 2:

- Mô hình béo phì đơn nguyên: Mặc dù béo phì ở người hiếm khi do đột biến đơn gen gây ra, nhưng các mô hình béo phì đơn gen thường được sử dụng trong nghiên cứu ĐTĐ type 2. Các mô hình béo phì đơn nguyên được sử dụng rộng rãi nhất bị khiếm khuyết trong việc truyền tín hiệu leptin. Leptin gây ra cảm giác no, và do đó, sự thiếu hụt leptin chức năng ở những động vật này gây ra chứng tăng não và béo phì sau đó.

- Mô hình béo phì đa nguyên: Có rất nhiều mô hình chuột đa gen khác nhau về bệnh béo phì, không dung nạp glucose và bệnh ĐTĐ, cho phép nghiên cứu nhiều kiểu gen và tính nhạy cảm khác nhau.

- Mô hình gây béo phì, cho chuột ăn nhiều chất béo dẫn đến béo phì, tăng insulin máu và thay đổi cân bằng nội môi. Chuột cống và chuột nhắt là những mô hình được sử dụng phổ biến nhất cho các nghiên cứu về ĐTĐ type 2. Tăng cân có liên quan đến tình trạng kháng insulin và thiếu sự bù đắp của tế bào β dẫn đến rối loạn dung nạp glucose. Vì béo phì là do tác động của môi trường chứ không phải do gen, nên nó được cho là mô hình hóa hoàn cảnh của con người chính xác hơn mô hình di truyền của ĐTĐ do béo phì. Mô hình động vật gặm nhấm sử dụng chế độ ăn uống khác bao gồm chuột nhảy sa mạc và chuột cỏ sông Nile.

- Mô hình không béo phì, không phải tất cả bệnh nhân ĐTĐ type 2 đều béo phì, các mô hình có sự thiếu hụt tế bào β , là nguyên nhân cuối cùng dẫn đến ĐTĐ type 2 ở người.

- Mô hình không sử dụng chuột. Động vật lớn hơn cũng đã được sử dụng trong nghiên cứu ĐTĐ type 2 như mèo giống với tình trạng của con người ở một số khía cạnh, bao gồm cả khía cạnh lâm sàng, sinh lý và bệnh lý. Ngoài ra, còn sử dụng các loài linh trưởng, lợn, chó [50].

Mô hình động vật là công cụ hữu ích để tìm ra cơ chế và liệu pháp dược lý cho ĐTĐ type 2. ĐTĐ type 2 ở người thường là hậu quả của đa hình gen kết hợp với các yếu tố môi trường, chẳng hạn như lượng năng lượng dư thừa và lối sống ít vận động. Một mô hình type 2 mới ngày càng trở nên phổ biến trong những năm gần đây và điều này được phát triển bằng chế độ ăn giàu chất béo (HFD) để gây ra kháng insulin, sau đó là tiêm streptozotocin (STZ) liều thấp để gây rối loạn chức năng nhẹ ở tế bào β mà không hoàn toàn ảnh hưởng đến sự bài tiết insulin [74],[75]. Mức STZ tương ứng để gây ra ĐTĐ type 2 ở chủng Wistar dao động ở mức 30mg/kg liều thấp kết hợp với chế độ ăn giàu chất béo [74] và liều cao 65mg/kg kết hợp với chế độ ăn giàu chất béo [25].

Nghiên cứu năm 2015 của Chao Qian đã gây mô hình ĐTĐ type 2 với HDF tổng giá trị kcal là 20KJ và STZ 30mg/kg đã gây thành công mô hình ĐTĐ type 2 trên chuột [27].

Theo nghiên cứu 2016 của Bayrasheva, liều thấp STZ duy nhất (40 mg/kg) gây ra bệnh thận ĐTĐ 2 ở 40% chuột ăn nhiều chất béo và sự kết hợp giữa liều cao STZ (65 mg / kg) gây ra bệnh thận ĐTĐ với tỉ lệ 70 % [25].

Nghiên cứu năm 2017 của Quan Thế Dân với mô hình chuột gây ĐTĐ type 2 gây biến chứng thận với chế độ ăn giàu chất béo 150 ngày và STZ liều 30mg/kg ở chuột cái và 20mg/kg trên chuột đực .

Theo nghiên cứu 2018 của David André Barrière và cộng sự trên giống chuột Wistar với chế độ ăn HDF với mô hình gây ĐTĐ liều thấp STZ là 25mg/kg [32]. ,

Kết quả gây mô hình chuột cống trắng ĐTĐ type 2 cho thấy, chuột gây ĐTĐ có cân nặng giảm hơn so với chuột ở lô chứng, lượng thức ăn và nước uống tiêu thụ nhiều hơn, Glucose máu tăng cao, insulin máu giảm, đều là những biểu hiện rõ rệt của tình trạng ĐTĐ type 2. Với chế độ ăn HDF thực hiện trong nghiên cứu này với hàm lượng cholesterol, dầu dừa, fructose, mỡ lợn, bột ngô, men bia, canxi cacbonat, trong đó có 30 % năng lượng từ chất béo, 70% năng lượng từ carbohydrate trong 4 tuần liên tiếp với liều STZ sau khi dò là 35mg/kg chúng tôi đã gây dựng mô hình ĐTĐ type 2 trên giống chuột cống trắng Wistar với tỷ lệ thành công là > 70%.

Tính ổn định của mô hình gây ĐTĐ type 2 với chế độ ăn HDF và STZ. Năm 2018 thử nghiệm tại đại học công nghệ Chiết Giang với 30 chuột Wistar gây ĐTĐ type 2 với HDF 8 tuần và liều STZ 25mg/kg - 35mg/kg cho thấy liều 35mg/kg là tối ưu để gây ĐTĐ type 2 cùng với sự ổn định của các thông số ở liều 25mg/kg các thông số với sự ổn định thấp hơn, các cấu trúc tuyến tụy và một vài chỉ số khác trở về bình thường với liều trên [75]. Trong nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy ở liều 35mg/kg mô hình mang tính ổn định đường huyết và các chỉ số đến khi sinh thiết chuột.

Sau khi nuôi với chế độ HDF trọng lượng của chuột tăng dần. Thời điểm T_0 (ngay trước khi cho uống thuốc), cân nặng, lượng thức ăn tiêu thụ và lượng nước uống tiêu thụ của chuột ở các lô gây ĐTĐ dường như đều cao hơn so với lô chứng (bảng 3.3), tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Mặc dù vậy, kết quả các chỉ số đánh giá sự kháng insulin (từ bảng 3.5-3.8) đều cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các lô gây ĐTĐ so với lô chứng. Như vậy, việc kết hợp giữa chế độ ăn và tiêm STZ đã gây được tình trạng kháng insulin ở chuột. Đồng thời tại thời điểm T_0 , glucose máu ở các lô gây ĐTĐ tăng cao (dao động quanh 250mg/dl) và nồng độ insulin máu giảm (dao động quanh 23 μ IU/mL). Đây là những biểu hiện rõ nét của tình trạng ĐTĐ type 2 với sự kết hợp của tình trạng kháng insulin và sự suy giảm chức năng tuyến tụy. Tại thời điểm T_c (1h sau uống thuốc lần cuối), lô mô hình có cân nặng giảm, tiêu thụ nước uống và thức ăn tăng so với lô chứng với $p < 0,01$ (bảng 3.3). Điều này cho thấy diễn biến của ĐTĐ type 2 trở nên rõ rệt tại thời điểm T_c .

4.2. Bàn luận về tác dụng hạ glucose máu của viên nang Gydenphy

Kết quả đánh giá tác dụng hạ glucose máu trên mô hình gây ĐTĐ type 1 cho thấy: Gydenphy liều 576 mg/kg/ngày và 1152 mg/kg/ngày đều thể hiện tác dụng làm giảm glucose máu ($p < 0,05$ so với lô chứng bệnh lý). Nồng độ Glucose máu ở các lô dùng Gydenphy (liều 1 và liều 2) tại thời điểm sau 10 ngày dùng thuốc giảm nhiều nhất, giảm có ý nghĩa thống kê so với trong cùng lô tại các thời điểm sau 4h và sau 8h ($p < 0,05$), và tương đương so với ở lô dùng Insulin ($p > 0,05$) (bảng 3.2).

Kết quả đánh giá tác dụng hạ glucose máu của viên nang Gydenphy trên mô hình ĐTĐ type 2 cho thấy: Các lô có dùng thuốc có cân nặng tăng, tiêu thụ nước uống và thức ăn giảm so với lô mô hình với $p < 0,05$ (bảng 3.3); Nồng độ glucose máu giảm, nồng độ insulin tăng (bảng 3.4), các chỉ số đánh giá sự kháng insulin (bảng 3.5-3.8) cải thiện rõ so với lô mô hình. So sánh giữa các lô dùng thuốc, các tác dụng trên không có sự khác biệt giữa các lô. Như vậy Gydenphy mức liều 336mg/kg/ngày đã thể hiện rõ tác dụng điều trị ĐTĐ type 2 trên động vật thực nghiệm, tương đương so với mức liều 672mg/kg/ngày và tương đương so với thuốc tham chiếu Gliclazide 10mg/kg/ngày. Kết quả đánh giá về sự thay đổi cân nặng và mô bệnh học tuyến tụy cho thấy viên nang Gydenphy ở hai mức liều sử dụng có tác dụng làm hồi phục tổn thương của tế bào β đảo tụy tương đương với Gliclazide 10mg/kg/ngày.

Như vậy, viên nang Gydenphy đã thể hiện tác dụng hạ glucose máu trên mô hình gây ĐTĐ type 1 và type 2 trên động vật thực nghiệm. Tác dụng của viên nang Gydenphy là phù hợp với các công bố về tác dụng của các dược liệu thành phần. Tác dụng hạ glucose máu của viên nang Gydenphy thể hiện một cách rõ rệt và có tác dụng đối với cả type 1 và type 2, có thể do sự hiệp đồng tác dụng của các dược liệu thành phần Giảo cổ lam, Thạch học tía và Me rừng.

Theo quan điểm YHCT các vị thuốc dùng trong bài thuốc hạ đường huyết (điều trị chứng Tiêu khát) có các tác dụng: Bổ khí, bổ âm, sinh tân dịch, hoạt huyết, thanh nhiệt. Giảo cổ lam với tác dụng bổ khí, hoạt huyết; Thạch học tía có tác dụng bổ âm, sinh tân, chỉ khát; và Me rừng có tác dụng chỉ khát, sinh tân, thanh nhiệt. Sự kết hợp của ba loại dược liệu này tạo nên tác dụng tương đối đầy đủ, để hỗ trợ cho nhau trong điều trị chứng Tiêu khát theo YHCT.

Theo Dược lý hiện đại đã có nhiều nghiên cứu chỉ ra các thành phần hoạt chất cũng như tác dụng hạ glucose máu của Giảo cổ lam, Thạch học tía, Me rừng.

Gynostemma pentaphyllum

Trần Mạnh Hùng (2009) đã chỉ ra Chiết xuất ethanol của Giảo cổ lam, sản xuất tại Việt Nam, ức chế hoạt động của protein tyrosine phosphatase 1B, có thể dẫn đến tăng cường độ nhạy insulin và do đó cải thiện khả năng dung nạp glucose [70].

Nghiên cứu (2010) ảnh hưởng của chiết xuất *Gynostemma pentaphyllum* (GP) trên sản lượng glucose ở gan (HGO) ở chuột của Vũ Thị Thanh Huyền. Điều trị trong ba tuần làm giảm hàm lượng glycogen ở gan, nhưng không làm giảm hoạt động của glycogen synthase so với nhóm giả dược ($p < 0,007$). Chiết xuất *Gynostemma pentaphyllum* có tác dụng chống ĐTĐ ở chuột Goto-Kakizaki giảm nồng độ glucose huyết tương và sản lượng glucose ở gan, cho thấy rằng GP cải thiện độ nhạy insulin của gan bằng cách ức chế tạo gluconeogenesis [73]

Nghiên cứu năm 2011 về ảnh hưởng của *Gynostemma pentaphyllum* polysaccharide trên glucose máu và lipid máu trên chuột ĐTĐ type 2. Sau khi dùng *Gynostemma pentaphyllum* polysaccharide, đường huyết lúc đói và đường cong dung nạp glucose đã giảm. Ngoài ra, polysaccharide có thể làm giảm nồng độ TC, TG, LDL và malondialdehyde trong huyết thanh ở chuột ĐTĐ type 2, đồng thời tăng hoạt động Insulin, HDL và superoxide dismutase trong huyết thanh ở chuột mô hình. *Gynostemma pentaphyllum* polysaccharide có tác dụng hạ đường huyết và hạ natri máu rõ ràng trên chuột mắc bệnh ĐTĐ thực nghiệm, và tác dụng của nó liên quan đến việc tăng mức Insulin và tăng cường khả năng chống oxy hóa [85].

Nghiên cứu của Vũ Thị Thanh Huyền (2013) trà Giảo cổ lam có tác dụng chống ĐTĐ bằng cách tăng cường độ nhạy insulin. Ảnh hưởng của trà đối với độ nhạy insulin có thể được giải thích bằng cách ức chế hoạt động của PTP-1B bởi các hợp chất dammarane trong trà. PTP-1B hiện diện trong gan và cơ xương và đã được chứng minh là tác động tiêu cực đối với chuyển hóa glucose ở gan thông qua quá trình dephosphoryl hóa tyrosine của thụ thể insulin và / hoặc chất nền của thụ thể insulin [43]

Năm 2015 nghiên cứu đánh giá tác dụng chống ĐTĐ của *Gynostemma pentaphyllum* (GP). Điều trị bằng đường uống GP (0,3 g / kg thể trọng) hàng ngày trong hai tuần đã cải thiện khả năng dung nạp glucose, nồng độ insulin trong huyết tương tăng ở nhóm được điều trị bằng GP, kích thích sự giải phóng insulin từ chuột được điều trị. *Gynostemma pentaphyllum* kích thích giải phóng insulin ở đảo tụy khi nồng độ đường cao. Mở kênh kali (K-ATP) nhạy cảm với ATP bằng diazoxide và ức chế kênh canxi bằng nifedipine làm giảm phản ứng của insulin với *Gynostemma*

pentaphyllum. Hơn nữa, chất ức chế protein kinase A (PKA) H89 làm giảm phản ứng của insulin với GP ($P < 0,05$). Tác dụng chống ĐTĐ của *Gynostemma pentaphyllum* có liên quan đến sự kích thích giải phóng insulin từ các đảo tụy. Sự giải phóng insulin do GP một phần qua trung gian K-ATP và kênh Ca^{2+} loại L, hệ thống protein kinase A và cũng phụ thuộc vào G_e -protein nhạy cảm với độc tố ho gà [35].

Năm 2016, Nghiên cứu ảnh hưởng của gypenoside đối với chuyển hóa axit béo tự do ở chuột mắc bệnh ĐTĐ type 2, khám phá các cơ chế liên quan của gypenoside trong việc cải thiện tình trạng kháng insulin ở chuột mắc bệnh ĐTĐ type 2. Liều cao, trung bình và thấp của tổng số gypenoside có thể nâng cao mức insulin ở chuột mắc bệnh ĐTĐ, tăng cường độ nhạy cảm với insulin và giảm chỉ số đề kháng. *Gynostemma pentaphyllum* saponin có thể làm giảm nồng độ axit béo tự do ở chuột mắc bệnh ĐTĐ bằng cách tăng biểu hiện của PPAR- α mRNA, do đó tăng cường độ nhạy insulin và giảm đề kháng insulin [83].

Năm 2018, saponin và dịch thủy phân được phân lập từ *Gynostemma pentaphyllum* đã được nghiên cứu về mặt hóa thực vật. Phân đoạn bằng các phương pháp sắc ký đa dạng, dẫn đến việc phân lập và tinh chế 12 triterpen, bao gồm năm loại chưa được mô tả và bảy loại đã biết. Hai trong số tất cả các hợp chất được phân lập 2-deoxy-2 - [(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-yl) amino] -D-glucose (2-NBDG) và Chất vận chuyển Glucose 4 (GLUT4) chuyển vị thông qua kích hoạt đường truyền tín hiệu kinase protein hoạt hóa AMP (AMPK) và acetyl-CoA carboxylase (ACC). Nghiên cứu này đã tìm ra hướng đi cho sự phát triển của các thuốc chống ĐTĐ [46].

Trong năm 2018, Polysaccharide (GPP) chiết xuất từ GP. Thành phần monosaccharide là rhamnose, arabinose, galactose, glucose, xylose, mannose, axit galacturonic và axit glucuronic theo tỷ lệ mol 4,11: 7,34: 13,31: 20,99: 1,07: 0,91: 4,75: 0,36. Đường huyết lúc đói của chuột mắc ĐTĐ giảm từ 17,56 mmol / L xuống 7,42 mmol / L bằng uống 0,5 mL Polysaccharide (1 mg / mL) trong 30 ngày. Polysaccharide thể hiện tác dụng ức chế phụ thuộc vào liều lượng đối với hoạt động của α -glucosidase. Hơn nữa, có thể ức chế sự hấp thụ glucose và ảnh hưởng

đến sự biểu hiện protein của GLUT2, nhưng không ảnh hưởng đến sự biểu hiện protein của SGLT1. Những kết quả này cho thấy GPP có thể được sử dụng như một thành phần hữu hiệu để ngăn ngừa và chữa ĐTĐ [82].

Nghiên cứu năm 2019 về *Gynostemma pentaphyllum* được ghi nhận là có tác dụng trị ĐTĐ, bằng cách kích thích tiết insulin. 27 saponin loại dammarane, trong đó có hai hợp chất mới, đã được phân lập và cấu trúc của chúng được làm sáng tỏ bằng phương pháp khối phổ và phổ cộng hưởng từ. Một trong những triterpenoid loại dammarane cho thấy hoạt động bài tiết insulin phụ thuộc vào glucose. Hợp chất gylongiposide I, thể hiện khả năng kích thích giải phóng insulin ở nồng độ glucose cao (16,7 mM), nhưng tác dụng hạn chế ở nồng độ glucose thấp (3,3 mM) [52].

Năm 2020, Chiết xuất từ nước lá *Gynostemma pentaphyllum* có thể làm giảm lượng glucose trong máu ở chuột mắc bệnh ĐTĐ do STZ gây ra, và cơ chế hoạt động của nó có thể liên quan đến việc tăng biểu hiện của màng cơ xương với protein GLUT-4 và ức chế tình trạng viêm cơ xương [86]

***Dendrobium officinale* Kimura et Migo (DO)**

Nghiên cứu ảnh hưởng của Thạch斛 lên quá trình apoptosis của tế bào đảo tụy và các gen liên quan biểu hiện Bax và Bcl-2 mRNA ở chuột mắc bệnh ĐTĐ được mô hình hóa với hàm lượng glucose cao và chất béo cao + STZ. Sau 2 tuần điều trị với Thạch斛 (7,5, 15,0, 30,0 g.kg⁻¹), quá trình chết và chết của tế bào đảo được ghi nhận. Thạch斛 có thể làm giảm lượng đường trong máu và giảm quá trình apoptosis của các tế bào đảo tụy của chuột, điều này có thể liên quan đến việc giảm Bax và tăng biểu hiện Bcl-2 trong mô tụy của chuột mắc bệnh ĐTĐ [84]

Yantao Li (2016) đã chiết xuất nước của *Dendrobium officinale* về phòng ngừa bệnh ĐTĐ ở chuột sau khi tiếp xúc với STZ bằng cách sử dụng các chất chuyển hóa dựa trên cộng hưởng từ. Nghiên cứu nhận thấy sự giảm lượng glucose trong máu và sự gia tăng glycogen gan ở những con chuột được dự phòng bằng *D. Officinale* làm tăng citrate và glutamine trong huyết thanh cũng như creatine, alanine, leucine, isoleucine, valine, glutamine, glutathione và taurine trong gan của những con chuột được điều trị bằng STZ. Hơn nữa, glucose huyết thanh có tương quan nghịch với citrate, pyruvate, alanin, isoleucine, histidine và glutamine trong huyết thanh cũng

như alanin và taurine trong gan. Những ghi nhận này cho thấy tác dụng của *D. Officinale* trong việc ngăn ngừa bệnh ĐTĐ liên quan đến sự gia tăng glycogen và taurine ở gan cũng như việc điều chỉnh năng lượng và chuyển hóa axit amin [79].

Hou ZH (2016) đã tìm ra tác dụng bảo vệ của *Dendrobium officinale* Kimura et Migo (DO) đối với các biến chứng ban đầu của chuột ĐTĐ do STZ gây ra. Điều trị bằng Thạch học làm giảm nồng độ TC, TG, BUN và CREA trong huyết thanh, làm tăng rõ rệt biên độ của ERG a- và b-wave và Ops, đồng thời làm giảm tình trạng hạ kali và thay đổi mô bệnh học của các cơ quan quan trọng do tăng đường huyết. Tác dụng bảo vệ của Thạch học ở chuột mắc bệnh ĐTĐ có thể liên quan đến hoạt động chống oxy hóa của nó, bằng chứng là mức độ glutathione peroxidase trong huyết thanh tăng rõ rệt. Tuy nhiên, Thạch học không có ảnh hưởng đến mức đường huyết và trọng lượng cơ thể của chuột mắc bệnh ĐTĐ. Bổ sung Thạch học là một phương pháp điều trị hiệu quả để ngăn ngừa các biến chứng ĐTĐ do STZ gây ra [66]

***Phyllanthus emblica* (Pe)**

Nghiên cứu *in vitro* được thực hiện để đánh giá hoạt động nhạy cảm Insulin của *Phyllanthus emblica* (Pe) bằng cách đánh giá hoạt động hấp thu glucose trong mô hình tế bào mỡ 3T3L1. Các tế bào nguyên bào sợi 3T3 L1 được biệt hóa thành tế bào mỡ, sử dụng hỗn hợp insulin, isobutyl-1-methylxanthine và dexamethazone. Ban đầu, những tế bào mỡ này được xử lý với các nồng độ khác nhau, sau đó sự hấp thụ 2-deoxy glucose được ước tính bằng một xét nghiệm phóng xạ. Tác động của thực vật đối với sự hấp thu glucose cả khi có và không có insulin đã được đánh giá và so sánh với pioglitazone, một chất gây nhạy cảm insulin đã biết.

Me rùng kích thích sự hấp thu glucose trong tế bào mỡ 3T3-L1 theo cách phụ thuộc vào liều lượng với hiệu quả tối đa ở nồng độ cao hơn (200µg / ml). Tác dụng của cả me rùng ở 200µg / ml tương đương với insulin và lớn hơn pioglitazone. Kết quả cho thấy một trong những cơ chế tạo ra tác dụng chống ĐTĐ của me rùng có thể là thông qua hiệu ứng nhạy cảm với insulin (kích thích hấp thu glucose vào tế bào mỡ) [48]

Một loạt tannin trong túi mật có hoạt tính ức chế tốt α -glucosidase đã được phân lập và xác định từ quả me rừng, Corilagin là một trong những thành phần có hoạt tính chính, thí nghiệm ức chế α -glucose từ Corilagin. Mô hình phản ứng α -glucosidase-PNPG đĩa vi mô 96 giếng trong ống nghiệm được sử dụng để xác định hoạt tính ức chế của Corilagin trên α -glucosidase và thử nghiệm động học ức chế đã được thực hiện. Phương pháp nổi không tuyến tính được sử dụng để phân tích ảnh hưởng của nó đối với α -glucose. Các thông số động học ức chế của glucosidase và mô hình gắn kết phân tử được sử dụng để nghiên cứu cơ chế tương tác của corilagin và α -glucosidase.

Tác dụng ức chế của corilagin đối với α -glucosidase là một loại ức chế hỗn hợp; liên kết hydro là lực chính của liên kết lẫn nhau giữa corilagin và α -glucosidase [88].

Nghiên cứu tác dụng của chiết xuất còn hydro (HE) của quả *Me rừng* trên chuột mắc bệnh ĐTĐ type 1. Bệnh ĐTĐ được gây ra bởi STZ (45 mg / kg iv). HE (100 mg / kg, po) được dùng trong 4 tuần và khi kết thúc điều trị, các mẫu máu được thu thập và phân tích các thông số sinh hóa khác nhau. STZ tạo ra một trạng thái ĐTĐ với tất cả các triệu chứng cơ bản như giảm trọng lượng cơ thể, đa phân, đa niệu, glucose niệu, đa não, giảm natri huyết và tăng đường huyết liên quan đến tăng cholesterol và tăng triglycerid máu.

Điều trị bằng chiết xuất còn hydro đã ngăn ngừa các triệu chứng cơ bản và làm giảm lượng đường huyết lúc đói, điều trị cũng làm giảm quá trình peroxy hóa lipid và tăng các thông số chống oxy hóa trong gan của chuột mắc bệnh ĐTĐ. Phần dịch chiết được làm giàu polyphenol đã cải thiện sự chuyển hóa carbohydrate và lipid bị rối loạn của bệnh ĐTĐ do hóa chất gây ra ở chuột. Cơ chế hoạt động chống ĐTĐ của nó dường như là cải thiện việc sử dụng glucose ở ngoại vi, tăng độ nhạy insulin hoặc đặc tính chống oxy hóa [68].

KẾT LUẬN

1. Tác dụng của viên nang Gydenphy trên chuột nhắt trắng gây Đái tháo đường type 1.

Viên nang Gydenphy liều 576mg/kg/ngày và liều 1152 mg/kg/ngày cho chuột uống trong 10 ngày có tác dụng làm giảm glucose máu trên chuột nhắt trắng chủng Swiss gây ĐTĐ type 1 bằng Streptozocin liều cao 150mg/kg tiêm phúc mạc ($p < 0,01$ so với lô mô hình)

2. Tác dụng của viên nang Gydenphy trên chuột cống trắng gây Đái tháo đường type 2.

Viên nang Gydenphy liều 336mg/kg/ngày và liều 672 mg/kg/ngày có tác dụng cải thiện tình trạng ĐTĐ trên chuột cống trắng chủng Wistar gây ĐTĐ type 2 bằng chế độ ăn giàu chất béo trong 4 tuần và năng lượng kết hợp Streptozocin liều thấp 35mg/kg tiêm phúc mạc, cụ thể:

- Làm giảm glucose máu, tăng insulin máu, có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,01$.

- Cải thiện các triệu chứng của ĐTĐ: hạn chế sự gầy sút cân, giảm lượng thức ăn và nước uống tiêu thụ ($p < 0,05$ so với lô mô hình).

- Cải thiện các chỉ số đánh giá độ nhạy cảm insulin với ngoại vi, gồm:

- + Làm giảm chỉ số cân bằng nội môi của sự kháng insulin (homeostatic model assessment of insulin-resistance - HOMA-IR), ($p < 0,05$ so với lô mô hình).

- + Tăng chỉ số cân bằng nội môi của chức năng tế bào β tụy tạng (homeostatic model assessment of pancreatic β -cell function - HOMA- β), ($p < 0,05$ so với lô mô hình).

- + Tăng chỉ số kiểm tra độ nhạy insulin định lượng (quantitative insulin sensitivity check index - QUICKI), ($p < 0,05$ so với lô mô hình).

- + Tăng chỉ số sắp xếp Insulin (insulin disposition index – DI), ($p < 0,05$ so với lô mô hình).

- Hồi phục kích thước của tiểu đảo Langerhans trên hình ảnh mô bệnh học nhuộm HE tuyến tụy về tương đương so với lô chứng.

Các tác dụng này của viên nang Gydenphy (liều 336mg/kg/ngày và liều 672 mg/kg/ngày) là tương đương nhau và tương đương so với Gliclazide 10mg/kg/ngày.

KHUYẾN NGHỊ

- Tiếp tục nghiên cứu sâu hơn về tác dụng và cơ chế tác dụng của viên nang Gydenphy trên thực nghiệm.
- Đánh giá tính an toàn và tác dụng của viên nang Gydenphy trên lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. **Nguyễn Thị Bay** (2007), "Bệnh học và điều trị Nội khoa (kết hợp Đông - Tây y)", *Nhà xuất bản Y học*, p. 327-366.
2. **Dương Thị Mộng Ngọc, Nguyễn Thị Ngọc Đan, Phạm Thị Nguyệt Hằng và cộng sự** (2015), "Khảo sát độc tính cấp và tác dụng hạ glucose huyết thực nghiệm của cao hỗn hợp mắc cỡ, râu mèo và mướp đắng", *Tạp chí Y học thành phố Hồ Chí Minh*. 19(5), p. 91-95.
3. **Trần Hoàng và Nguyễn Thị Bay** (2014), "Nghiên cứu tác dụng hạ đường huyết của hạt móc mèo trên thực nghiệm", *Tạp chí Y học thành phố Hồ Chí Minh*. 18(1), p. 69-74.
4. **Nguyễn Quỳnh Hương, Hứa Hoàng Oanh** (2010), "Khảo sát tác dụng hạ glucose huyết của hai dạng bào chế trà thuốc và viên nang khô qua - đa búp đỏ trên chuột nhắt trắng", *Tạp chí Y học thành phố Hồ Chí Minh*. 14(2), p. 174-183.
5. **Kiều Xuân Thy, Bùi Phạm Minh Mẫn, Nguyễn Văn Đàn và cộng sự** (2019), "Tác động lên trọng lượng và đường huyết của chuột bị Đái tháo đường của cao nước lá mật gấu thu thập tại tỉnh Sóc Trăng", *Tạp chí Y học thành phố Hồ Chí Minh*. 23(4), p. 185-191.
6. **Đỗ Tất Lợi** (2004), "Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam", *Nhà xuất bản Y học*, p. 638-640, 695-696.
7. **Huỳnh Thi Thuy Kieu, Nguyen Thi Hai Thanh** (2012), "Tác dụng hạ đường huyết của các phân đoạn dịch chiết từ nấm linh chi *Ganoderma Lucidum* trồng trên rong giấy đối với chuột nhắt gây Đái tháo đường bằng Streptozotocin", *Tạp chí khoa học Công nghệ - thủy sản*. 2, p. 48-52.
8. **Đỗ Mộng Quỳnh, Nguyễn Trần Châu Đỗ Mai Anh** (2012), "Khảo sát tác dụng hạ đường huyết của vỏ thân vùng quả xoan (*Careya Arborea* Roxb. *Lecythidaceae*)", *Tạp chí Y học thành phố Hồ Chí Minh*. 16(1), p. 175-179.

9. **Đại học Y Hà Nội** (2006), "Bệnh học nội khoa Y học cổ truyền", *Nhà xuất bản Y học*, p. 431-436.
10. **Đại học Y Hà Nội** (2012), "Bệnh học nội khoa - Tập 2", *Nhà xuất bản Y học*, p. 322-342.
11. **Hưá Hoàng Oanh** (2012), "Khảo sát tương tác thuốc giữa nhân sâm và metformin trên chuột nhắt trắng gây tăng glucose huyết bằng alloxan", *Tạp chí Y học thành phố Hồ Chí Minh*. 16(1), p. 180-185.
12. **Bộ Y tế** (2009), "Lão khoa Y học cổ truyền", *Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam*, p. 117-145.
13. **Bộ Y tế** (2014), "Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh Nội tiết - Chuyên hóa", (*Ban hành kèm theo Quyết định số 3879/QĐ-BYT ngày 30 tháng 09 năm 2014 của Bộ trưởng Bộ Y tế*), p. 174-187.
14. **Bộ Y tế** (2017), "Dược điển Việt Nam V - Tập 2", *Nhà xuất bản Y học*, p. 1178, 1330.
15. **Bộ Y tế** (2017), "Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị Đái tháo đường type 2", (*Ban hành kèm theo Quyết định số 3319/QĐ-BYT ngày 19/7/2017 của Bộ trưởng Bộ Y tế*).
16. **Bộ Y tế** (2018), "Hướng dẫn quốc gia dự phòng và kiểm soát Đái tháo đường thai kỳ (Ban hành kèm theo Quyết định số 6173 /QĐ-BYT ngày 12 /10/2018 của Bộ trưởng Bộ Y tế)", p. 1-6.
17. **Nguyễn Bá Tĩnh** (2004), "Tuệ Tĩnh toàn tập", *Nhà xuất bản Y học*. 5, p. 9-10.

Tiếng Anh

18. **Ake Norberg, Nguyen Khanh Hoa and Edvard Liepinsh** (2004), "A novel insulin-releasing substance, phanoside, from the plant *Gynostemma pentaphyllum*", *The Journal of biological chemistry* p. 41361-41367.
19. **Greg Tesch and Terri J Allen** (2007), "Methods in Renal Research Rodent models of streptozotocin-induced diabetic nephropathy", *Neuphrology*. 12, p. 261-266.

20. **American diabetes association** (2019), "Standards of Medical Care in Diabetes - 2020 Abridged for Primary Care Providers", *Clinical Diabetes* 2020. 38(1), p. 10-38.

21. **American diabetes association** (2020), "Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus", *Diabetes Care*. supp, p. 62-69.

22. **American diabetes association** (2020), "Standards of Medical Care in Diabetes", *Diabetes Care* 2020. 43(10.2337), p. S1-S2, S97-S98.

23. **Davidson M. B.** (2015), "Insulin Therapy: A Personal Approach", *The American Diabetes Association*. 33(3), p. 123-135.

24. **Doaa Mohamed El-Nagar, Badr Abdullah Aldahmash, and Khalid Elfakki Ibrahim** (2016), "Attenuation of hepatotoxicity and oxidative stress in diabetes STZ-induced type 1 by biotin in Swiss albino mice", *Saudi journal of biological sciences*. 23, p. 311-317.

25. **Valentina K Bayrasheva** (2016), "Uninephrectomized High-Fat-Fed Nicotinamide-Streptozotocin-Induced Diabetic Rats: A Model for the Investigation of Diabetic Nephropathy in Type 2 Diabetes", *Journal of diabetes research* 2016, p. 8317850.

26. **Lalita Subedi Bhakta Prasad Gaire** (2014), "Phytochemistry, pharmacology and medicinal properties of *Phyllanthus emblica* Linn", *Chinese journal of integrative medicine*. 2014, p. 10.1007.

27. **Chao Qian, Chenyuan Zhu, Weiqiang Yu et al** (2015), "High-Fat Diet/Low-Dose Streptozotocin-Induced Type 2 Diabetes in Rats Impacts Osteogenesis and Wnt Signaling in Bone Marrow Stromal Cells", *Plos one*. 10.1371.

28. **Zhenshan Xie, Chunhua Zhou** (2018), "Simultaneous identification and determination of flavonoids in *Dendrobium officinale*", *Chemistry central journal*. 40.

29. **Canadian Diabetes Association Clinical Practice Guidelines Expert Committee** (2013), "Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes,

Prediabetes and Metabolic Syndrome", *Canadian Journal of Diabetes*. 37, p. S8-S11.

30. **Rebecca B Costello** (2016), "Chromium supplements for glycemic control in type 2 diabetes: limited evidence of effectiveness", *Nutrition reviews*. 74, p. 455-468.

31. **Akram T Kharroubi and Hisham M Darwish** (2015), "Diabetes mellitus: The epidemic of the century", *World journal of diabetes*. 6,6, p. 850-867.

32. **David André Barrière, Christophe Noll, Geneviève Roussy et al** (2018), "Combination of high-fat/high-fructose diet and low-dose streptozotocin to model long-term type-2 diabetes complications", *Scientific reports*. 424.

33. **David Miaffo, Fidèle Ntchapda, Talba Abba Mahamad et al** (2021), "Hypoglycemic, antidyslipidemic and antioxydant effects of Vitellaria paradoxa barks extract on high-fat diet and streptozotocin-induced type 2 diabetes rats", *Metabolism Open*. 1, p. 2020.100071.

34. **Robert J. Gasperini Dino Premilovac, Sarah Sawyer** (2017), "A New Method for Targeted and Sustained Induction of Type 2 Diabetes in Rodents", *Scientific Reports*. 7, p. 14158.

35. **Ezarul Faradianna Lokman and Harvest F. Gu** (2015), "Evaluation of Antidiabetic Effects of the Traditional Medicinal Plant *Gynostemma pentaphyllum* and the Possible Mechanisms of Insulin Release", *Evidence-based complementary and alternative medicine* 120572.

36. **Ezgi Öztaşa, Tugba EkizYılmazb, Elif Güzelb et al** (2019), "Gliclazide alone or in combination with atorvastatin ameliorated reproductive damage in streptozotocin-induced type 2 diabetic male rats", *Original Research Article*. 10.1016, p. 422-431.

37. **Brian L Furman** (2015), "Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats", *Current Protocols in Pharmacology*. 70, p. 10.1002/047114755.

38. **Gijs W. D. Landman, Geertruide H. de Bock, Kornelis J. J. van Hateren et al** (2014), "Safety and Efficacy of Gliclazide as Treatment for Type 2 Diabetes:

A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Trials", *PloS one*, 9(2). 9(2)(10.1371), p. e82880.

39. **Tianwen Zhao, Hanxiao Tang, Yunjie Sheng** (2017), "Dendrobium officinale Kimura et Migo: A Review on Its Ethnopharmacology, Phytochemistry, Pharmacology, and Industrialization", *Evidence-based complementary and alternative medicine* 10.1155.

40. **Hong Zheng, Linlin Pan, Pengtao Xu et al** (2017), "An NMR-Based Metabolomic Approach to Unravel the Preventive Effect of Water-Soluble Extract from Dendrobium officinale Kimura & Migo on Streptozotocin-Induced Diabetes in Mice", *Molecules (Basel, Switzerland)* 10.3390, p. 1543.

41. **K. Ogurtsova; J.D. da Rocha Fernandes; Y. Huang** (2015), "IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040", *Diabetes research and clinical practice*. 128, p. 40-50.

42. **Vũ Thị Thanh Huyền** (2012), "Antidiabetic Effects of Add-On Gynostemma pentaphyllum Extract Therapy with Sulfonylureas in Type 2 Diabetic Patients", *Evidence-based complementary and alternative medicine* 452313.

43. **Vũ Thị Thanh Huyền** (2013), "Gynostemma pentaphyllum Tea Improves Insulin Sensitivity in Type 2 Diabetic Patients", *Journal of nutrition and metabolism*, p. 765383.

44. **National Center for Biotechnology Information** (2020), "Streptozocin", *Pubchem - National Library of Medicine*.

45. **Yong Xiong, Jingxian Sun** (2020), "Medicinal dietary plants of the Yi in Mile, Yunnan, China", *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 48, p. 2020.

46. **Thi Kim Quy Ha, Jun Wang, Yan-Ping Shi** (2018), "Hypoglycemic triterpenes from Gynostemma pentaphyllum", *Phytochemistry*. 155, p. 171-181.

47. **Cong Zhang, Junxuan Zhou, Guo-Hua Zheng** (2018), "Emblic Leaf (Phyllanthus emblica L.) Fruits Ameliorate Vascular Smooth Muscle Cell Dysfunction in Hyperglycemia: An Underlying Mechanism Involved in Ellagitannin Metabolite Urolithin A", *Evidence-based complementary and alternative medicine* 8478943.

48. **Samidha A Kalekar** (2013), "Insulin sensitizing effect of 3 Indian medicinal plants: An in vitro study", *Indian journal of pharmacology* 45, p. 30-33.
49. **Jason Kim** (2013), "STZ-induced type 1 diabetes model ", *National Mouse Metabolic Phenotyping Centers*
50. **Aileen JF King** (2012), "The use of animal models in diabetes research", *British journal of pharmacology*. 166, p. 874-894.
51. **Moien Abdul Basith Khan; Muhammad Jawad Hashim; Jeffrey Kwan King** (2020), "Epidemiology of Type 2 Diabetes - Global Burden of Disease and Forecasted Trends", *Journal of epidemiology and global health*. 10, p. 107-111.
52. **Darren Rattigan Lena C. E. Lundqvist, Emad Ehtesham** (2019), "Profiling and activity screening of Dammarane-type triterpen saponins from *Gynostemma pentaphyllum* with glucose-dependent insulin secretory activity", *Scientific Reports*. 9, p. 1627.
53. **Carlos Lorenzo** (2010), "Disposition Index, Glucose Effectiveness, and Conversion to Type 2 Diabetes, The Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS)", *Diabetes care*. 33.9(10.2337/dc10-0165), p. 2098-2103.
54. **Ranganath Muniyappa and Ritu Madan** (2018), "Assessing Insulin Sensitivity and Resistance in Humans", *South Dartmouth (MA)*, p. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278954/>.
55. **Umesh Masharani** (2012), "Chromium supplementation in non-obese non-diabetic subjects is associated with a decline in insulin sensitivity", *BMC endocrine disorders*. 10.1186/1472-6823.
56. **JM Anderson MC Deeds, AS Armstrong** (2011), "Single Dose Streptozotocin Induced Diabetes: Considerations for Study Design in Islet Transplantation Models", *Laboratory animals*. 45, p. 131-140.
57. **Katherine Motyl; Laura R McCabe** (2009), "Streptozotocin, Type I Diabetes Severity and Bone", *Biological Procedure Online*, p. 296-315.
58. **Jungang Han and Ming Zhao** (2018), "Dendrobium Officinale Kimura et Migo Ameliorates Insulin Resistance in Rats with Diabetic Nephropathy", *Med Sci Monit Basic Res*. 10.12659.

59. **Muhammad Tayyab Akhtar, Mohamad Syakir Bin Mohd Sarib, Intan Safinar Ismail et al** (2016), "Anti-Diabetic Activity and Metabolic Changes Induced by *Andrographis paniculata* Plant Extract in Obese Diabetic Rats", *Molecules (Basel, Switzerland)*,. 21(8), p. 1026.
60. **Nguyen Bich Ngoc;, Zhou Lu Lin; and Waqas Ahmed** (2020), "Diabetes: What Challenges Lie Ahead for Vietnam?", *Annals of Global Health*. 86, p. 1.
61. **Nicholas J. Wareham and Nita Gandhi Forouhi** (2014), "Epidemiology of diabetes", *Medicine (Abingdon)*. 42, p. 698-702.
62. **Hayashi T Onishi Y, Sato KK** (2010), "Fasting tests of insulin secretion and sensitivity predict future prediabetes in Japanese with normal glucose tolerance", *Journal of diabetes investigation* 1,5(10.1111/j.2040-1124.2010.00041.x), p. 191-195.
63. **Hamid Nasri and Mahmoud Rafieian-Kopaei** (2014), "Metformin: Current knowledge", *Journal of research in medical sciences : the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*. 19,7, p. 658-664.
64. **Shreesh Kumar Ojha and Divya Vohora Sachin Arora** (2009), "Characterisation of Streptozotocin Induced Diabetes Mellitus in Swiss Albino Mice", *Global Journal of Pharmacology*. 3, p. 81-84.
65. **Khosrow Kashfi Sevda Gheibi, Asghar Ghasemi** (2017), "A practical guide for induction of type-2 diabetes in rat: Incorporating a high-fat diet and streptozotocin", *Biomed Pharmacother*. 95, p. 605-613.
66. **Hou Shao-Zhen** (2016), "Dendrobium officinale Prevents Early Complications in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats", *Evidence-based complementary and alternative medicine*. 10.1155/6385850.
67. **Priyanka Sharma;, Tushar Joshi;, Tanuja Joshi et al** (2020), "In silico screening of potential antidiabetic phytochemicals from *Phyllanthus emblica* against therapeutic targets of type 2 diabetes", *Journal of ethnopharmacology*. 248, p. 112268.

68. **Snehal S Patel, Ramesh K Goyal, Rajendra S Shah et al** (2013), "Experimental study on effect of hydroalcoholic extract of *Emblica officinalis* fruits on glucose homeostasis and metabolic parameters", *Ayu.* 34, p. 440-444.
69. **T. Szkudelski** (2001), "The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas", *Physiological Research*, p. 536-546.
70. **Tran Manh Hung, Duc Manh Hoang, Jin Cheol Kim et al** (2009), "Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory by dammaranes from Vietnamese Giao-Co-Lam tea", *Journal of ethnopharmacology.* 142(5), p. 240-245.
71. **Henry Trimen** (2011), "A hand-book to the flora of Ceylon : containing descriptions of all the species of flowering plants indigenous to the island, and notes on their history, distribution, and uses : with an atlas of plates illustrating some of the more interesting species", *New York Botanical Garden.*
72. **Ümit Can Yazgan, Ezel Taşdemir, Hakkı Murat Bilgin et al** (2015), "Comparison of the anti-diabetic effects of resveratrol, gliclazide and losartan in streptozotocin-induced experimental diabetes", *Archives of physiology and biochemistry.* 121(4), p. 157-161.
73. **V T T Huyen, D V Phan, P Thang et al** (2010), "Antidiabetic effect of *Gynostemma pentaphyllum* tea in randomly assigned type 2 diabetic patients", *Hormon and Metabolic Research.* 42 (5), p. 353-357.
74. **Nasimeh, Vatandoust et al** (2018), "Novel High-Fat Diet Formulation and Streptozotocin Treatment for Induction of Prediabetes and Type 2 Diabetes in Rats", *Advanced biomedical research.* 7, p. 8-17.
75. **Yong Wang, Xiao-xuan Guo, Kai Wang** (2018), "Stability of a type 2 diabetes rat model induced by high-fat diet feeding with low-dose streptozotocin injection", *Journal of Zhejiang University. Science.* 19, p. 559-569.
76. **Ya Liu, Jian Kang, Hong Gao et al** (2019), "Exploration of the Effect and Mechanism of ShenQi Compound in a Spontaneous Diabetic Rat Model", *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets.* 19(5), p. 622-631.

77. **Yan Duan , Xiaomeng Sun , Jia Liu et al** (2019), "Different Analysis of β -Cell Dysfunction as Fasting Glucose Progresses in Obese and Nonobese Newly Diagnosed Type 2 Diabetic Patients", *Journal of Diabetes Research*. 2019(6053604).

78. **Jinzi Wu; Liang-Jun Yan** (2015), "Streptozotocin-induced type 1 diabetes in rodents as a model for studying mitochondrial mechanisms of diabetic β cell glucotoxicity", *Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy* 8, p. 181-188.

79. **Wanjun Lin, Yantao Li** (2016), "Anti-cancer effects of *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Jiaogulan)", *Chinese Medicine*. 11, p. 10.1186.

80. **K. Yassin; and Vũ Thị Thanh Huyền** (2011), "Herbal Extract of *Gynostemma Pentaphyllum* Decreases Hepatic Glucose Output in Type 2 Diabetic Goto-Kakizaki Rats", *International journal of biomedical science*, p. 131-136.

81. **Yuan-xiong Deng, Xiao-jie Zhang, Qun-zhi Shi et al** (2012), "Anti-hyperglycemic effects and mechanism of traditional Chinese medicine Huanglian Wan in streptozocin-induced diabetic rats", *Journal of ethnopharmacology*. 144(2), p. 425-432.

82. **Xiaoxiao Zhao, Zichao Wang, Xiaoying Liu** (2018), "Anti-diabetic activity evaluation of a polysaccharide extracted from *Gynostemma pentaphyllum*", *International journal of biological macromolecules*. 126, p. 209-214.

Tiếng Trung

83. **庞玉萍** (2016), "绞股蓝总皂苷对 2 型糖尿病大鼠游离脂肪酸代谢的影响及改善胰岛素抵抗相关机制研究", *中华中医药学刊*. 4, p. 960-963.

84. **邓媛元 李秀芳, 潘利华** (2012), "霍山石斛多糖对糖尿病性白内障大鼠眼球晶状体组织抗氧化作用的研究", *中成药*. 2012 年 03 期 第 418. 3, p. 418-421.

85. **侯颖 杜小燕, 覃华** (2011), "绞股蓝多糖对 2 型糖尿病大鼠血糖的影响及其机制初步研究", *科学技术与工程*. 24, p. 5754-5758.

86. 王同壮, 王尚, 马朋 (2020), "绞股蓝叶水提物对糖尿病大鼠降血糖作用研究", *中草药*. 10, p. 2828-2834.
87. 王璽 (2020), "绞股蓝皂苷抗氧化、降糖和抗炎作用的研究", *沈阳农业大学*. 81602983.
88. 赵文佳 瞿运秋, 陈继光 (2019), "余甘子主要活性成分柯里拉京对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性", *江苏农业科学*. 14, p. 206-209.
89. 肖洪贺 诸夔姝, 寿旗扬 (2020), "绞股蓝及其活性成分改善糖尿病并发症作用机制的研究进展", *中国药房*. 31, p. 8.
90. 赵晓华 (2016), "基于大数据下 2 型糖尿病及并发症患者就诊信息的挖掘研究", *广州中医药大学*.

Phản dịch tiếng Trung

83. Bàn Ngọc Bình (2016), "Tác dụng của gypenosides đối với chuyển hóa axit béo tự do ở chuột mắc bệnh Đái tháo đường type 2 và các cơ chế liên quan để cải thiện tình trạng kháng insulin", *Tạp chí Y học cổ truyền Trung Quốc*. 4, trang 960-963.
84. Đặng Duyên Nguyên, Lý Tú Phương, Phạm Lợi Hoa (2012), "Nghiên cứu tác dụng chống oxy hóa của polysaccharides Thạch斛 trên mô thủy tinh thể mắt của chuột bị đục thủy tinh thể do Đái tháo đường", *Y học bằng sáng chế Trung Quốc*. 2012-03 Số 418.3, tr.418-421 .
85. Hầu Đình, Đỗ Tiểu Yên, Đàm Hoa (2011), "Ảnh hưởng của Gynostemma pentaphyllum polysaccharide trên đường huyết ở chuột mắc bệnh Đái tháo đường type 2 và nghiên cứu sơ bộ của nó", *Khoa học Công nghệ và Kỹ thuật*. 24, trang 5754-5758.
86. Vương Đồng Trang và các cộng sự (2020), "Nghiên cứu tác dụng của chiết xuất nước của cây Gynostemma pentaphyllum trong việc giảm lượng đường trong máu ở chuột mắc bệnh Đái tháo đường", *Dược thảo Trung Quốc*. 10, tr. 2828-2834.
87. Vương Chiếu (2020), "Nghiên cứu tác dụng chống oxy hóa, hạ đường huyết và chống viêm của gypenosides", *Đại học Nông nghiệp Thẩm Dương*. 81602983.

88. Triệu Văn Gia, Cù Vận Thu, Trần Kế Quang (2019), "Hoạt động ức chế của Corilagin, thành phần hoạt động chính của *Phyllanthus emblica* trên α -glucosidase", *Hội khoa học nông nghiệp tỉnh Giang Tô*. 14, tr. 206-209.

89. Tiêu Hồng Hạ, Chư Quỳnh Nụ, Thọ Kỳ Phương và các cộng sự (2020), "Tiến bộ nghiên cứu về cơ chế của *Gynostemma* và các thành phần hoạt tính của nó trong việc cải thiện các biến chứng của bệnh đái tháo đường", *Trung y dược*. 31, tr.8.

90. Triệu Hiểu Hoa (2016), "Nghiên cứu về khai thác thông tin của bệnh nhân đái tháo đường loại 2 và các biến chứng dựa trên dữ liệu", *Đại học Trung y dược Quảng Châu*.