

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM

-----\*\*\*-----



**DƯƠNG VĂN PHÚ**

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG  
HẠ ĐƯỜNG HUYẾT VÀ BẢO VỆ GAN  
CỦA CÂY DÈN TOÒNG QUẢ DÀI  
(*GOMPHOGYNE BONII* GANEP.)  
TRÊN THỰC NGHIỆM**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC**

**HÀ NỘI, NĂM 2020**

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM

-----\*\*\*-----



DƯƠNG VĂN PHÚ

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG  
HẠ ĐƯỜNG HUYẾT VÀ BẢO VỆ GAN  
CỦA CÂY DÈN TOÒNG QUẢ DÀI  
(*GOMPHOGYNE BONII* GANEP.)  
TRÊN THỰC NGHIỆM**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC**

Chuyên ngành:

Mã số: 8720115

Người hướng dẫn khoa học:

**PGS.TS Nguyễn Duy Thuần**

**Hà Nội - 2020**

## LỜI CẢM ƠN

*Bằng tất cả sự tri ân và yêu kính, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn tới:*

*PGS.TS Nguyễn Duy Thuần, nguyên Phó Giám đốc Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam, người đã dành cho tôi sự quan tâm, trực tiếp chỉ bảo tận tình từ những bước đầu trong quá trình nghiên cứu đến khi hoàn thiện luận văn.*

*PGS. TS. Phạm Thị Vân Anh, Trưởng Bộ môn Dược lý Trường Đại học Y Hà Nội đã tạo điều kiện tốt nhất, giúp đỡ, động viên, cho tôi những đóng góp quý báu trong nghiên cứu.*

*Tôi cũng xin gửi lời cảm ơn tới:*

*Toàn thể các Bác sĩ, điều dưỡng tại khoa Điều trị toàn diện và Khoa Y học cổ truyền - Bệnh viện Châm cứu Trung ương đã tạo điều kiện cho tôi trong quá trình công tác và học tập và nghiên cứu tại viện.*

*Tôi cũng xin cảm ơn Phòng Đào tạo sau Đại học - Học viện Y dược Học Cổ truyền đã tạo điều kiện thuận lợi trong quá trình học tập, hoàn thành luận văn này.*

*Toàn thể các thầy cô, các anh chị kỹ thuật viên Bộ môn Dược lý Trường Đại học Y Hà Nội đã luôn giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu tại bộ môn.*

*Xin bày tỏ lòng kính yêu sâu sắc đến gia đình, những người thân và bạn bè đã luôn hỗ trợ, cổ vũ, động viên tôi hoàn thành khóa luận này.*

*Hà Nội, ngày 17 tháng 7 năm 2020*

*Học viên*

***Dương Văn Phú***

## **LỜI CAM ĐOAN**

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực và chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác. Nếu sai tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm.

Hà Nội, ngày 17 tháng 7 năm 2010

Người viết cam đoan

**Dương Văn Phú**

## DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

ADA	American Diabetes Association (Hiệp hội Đái tháo đường Hoa Kỳ)
AMP	Adenosin monophosphate
AMPK	Adenosin monophosphate kinase
ALT	Alanin aminotransferase
ALX	Alloxan
AST	Aspartat aminotransferase
CYP	Cytochrom P450
DPP-4	Dipeptidyl peptidase - 4
DTQD	Dền toòng quả dài
ĐTĐ	Đái tháo đường
GLUT	Glucose tran-sporter (Chất vận chuyên glucose)
GSH	Glutathion
HDL	High density lipoprotein (Lipoprotein tỷ trọng cao)
HFD	High fat diet (Chế độ ăn giàu chất béo)
NAPQI	N-acetyl-p-benzoquinonimin
NFD	Normal fat diet (Chế độ ăn bình thường)
PAR	Paracetamol
LDL	Low density lipoprotein (Lipoprotein tỷ trọng thấp)
MDA	Malonyldialdehyd
TC	Total cholesterol (Cholesterol toàn phần)
TG	Triglycerid
VLDL	Very low density lipoprotein (Lipoprotein tỷ trọng rất thấp)
WHO	World Health Organization (Tổ chức Y tế Thế giới)
YHCT	Y học cổ truyền
YHHĐ	Y học hiện đại

## MỤC LỤC

<b>ĐẶT VẤN ĐỀ</b> .....	<b>1</b>
<b>CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU:</b> .....	<b>3</b>
1.1. SƠ LƯỢC VỀ CHUYỂN HÓA GLUCOSE VÀ BỆNH LÝ ĐTĐ .....	3
1.1.1. Vai trò của glucid và sự vận chuyển glucose trong cơ thể.....	3
1.1.2. Sự điều hòa cân bằng glucose máu.....	3
1.1.3. Đại cương bệnh đái tháo đường.....	4
1.1.4. Điều trị bệnh lý đái tháo đường.....	6
1.2. CẤU TRÚC CHỨC NĂNG SINH LÝ VÀ TỔN THƯƠNG GAN.....	9
1.2.1. Cấu trúc gan .....	9
1.2.2. Chức năng sinh lý của gan.....	10
1.2.3. Những tổn thương gan thường gặp.....	11
1.2.4. Một số xét nghiệm thường dùng đánh giá tổn thương gan .....	12
1.2.5. Các thuốc có tác dụng bảo vệ gan.....	12
1.2.6. Điều trị bệnh lý gan theo y học cổ truyền .....	13
1.3. CÁC MÔ HÌNH TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM .....	<b>14</b>
1.3.1. Mô hình ĐTĐ trên thực nghiệm .....	14
1.3.2. Mô hình dược lý gây tổn thương gan trên động vật thực nghiệm.....	15
1.4. TỔNG QUAN VỀ CÂY DÈN TOÒNG QUẢ DÀI.....	<b>16</b>
1.4.1. Đặc điểm thực vật học .....	16
1.4.2. Phân bố địa lí.....	16
<b>CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU</b> .....	<b>19</b>
2.1. Chất liệu nghiên cứu .....	<b>19</b>
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu.....	19
2.1.2. Hóa chất và máy móc phục vụ nghiên cứu.....	20
2.2. Đối tượng nghiên cứu: Động vật thực nghiệm .....	<b>20</b>
2.3. Phương pháp nghiên cứu.....	<b>21</b>
2.3.1. Nghiên cứu tác dụng hạ glucose máu trên chuột nhắt gây mô hình ĐTĐ typ 2.	21
2.3.2. Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của Dền toòng quả dài trên thực nghiệm .....	22
2.4. Xử lý số liệu .....	<b>23</b>
2.5. Địa điểm nghiên cứu .....	<b>23</b>

<b>CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>24</b>
<b>3.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng hạ glucose máu</b>	
3.1.1. Sự thay đổi cân nặng ở mô hình chuột gây béo phì.....	24
3.1.2. Tác dụng của Dền toòng quả dài trên chuột nhất gây mô hình ĐTĐ typ 2..	24
3.1.3. Tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu của Dền toòng quả dài trên chuột nhất gây mô hình ĐTĐ dạng typ 2.....	27
3.1.4. Ảnh hưởng của Dền toòng quả dài lên trọng lượng gan, tụy và mô bệnh học chuột nhất gây mô hình ĐTĐ dạng typ 2.....	28
3.1.5. Mô bệnh học chuột nhất gây mô hình ĐTĐ dạng typ 2 .....	31
<b>3.2. Tác dụng bảo vệ gan của Dền toòng quả dài trên thực nghiệm.</b>	
3.2.1. Tác dụng bảo vệ gan của Dền toòng quả dài trên thực nghiệm.....	41
3.2.2. Hình ảnh đại thể và vi thể gan chuột sau 10 ngày uống thuốc.....	50
<b>CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN.....</b>	<b>49</b>
4.1. Tác dụng hạ glucose máu của Dền toòng quả dài .....	<b>49</b>
4.1.1. Mô hình gây ĐTĐ typ 2.....	49
4.1.2. Tác dụng của Dền toòng quả dài lên nồng độ glucose máu và các chỉ số lipid máu ở chuột nhất gây ĐTĐ typ 2 .....	49
4.1.3. Tác dụng của Dền toòng quả dài trên mô bệnh học gan, tụy.....	53
<b>4.2. Tác dụng bảo vệ gan của Dền toòng quả dài trên mô hình thực nghiệm... 54</b>	
4.2.1. Về lựa chọn mô hình .....	54
4.2.2. Tác dụng bảo vệ gan của Dền toòng quả dài.....	55
<b>KẾT LUẬN .....</b>	<b>58</b>
<b>1. Tác dụng hạ glucose máu của Dền toòng quả dài.....</b>	<b>58</b>
<b>2. Tác dụng bảo vệ gan của Dền toòng quả dài trên mô hình thực nghiệm... 58</b>	
<b>KIẾN NGHỊ .....</b>	<b>59</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b>	

## DANH MỤC BẢNG

<i>Bảng 3.1.</i> Ảnh hưởng của Dền toòng quả dài đến thể trọng chuột.....	24
<i>Bảng 3.2.</i> Sự biến đổi nồng độ glucose máu chuột nhắt trắng .....	25
<i>Bảng 3.3.</i> Ảnh hưởng của dền toòng quả dài đến nồng độ glucose máu của chuột ĐTĐ typ 2 sau 2 tuần nghiên cứu .....	26
<i>Bảng 3.4.</i> Chỉ số lipid máu của chuột ĐTĐ typ 2 sau 2 tuần uống thuốc .....	27
<i>Bảng 3.5.</i> Trọng lượng gan của chuột ĐTĐ typ 2 sau 2 tuần uống thuốc.....	29
<i>Bảng 3.6.</i> Trọng lượng tụy của chuột ĐTĐ typ2 sau 2 tuần uống thuốc .....	30
<i>Bảng 3.7.</i> Ảnh hưởng của Dền toòng quả dài lên trọng lượng gan chuột.....	41
<i>Bảng 3.8.</i> Ảnh hưởng của Dền toòng quả dài đến hoạt độ AST trong máu chuột.....	42
<i>Bảng 3.9.</i> Ảnh hưởng của Dền toòng quả dài đến hoạt độ ALT trong máu chuột.....	43



## DANH MỤC HÌNH

Sơ đồ 1.1. Con đường chuyển hóa paracetamol trong cơ thể.....	15
Hình 1.2. Phân loại các saponin.....	18
Hình 2.1. Ảnh cây Dền toong quả dài ( <i>Gomphogyne bonii</i> Gagnep.), hoa và quả...	19

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay, cùng với sự phát triển của kinh tế xã hội, kèm theo nhiều hệ lụy về ô nhiễm môi trường, đồng thời chất lượng thực phẩm không đảm bảo, chế độ ăn uống không hợp lí dẫn đến sự gia tăng các bệnh lý liên quan đến chuyển hóa và nội tiết, trong đó có đái tháo đường. Bệnh đặc trưng bởi tình trạng tăng đường huyết mạn tính phối hợp với rối loạn chuyển hóa glucid, lipid và protein do tình trạng thiếu hụt về số lượng insulin, tác dụng của insulin hoặc cả hai [29].

Theo báo cáo toàn cầu của Tổ chức Y tế thế giới (WHO), năm 2016 số lượng người lớn tuổi mắc bệnh đái tháo đường tăng vọt từ 108 triệu người năm 1980 lên 422 triệu người năm 2015. Bên cạnh đó, đái tháo đường gây tử vong cho 1,6 triệu người vào năm 2016 và được coi là nguyên nhân gây tử vong đứng hàng thứ 7 trong tất cả các nguyên nhân [77]. Đái tháo đường không chỉ mang lại gánh nặng về mặt sức khỏe mà còn là gánh nặng về kinh tế cho bệnh nhân và gia đình. Bệnh có thể gây ra nhiều biến chứng trên tim, mạch, thận, thần kinh, mắt... dẫn đến tử vong cho người bệnh.

Hiện nay có rất nhiều nhóm thuốc điều trị đái tháo đường có hiệu quả như insulin, biguanid, sulfonylurea nhưng có nhiều tác dụng không mong muốn [24]. Bên cạnh đó, bệnh nhân ĐTĐ thường kèm thêm nhiều bệnh lý nên khi điều trị phải kết hợp nhiều thuốc gây ra sự tương tác hoặc ảnh hưởng đến chức năng gan, đồng thời thời gian điều trị của bệnh nhân kéo dài dẫn đến khó khăn về kinh tế và tuân thủ điều trị. Một trong những hướng nghiên cứu trên thế giới hiện nay là sàng lọc, tìm ra các hoạt chất có nguồn gốc tự nhiên, chủ yếu từ thực vật có tính an toàn, hiệu quả và thích hợp cho điều trị kéo dài.

Nước ta nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa ẩm, hệ thực vật và động vật vô cùng phong phú và đa dạng. Vấn đề làm phong phú thêm các nguồn thuốc của Việt Nam và nghiên cứu sử dụng các thuốc có nguồn gốc dược liệu có tác dụng tốt điều trị bệnh đặc biệt là bệnh lý mạn tính như ĐTĐ là mối quan tâm hàng đầu của các nhà khoa học. Dền toong quả dài (DTQD) có tên khoa học là *Gomphogyne bonii* Gagnep., thuộc họ Bầu bí (Cucurbitaceae), lần đầu tiên được tìm ra ở các tỉnh vùng núi phía Bắc, Việt Nam với các tên gọi khác nhau như Đầu thư, Dây gom, Dền toong quả dài. Họ Cucurbitaceae là một trong những họ có nhiều chi và loài đã được các nhà khoa học chứng minh tác dụng trong một số bệnh lý tim mạch, rối loạn lipid máu, chống

oxy hóa và tăng cường miễn dịch...[3],[12]. Trong dân gian, cộng đồng người Tày ở khu vực huyện Trùng Khánh (tỉnh Cao Bằng) thường dùng bộ phận trên mặt đất của cây này uống dùng để giải độc gan, điều trị đái tháo đường, béo phì,... Tuy nhiên, chưa có một nghiên cứu nào chứng minh các tác dụng trên của Dền toong quả dài.

Nhằm đánh giá một cách khoa học các tác dụng chính của cây Dền toong quả dài, đề tài **“Nghiên cứu tác dụng hạ đường huyết và bảo vệ gan của cây Dền toong quả dài (*Gomphogyne bonii* Ganep.) trên thực nghiệm”** đã được thực hiện với 2 mục tiêu:

1. *Đánh giá tác dụng hạ glucose máu của Dền toong quả dài trên chuột nhắt trắng gây mô hình đái tháo đường typ 2.*
2. *Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của Dền toong quả dài trên chuột nhắt trắng gây tổn thương gan bằng paracetamol.*

## Chương 1

### TỔNG QUAN TÀI LIỆU

#### 1.1. SƠ LƯỢC VỀ CHUYỂN HÓA GLUCOSE VÀ BỆNH LÝ ĐÁI THÁO ĐƯỜNG

##### 1.1.1. Vai trò của glucid và sự vận chuyển glucose trong cơ thể

Glucid là thành phần cơ bản của sinh vật, là nguồn năng lượng chủ yếu và trực tiếp cho mọi hoạt động của tế bào, mô và cơ quan của cơ thể (chiếm 50-55%) [14].

Trong cơ thể các dạng glucid tồn tại chủ yếu là:

- Dạng dự trữ: Glycogen, tập trung nhiều ở gan và cơ
- Dạng vận chuyển: Glucose trong máu và dịch ngoại bào
- Dạng tham gia cấu tạo tế bào và các chất khác: Pentose trong thành phần acid nucleic, glucid phức tạp tham gia cấu tạo màng tế bào, màng các bào quan (glycoprotein, glycolipid)....

Glucose từ trong máu được vận chuyển đến các mô nhờ protein vận chuyển (glucose transporters - GLUTs). Có hơn 10 loại GLUT đã được tìm thấy, trong đó quan trọng là GLUT vận chuyển glucose đến các mô đích (gan, cơ, và mô mỡ).

- GLUT2: đặc trưng cho tế bào gan, là protein không phụ thuộc insulin. Glucose có thể qua lại tế bào gan tự do làm nồng độ glucose trong gan và máu tương tự nhau, giúp tế bào gan có thể phản ứng kịp thời với sự thay đổi nồng độ glucose máu [45].
- GLUT4: vận chuyển glucose từ máu vào mô xương, cơ tim và mô mỡ để tiếp tục con đường thoái hóa glucose tiếp theo. Đây là protein vận chuyển glucose phụ thuộc insulin [9],[45].

##### 1.1.2. Sự điều hòa cân bằng glucose máu

Nồng độ glucose máu ở người bình thường là 0,8-1,2 g/L. Để đảm bảo cân bằng lượng glucid cơ thể điều hòa thông qua 2 cơ chế: cơ chế nội tiết và cơ chế thần kinh.

Vai trò của hệ nội tiết: các hormon làm hạ glucose máu (insulin, incretin), các hormon làm tăng glucose máu (adrenalin, glucagon, glucocorticoid, thyroxin, STH, insulinase và kháng thể kháng insulin) [9].

Vai trò của hệ thần kinh: đường huyết tăng trong trường hợp hưng phấn vỏ não và cường giao cảm (stress, lo lắng...). Vai trò của trung tâm A và trung tâm B nằm ở vùng dưới đồi cũng tham gia điều hòa đường huyết [9].

### **1.1.3. Đại cương bệnh đái tháo đường theo Y học hiện đại**

#### **1.1.3.1. Định nghĩa**

Theo Tổ chức Y tế thế giới (WHO) năm 2006 định nghĩa: “Đái tháo đường là một bệnh mạn tính gây ra do thiếu sản xuất insulin của tụy hoặc tác dụng insulin không hiệu quả do nguyên nhân mắc phải và/hoặc do di truyền với hậu quả là tăng glucose máu” [76].

Theo hiệp hội ĐTD Hoa Kỳ (ADA) 2018 đưa ra khái niệm: Đái tháo đường là một nhóm bệnh lý chuyển hóa đặc trưng bởi sự tăng glucose máu do khiếm khuyết tiết insulin hoặc do tác động của insulin hoặc cả hai. Tăng glucose máu mạn tính trong thời gian dài sẽ gây rối loạn chuyển hóa carbohydrat, protid, lipid, gây tổn thương nhiều cơ quan, đặc biệt là mắt, thận, thần kinh, tim và mạch máu [57].

#### **1.1.3.2. Tiêu chuẩn chẩn đoán**

Tiêu chuẩn chẩn đoán bệnh ĐTD theo Hiệp hội ĐTD Hoa Kỳ (ADA) dựa vào 1 trong 4 tiêu chuẩn sau đây [57].

- HbA1c  $\geq$  6,5% (48 mmol/l)
- Glucose máu lúc đói  $\geq$  126 mg/dL (hay 7,0 mmol/l) sau nhịn đói ít nhất 8 giờ ( $\geq$  2 lần xét nghiệm)
- Glucose máu  $\geq$  200mg/dL (hay 11,1 mmol/l) ở thời điểm 2 giờ sau nghiệm pháp dung nạp glucose đường uống 75g ( $\geq$  2 lần xét nghiệm)
- Bệnh nhân có triệu chứng kinh điển của tăng glucose máu hoặc glucose máu bất kỳ  $\geq$  200mg/dL (hay 11,1 mmol/l) ( $\geq$  2 lần xét nghiệm)

Ngoài ra, hiện nay, những tình trạng rối loạn glucose máu dù chưa đủ tiêu chuẩn để chẩn đoán đái tháo đường nhưng vẫn có nguy cơ xuất hiện các biến chứng mạch máu lớn của đái tháo đường, được gọi là tiền đái tháo đường.

#### **1.1.3.3. Phân loại**

Theo phân loại của hiệp hội ĐTD Hoa Kỳ (ADA) năm 2018, ĐTD được chia làm các typ sau [57].

- ĐTD typ 1
- ĐTD typ 2
- ĐTD thai kỳ: liên quan đến sự có mặt của kháng thể kháng insulin và sự thay đổi nồng độ hormon trong thời kỳ mang thai.

-ĐTĐ thứ phát do các nguyên nhân khác: khiếm khuyết chức năng tế bào  $\beta$  đảo tụy: bệnh lý viêm tụy, u tụy, hội chứng Cushing,...

#### 1.1.3.4. Cơ chế bệnh sinh

Nhiều cơ chế bệnh gây tăng đường huyết ở bệnh nhân ĐTĐ đã được biết như: giảm tiết insulin ở tụy, giảm tác dụng của incretin ở ruột, tăng tiết glucagon ở tụy, tăng tạo glucose ở gan....

ĐTĐ typ 1: chiếm tỷ lệ 5-15% trong số các bệnh nhân ĐTĐ. Cơ chế ĐTĐ typ 1 liên quan đến tình trạng thiếu hụt insulin tuyệt đối do phá hủy tế bào  $\beta$  đảo tụy bởi sự tương tác giữa các yếu tố gen, môi trường và miễn dịch. Quá trình này là tự miễn, cơ thể sinh ra các kháng thể chống lại tế bào  $\beta$  đảo tụy. Gen HLA DR4-DQ8 và DR3-DQ2 được tìm thấy ở 90% trẻ mắc ĐTĐ typ 1 [29].

ĐTĐ typ 2 chiếm tỷ lệ cao nhất (trên 90%) trong số các bệnh nhân mắc bệnh ĐTĐ. Cơ chế bệnh sinh trong ĐTĐ typ 2 là sự đề kháng insulin ở ngoại vi và sự thiếu hụt insulin tương đối do rối loạn bài tiết insulin. Các yếu tố gen, tình trạng béo phì, hạn chế vận động, ăn uống không hợp lý... là điều kiện phát sinh và tiến triển bệnh. Trong đó, tình trạng kháng insulin là tình trạng giảm hoặc mất tính nhạy cảm của cơ quan đích với insulin được coi là khiếm khuyết ban đầu hoặc khiếm khuyết chính trong cơ chế bệnh sinh của ĐTĐ typ 2. Kháng insulin xuất hiện khi lượng insulin bình thường do tụy tiết ra không đủ để đáp ứng chức năng của các tế bào trong cơ thể. Để duy trì nồng độ glucose máu bình thường, tế bào  $\beta$  tuyến tụy phải tiết thêm insulin, làm tăng nồng độ insulin. Có nhiều yếu tố khởi phát sự đề kháng insulin trong đó béo phì là yếu tố nguy cơ chính. Béo phì làm tăng lượng acid béo tự do vào tuần hoàn và vào gan. Nồng độ insulin tăng cao, gan sẽ tăng sản xuất lipoprotein tỉ trọng thấp (VLDL) và triglyceride (TG), gây lắng đọng ở gan gây thoái hóa mỡ, ở cơ gây kháng insulin [37].

Sự rối loạn bài tiết insulin xảy ra trong ĐTĐ typ 2 nguyên nhân là do sự rối loạn về nhịp bài tiết insulin, bất thường về số lượng insulin: ban đầu tăng tiết sau đó giảm tiết do suy kiệt tế bào  $\beta$  đảo tụy và sự bất thường về chất lượng của insulin như tăng proinsulin.

### **1.1.3.5. Điều trị bệnh lý đái tháo đường theo Y học hiện đại**

#### **1.1.3.5.1. Điều chỉnh lối sống**

Những rối loạn về di truyền và lối sống (chế độ ăn giàu carbohydrat, giàu chất béo bão hòa, ít vận động thể lực) góp phần làm tăng sự xuất hiện ĐTD. Điều trị bệnh lý ĐTD cần bắt đầu từ thay đổi lối sống, sinh hoạt [1],[29],[57].

Chế độ ăn: đầy đủ các chất dinh dưỡng, hạn chế carbohydrat, mỡ động vật chứa nhiều acid béo no, lòng đỏ trứng, phủ tạng động vật như gan, óc, thận...

Nên ăn dầu thực vật, cá có nhiều acid béo không no, chất xơ, hoa quả, rau xanh, sữa đậu nành.

Phù hợp với tập quán ăn uống.

Duy trì hoạt động thể lực hằng ngày, giảm cân nếu thừa cân, bệnh nhân cần được tư vấn để được lựa chọn những môn thể thao phù hợp với điều kiện kinh tế, thể lực, và tình trạng bệnh tật [56].

#### **1.1.3.5.2. Thuốc điều trị đái tháo đường theo Y học hiện đại**

- *Insulin*: là hormon gây hạ glucose máu do tuyến tụy bài tiết. Trong cơ thể, insulin sẽ gắn với receptor đặc hiệu hoạt hóa hệ thống vận chuyển glucose ở màng tế bào (GLUT), làm cho glucose đi vào trong tế bào đặc biệt là tế bào gan, cơ và mỡ [24]

- *Nhóm kích thích bài tiết insulin* [49].

+ Dẫn xuất sulfonylurea (sulfamid hạ đường huyết): Tác dụng trên receptor bề mặt  $K^+$  ATPase của tế bào  $\beta$  đảo tụy làm mở kênh  $Ca^{2+}$ , kích thích giải phóng insulin ra ngoài. Đồng thời, thuốc còn làm tăng số lượng và tăng tính nhạy cảm receptor của insulin ở bạch cầu đơn nhân, tế bào mỡ, hồng cầu và ức chế insulinase, ức chế sự kết hợp insulin với kháng thể kháng insulin và sự gắn với protein huyết tương [49].

+ Loại giống Sulfonylure (meglitinid): giúp kiểm soát sự tăng đường máu sau bữa ăn ở bệnh nhân ĐTD typ 2 do có khả năng gắn nhanh và tách nhanh khỏi receptor đặc hiệu nên kích thích bài tiết insulin nhanh

- *Nhóm làm tăng nhạy cảm của tế bào đích với insulin*

+ Dẫn xuất biguanid: (metformin) tác dụng thông qua sự tăng dung nạp glucose, ức chế sự tân tạo glucose, tăng tổng hợp glycogen ở gan và tăng tác dụng của insulin ở ngoại vi, hạn chế sự hấp thu ở ruột [36],[42]

- + Các thuốc khác: nhóm thiazolidinedion, pioglitazone, rosiglitazone...
- *Thuốc làm giảm hấp thu glucose ở ruột*: ức chế  $\alpha$ -glucosidase ở niêm mạc ruột non, làm giảm sự hấp thu của ruột với tinh bột, dextrin và các disaccharid [44]. Một số thuốc như: acarbose, miglitol
- *Thuốc có tác dụng giống incretin*: liraglutid, exenatid, albiglutid... các thuốc này kích thích giải phóng insulin, ức chế tế bào  $\alpha$  bài tiết glucagon, làm giảm độ rộng dạ dày.
- *Thuốc ức chế enzym phân hủy incretin*: DPP-4 là enzym phá hủy GLP-1 do đó làm tăng nồng độ GIP và GLP-1 trong máu [45].
- *Thuốc ức chế sodium - glucose cotransporter 2 (SGLT2)*: ức chế sự tái hấp thu glucose ở thận, tăng lượng glucose thải ra ngoài qua nước tiểu vì vậy làm giảm nồng độ glucose máu. Các thuốc hiện nay như: canagliflozin, dapagliflozin, empagliflozin...

#### **1.1.4. Đại cương bệnh đái tháo đường theo theo Y học cổ truyền**

##### **1.1.4.1. Định nghĩa**

Trong YHCT không có bệnh danh đái tháo đường, nhưng đối chiếu với các chứng trạng biểu hiện trên lâm sàng của bệnh này là ăn nhiều, uống nhiều, tiểu nhiều, gầy nhiều thì bệnh được quy vào phạm vi chứng “Tiêu khát” của y học cổ truyền, một chứng bệnh đã được nói đến rất sớm trong các y thư cổ như *Hoàng đế nội kinh*, *Linh khu*, *Thiên kim yếu phương*... [11].

##### **1.1.4.2. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh:**

Theo YHCT nguyên nhân chủ yếu của chứng Tiêu khát đến từ những yếu tố thuận lợi như:

- Do *bẩm tố cơ thể* là âm hư, ngũ tạng suy nhược, có yếu tố thuận lợi như uất giận kéo dài dẫn tới khí uất hoá Hoả làm tổn thương phần âm của phế vị...
- Do *ẩm thực bất tiết* như ăn nhiều thức ăn béo, ngọt dẫn đến Tỳ Vị tích nhiệt đưa tới Vị Hoả và nhiều loạn lên trên cũng làm tổn thương phần âm của Phế.
- *Người lao lực quá độ, tình chí không điều hoà* do công việc hoặc quan hệ nam nữ không điều độ, tinh thần bị kích thích kéo dài... khiến cho Khí cơ uất kết hoá Hoả, đốt tiêu mất Tân âm của Phế, đều đưa đến tổn thương tân dịch, làm Thận âm hư, Thận thuỷ là gốc của phần âm trong cơ thể, hậu quả sẽ là Thận hư, Phế táo, Vị nhiệt mà dẫn đến chứng tiêu khát.



Như vậy, vấn đề then chốt dẫn đến chứng bệnh Tiêu khát là Phế táo, Vị nhiệt, Thận hư mà bản chất là phần âm bị suy giảm [29].

#### 1.1.4.3. Phân thể bệnh:

Bản chất của chứng bệnh này theo YHCT là miệng khát dẫn đến uống nhiều, ăn nhiều mà người gầy sút, người bệnh đi tiểu nhiều. Lấy ba bộ vị: *Thượng tiêu*, *Trung tiêu*, *Hạ tiêu* mà phân tích để đưa ra phương pháp điều trị. Trên thực tế lâm sàng triệu chứng của ba bộ vị này thường kết hợp với nhau, chỉ biểu hiện các triệu chứng này nặng, nhẹ khác nhau ở mỗi thể [29]

#### 1.1.4.4. Điều trị đái tháo đường theo Y học cổ truyền

Về điều trị YHCT cũng phân chia thành 3 thể: *Thượng tiêu* (tâm và phế), *Trung tiêu* (vị và vị) và *Hạ tiêu* (can, thận, tiểu trường, đại trường và bàng quang).

+ *Thể Thượng tiêu* (phế nhiệt thương tân): Phiền nhiều, khát nhiều, uống nước nhiều, miệng khô, lưỡi ráo, đi tiểu nhiều, đầu lưỡi và thành lưỡi đỏ, rêu lưỡi vàng mỏng, mạch hồng sắc.

Pháp điều trị: thanh nhiệt, nhuận phế, sinh tân, chỉ khát.

+ *Thể Trung tiêu* (vị nhiệt đốt mạnh): ăn nhiều, dễ đói, người gầy róc, đại tiện khô táo, rêu lưỡi vàng khô, mạch hoạt thực, có lực.

Pháp điều trị: thanh vị, tả hỏa, dưỡng âm, tăng dịch.

+ *Thể hạ tiêu* (thận âm suy yếu): Đi tiểu nhiều lần, lượng nhiều, cặn đục như nước mỡ, nước tiểu ngọt, lưỡi khô, miệng khô khát, uống nhiều nước. Ngũ tâm phiền nhiệt (lòng bàn tay, bàn chân nóng và ngực có cảm giác nóng), đầu vầng đau, lưng gối đau mỏi, mạch trầm tế sắc.

Pháp điều trị: tư âm, bổ thận, sinh tân thanh nhiệt.

- Tình hình nghiên cứu và ứng dụng thuốc Y học cổ truyền trong điều trị:

Tên dược liệu	Tác giả	Kết quả
Giảo cổ lam ( <i>Gynostemma Pentaphyllum Thunb</i> ) [16]	Đào Văn Phan, Nguyễn Khánh Hòa và Nguyễn Duy Thuần (2003)	Phanoside có trong dịch chiết giảo cổ lam có tác dụng hạ glucose máu mạnh trên động vật thực nghiệm
Cây dứa cạn ( <i>Catharanthus roseus</i> ) [5]	Nguyễn Tiến Dũng (2006)	Bột chiết cây dứa cạn có tác dụng hạ glucose máu trên chuột nhắt gây ĐTĐ
Thân rễ chuối hột ( <i>Musa seminifera Lour.</i> - Musaceae) [21]	Hà Thị Xuân Thu (2010)	Bột thô thân rễ chuối hột có tác dụng hạ glucose máu trên chuột nhắt gây ĐTĐ
Diệp hạ châu đắng ( <i>Phyllanthus niruri</i> ) [53]	Okoli C.O và cộng sự (2011)	Dịch chiết methanol của diệp hạ châu đắng có tác dụng hạ glucose máu ở chuột gây ĐTĐ
Rễ cây chóc máu nam ( <i>Salaciacochinchinensis Lour., Celastraceae</i> ) [18]	Đỗ Thị Nguyệt Quế (2013)	Dịch chiết rễ cây chóc máu nam có tác dụng hạ glucose máu trên chuột nhắt và chuột cống gây ĐTĐ
Cây lược vàng ( <i>Callisia fragrans</i> ) [4]	Hồ Mỹ Dung (2017)	Dịch chiết cây lược vàng có tác dụng hạ glucose máu trên chuột nhắt gây ĐTĐ

## 1.2. CẤU TRÚC CHỨC NĂNG SINH LÝ CỦA GAN VÀ TỔN THƯƠNG GAN THƯỜNG GẶP

### 1.2.1. Cấu trúc gan

Gan là 1 tạng lớn nhất trong cơ thể, chia làm 4 thùy: thùy trái, thùy phải, thùy đuôi và thùy vuông. Mỗi thùy được cấu tạo bởi những tiểu thùy. Có nhiều cách xác định tiểu thùy gan với các tên gọi khác nhau. Tiểu thùy gan có hình lục giác, ở giữa có tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy. Trong tiểu thùy gan, các tế bào gan xếp thành bè và gồm 2 hàng tế bào tỏa ra từ tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy ra ngoại vi. Giữa các tế bào

gan là xoang tĩnh mạch được lót bằng lớp tế bào nội mạc và các tế bào Kupffer. Các tế bào nội mạc và tế bào Kupffer hình thành những nhung mao của tế bào gan để tạo nên khoang Disse, nơi diễn ra quá trình trao đổi chất giữa tế bào gan và máu trong xoang mạch.

Trong tế bào gan có chứa nhiều ty thể, tại đó chứa các enzym phosphoryl và oxy hóa khử. Các thành phần góp phần vào chức năng sinh lý của tế bào gan như lysosom, nhân, màng nhân. Khi tế bào gan bị tổn thương, những thành phần này biến đổi ảnh hưởng đến chức năng của tế bào gan.

### **1.2.2. Chức năng sinh lý của gan**

#### **1.2.2.1. Chức năng chuyển hóa**

Chuyển hóa glucid: gan tổng hợp glycogen từ glucose và các ose khác nhờ hệ enzym của gan. Thoái hóa glucose theo con đường đường phân, con đường hexose monophosphat, đây chính là trung tâm chuyển hóa glucid và điều hòa đường huyết. Bên cạnh đó gan còn tổng hợp heparin – một chất chống đông máu tự nhiên có bản chất là polysaccharid, chuyển glucose thành acid glucuronic – một chất có vai trò là chất liên hợp, thực hiện chức năng khử độc của gan.

Chuyển hóa lipid: gan là nơi duy nhất sản xuất muối mật để nhũ tương hóa lipid, tạo điều kiện thuận lợi cho việc tiêu hóa. Tổng hợp các phospholipid giúp vận chuyển mỡ ra khỏi gan, tránh việc ứ đọng mỡ. Nếu chức năng gan giảm dẫn tới tình trạng ứ mỡ ở gan. Ngoài ra, gan còn giúp tổng hợp cholesterol từ acetyl-CoA.

Chuyển hóa protein: gan tổng hợp toàn bộ albumin và 1 phần globulin cho huyết thanh, tổng hợp fibrinogen cho huyết tương. Nếu chức năng gan giảm thì nồng độ protein toàn phần trong huyết thanh đặc biệt là albumin sẽ suy giảm.

#### **1.2.2.2. Chức năng tạo mật**

Mật được tiết ra từ tế bào gan đưa xuống túi mật qua ống dẫn mật. Vai trò của mật là nhũ tương hóa lipid trong thức ăn. Nếu gan bị tổn thương sẽ ảnh hưởng đến quá trình tạo mật và bài xuất mật, ảnh hưởng đến tiêu hóa, hấp thu vitamin tan trong dầu...

#### **1.2.2.3. Chức năng khử độc**

Khử độc là một trong những chức năng chính của gan. Trong cơ thể gan khử độc theo 2 cơ chế: cơ chế hóa học và cơ chế cố định thải trừ. Các chất độc được giữ lại ở gan rồi được gan thông qua các phản ứng hóa học chuyển các chất ở dạng tan trong lipid thành dạng tan trong nước dễ dàng thải trừ qua đường mật và thận. Ngoài ra,

thuốc và chất độc có thể giữ nguyên trạng thái không bị biến đổi về mặt hóa học sẽ thải trừ ra ngoài qua đường mật.

### **1.2.3. Những tổn thương gan thường gặp**

#### **1.2.3.1. Tổn thương gan do nhiễm độc cấp**

Nguyên nhân có thể gặp là do ngộ độc hóa chất, nấm độc, độc tố thực phẩm, các hợp chất asen hữu cơ, chất độc chiến tranh. Ngoài ra, có trường hợp do người bệnh dùng nhầm thuốc.

Gan là nơi chuyển hóa nhiều loại thuốc, các thuốc sau chuyển hóa sẽ tạo thành các sản phẩm ít độc, ít tan trong nước, có tính phân cực cao được đào thải ra ngoài. Tuy nhiên, 1 số thuốc sau khi được chuyển hóa tại gan sẽ tạo ra sản phẩm độc với gan, gây tổn thương tế bào gan như: paracetamol, isoniazid, erythromycin,...

Paracetamol (PAR) là một thuốc hạ sốt, giảm đau. Ở liều điều trị thường không gây độc cho gan, nhưng khi dùng liều lượng quá cao sẽ gây tổn thương cho tế bào gan. Paracetamol được cho là nguyên nhân hàng đầu gây tổn thương gan ở Mỹ. Ước tính có 56.000 ca cấp cứu và 5000 người tử vong mỗi năm, trong đó 50% là do quá liều [46],[78]. Khi thuốc vào trong cơ thể sẽ tạo ra các chất trung gian chuyển hóa và tăng sinh gốc tự do. Những chất trung gian chuyển hóa sẽ tạo liên kết đồng hóa trị với protein của tế bào gây tổn thương tế bào gan ở các mức độ khác nhau.

#### **1.2.3.2. Tổn thương gan do nhiễm độc mạn tính**

Viêm gan mạn tính là một tình trạng viêm hoại tử tế bào gan ở các mức độ khác nhau, có hoặc không kèm theo xơ hóa gan diễn ra trong thời gian 6 tháng [8]. Gần đây, nhờ các kỹ thuật chẩn đoán đặc biệt là mô bệnh học, viêm gan mạn tính được chia làm các mức độ: nhẹ, vừa, nặng. Bên cạnh đó, dựa vào nguyên nhân gây bệnh người ta chia làm các loại viêm gan mạn tính:

- Viêm gan mạn tính do virus
- Viêm gan mạn tính do thuốc hoặc do hóa chất
- Viêm gan mạn tính tự miễn
- Viêm gan mạn tính tiềm tàng
- Viêm gan do rượu

#### **1.2.4. Một số xét nghiệm thường dùng đánh giá tổn thương gan**

Các tế bào nhu mô gan phản ứng rất nhanh và nhạy với các tác nhân có hại. Khi các tế bào gan bị tổn thương, các xét nghiệm về enzym nguồn gốc gan thay đổi rất sớm và có tính chất đặc trưng. Để đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan, người ta thường định lượng hoạt độ của các enzym có nguồn gốc gan trong huyết thanh, quan trọng nhất là AST, ALT. Sự tăng hoạt độ các enzym này thường gắn liền với độc tính của thuốc do tổn thương tế bào gan [26].

AST (aspartat aminotransferase) là enzym có ở hầu hết các mô, nhiều hơn ở mô cơ tim, gan và cơ vân, một phần khu trú ở bào tương và 2/3 trong ty thể. Dạng ty thể của AST tìm thấy chủ yếu ở gan.

ALT (alanin amnotransferase) cũng có ở mọi mô cao nhất là ở gan và cơ tim, còn ở xương thì ít rõ rệt. ALT khu trú chủ yếu ở trong bào tương của tế bào. Khi tổn thương tế bào gan, thậm chí chỉ cần thay đổi tính thấm của màng, hoạt độ ALT trong máu đã tăng cao [10].

Ngoài ra, các enzym khác trong huyết thanh cũng dùng để đánh giá tổn thương gan:  $\gamma$ -glutamyltransferase (GGT), lactat dehydrogenase (LDH), Glutamat dehydrogenase (GLDH), phosphatase kiềm (ALP)... [10],[26].

#### **1.2.5. Các thuốc có tác dụng bảo vệ gan**

Các thuốc bảo vệ gan (hepatoprotective drugs) có tác dụng duy trì sự ổn định của tế bào gan, làm cho tế bào gan vững bền trước sự tấn công của các tác nhân gây bệnh. Để bảo vệ được tế bào gan, các thuốc có thể tác dụng theo nhiều cơ chế như:

- Hạn chế sự có mặt của tác nhân gây bệnh bằng cách ngăn cản sự chuyển hóa của thuốc thành các chất độc với gan
- Dọn sạch các gốc tự do khi đã được hình thành.
- Làm vững bền màng tế bào giúp tăng cường sức chống đỡ đối với các tác nhân gây bệnh.

Hiện nay một số thuốc bảo vệ gan đã được nghiên cứu ứng dụng trong điều trị như: silymarin, biphenyl dimethyl dicarboxylat...

- Silymarin là một thuốc có nguồn gốc thực vật, được chiết từ quả cây cúc gai *Silybum marianum* L. hoặc *Carduus marianus* L. họ Cúc Asteraceace. Silymarin được dùng để phòng tổn thương tế bào do các gốc tự do, giảm quá

trình peroxy hóa lipid trong nhiễm độc mạn tính. Hỗ trợ làm chậm quá trình xơ hóa gan, tái tạo phục hồi tế bào gan do nhiễm độc hoặc do viêm [17]

- Biphenyl dimethyl dicarboxylat là một chất tổng hợp tương tự Schisandrin C được phân lập từ quả Ngũ vị tử - *Frutus schisandrae* làm vững bền tế bào gan nhờ ức chế sự peroxy hóa lipid bằng cách hủy các gốc tự do và mối liên kết cộng hóa trị giữa các chất gây độc cho gan, đồng thời gây cảm ứng enzym gan thúc đẩy sự chuyển hóa của các xenobiotic tại microsom gan [38]

Các dược liệu có tác dụng bảo vệ gan đã được nghiên cứu

- Nhân trần: là một vị thuốc thường dùng trong dân gian để chữa sốt, vàng da, bệnh viêm đường mật và bệnh phụ nữ sau sinh. Theo các tài liệu nghiên cứu về tác dụng dược lý, nhân trần có tác dụng tăng tiết mật, tăng thải độc gan, chống viêm kháng khuẩn [2],[12]
- Dành dành còn gọi là chi tử, sơn chi tử, đây là vị thuốc được dùng từ lâu trong Đông Y có tác dụng thanh nhiệt, tả hỏa, lợi tiểu, cầm máu dùng trong các bệnh có sốt, người bồn chồn khó ngủ, chảy máu cam.

Ngoài ra còn có các vị thuốc như nghệ, actiso, chàm tía [19], chó đẻ [23], nhó đông [31].

### **1.2.6. Điều trị bệnh lý gan theo y học cổ truyền**

Căn cứ vào các biểu hiện lâm sàng, người ta thấy giữa chứng Hoàng đản và các triệu chứng của bệnh lý tổn thương gan có sự tương đồng sâu sắc về bệnh nguyên, bệnh sinh và nguyên tắc trị liệu [11].

#### **1.2.6.1. Nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh Hoàng đản**

- Thấp nhiệt ở trung tiêu công năng thăng giáng, tỳ vị thất thường ảnh hưởng đến sự sơ tiết của can khí, đờm dịch không đi đúng đường thấm vào huyết dịch, tràn ra bì phu sinh bệnh.
- Thấp nhiệt kết hợp dịch độc xâm phạm cơ thể, bệnh diễn biến cấp, có thể lây lan, biểu hiện triệu chứng nghiêm trọng, nhiệt độc đốt mạnh gây tình trạng cấp hoàng.
- Ăn uống không điều độ, ăn phải thứ ôi thiu, no đói thất thường, uống quá nhiều rượu, làm tỳ vị tổn thương dẫn đến rối loạn vận hóa tỳ vị sinh ra thấp ú lại hóa nhiệt độc, bốc lên chung đốt can đờm, làm đờm không đi theo đường cũ mà tràn ra bì phu, bàng quang gây vàng da, vàng nước tiểu.

### 1.2.6.2. Điều trị

Trên lâm sàng dựa theo chứng trạng và diễn tiến, bệnh được chia làm các thể:

- Thể nhiệt nặng hơn thấp: da vàng, mắt vàng, sắc vàng tươi, sáng, phát sốt, khát nước, người bứt rứt khó chịu, lợm giọng, buồn nôn, tiểu ít, sắc vàng đậm, đại tiện táo, bụng chướng đầy, miệng khô đắng. Pháp điều trị: Thanh nhiệt, trừ thấp, thoái hoàng.
- Thấp nặng hơn nhiệt: mình, mắt đều vàng, sắc vàng không tươi, sáng. Nặng đầu, đau mình mẩy, ngực bụng đầy chướng, ăn uống giảm sút, lợm giọng, nôn, phân lỏng, rêu lưỡi vàng, nhờn, mạch huyền hoạt. Pháp điều trị: Lợi thấp, hóa trọc, thanh nhiệt.
- Cấp hoàng: Khởi phát nhanh, mạnh, cấp tính, mặt vàng, toàn thân sắc vàng tươi, sốt cao, phiền nóng, khát nước, sườn đau, bụng đầy chướng, lơ mơ, hôn mê... Pháp điều trị: Thanh nhiệt, lương huyết, tư âm.

## 1.3. MỘT SỐ MÔ HÌNH NGHIÊN CỨU TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM:

### 1.3.1. Mô hình ĐTĐ trên thực nghiệm

#### 1.3.1.1. Gây ĐTĐ bằng hóa chất

Các hóa chất thường được dùng gây ĐTĐ trên động vật có thể là alloxan (ALX), streptozotocin (STZ), dithizon... trong đó ALX và STZ được sử dụng nhiều hơn cả. Cả hai chất đều phá hủy tế bào  $\beta$  đảo tụy, gây tăng đường máu phụ thuộc liều dùng. Tuy nhiên, mô hình có sự khác nhau, ALX tuy có hoạt tính không ổn định nên hiệu quả gây ĐTĐ không cao song sẵn có và giá thành thấp hơn. STZ là 1 kháng sinh phổ rộng dùng để điều trị ung thư tế bào  $\beta$  đảo tụy, khả năng gây ĐTĐ trên động vật thực nghiệm ổn định hơn ALX, đồng thời ít gây nhiễm ceton và ít gây chết động vật hơn ALX song STZ hiện đang là hóa chất có giá thành khá cao khi sử dụng để gây mô hình trên thực nghiệm [43],[54],[79].

#### 1.3.1.2. Gây ĐTĐ typ 2 do chế độ dinh dưỡng

Mô hình gây kháng insulin bởi chế độ ăn giàu chất béo, sau đó gây thiếu hụt insulin bằng cách dùng STZ liều thấp gây tổn thương tụy [59]. Trên động vật thực nghiệm có sự kháng insulin biểu hiện tương tự như trên người: glucose máu tăng, thay đổi chỉ số lipid máu, thay đổi trong nồng độ insulin...

Ngoài ra trên thế giới cũng đã áp dụng một số mô hình nghiên cứu *in vitro* giúp hiểu sâu hơn về cơ chế tác dụng của thuốc ở cấp độ tế bào và phân tử [6],[42]. Hoặc có thể gây ĐTD typ 1 hoặc typ 2 di truyền cho động vật bằng phương pháp lai tạo và chọn giống, cắt bỏ tuyến tụy [42].

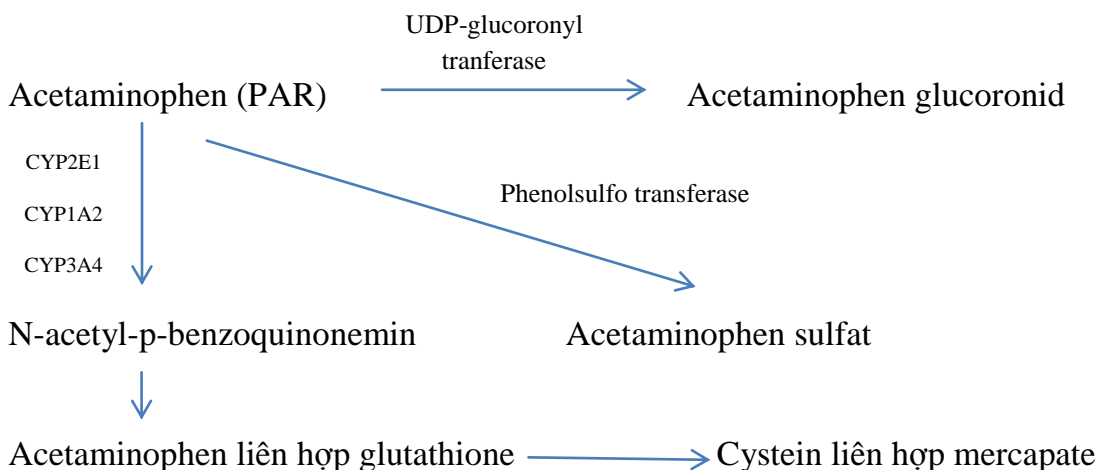
### 1.3.2. Mô hình dược lý gây tổn thương gan trên động vật thực nghiệm

#### 1.3.2.1. Gây viêm gan bằng Carbon tetrachlorid (CCl<sub>4</sub>)

Carbon tetrachlorid (CCl<sub>4</sub>) là 1 chất độc với gan đã được biết từ lâu. CCl<sub>4</sub> không trực tiếp gây độc cho gan mà được chuyển hóa ở microsom gan nhờ các Cytochrom P450, dưới nhóm CYP<sub>2E1</sub>, hình thành các gốc tự do là trichloromethyl (CCL<sub>3</sub><sup>\*</sup>), chính các gốc tự do này sẽ alkyl hóa protein và peroxy hóa lipid màng tế bào, dẫn tới hủy hoại tế bào gan [73].

#### 1.3.2.2. Gây viêm gan bằng paracetamol (PAR) liều cao

Trong cơ thể, paracetamol được chuyển hóa theo con đường sau:



#### Sơ đồ 1.1. Con đường chuyển hóa paracetamol trong cơ thể

PAR khi vào cơ thể 1 phần được chuyển hóa tạo ra các chất không có hoạt tính là acetaminophen glucuronid, phần khác chuyển hóa qua CYP tạo ra N-aceyl-p-benzoquinoneimine (NAPQI), NAPQI là một chất độc với tế bào, gắn vào protein tế bào gan gây viêm và hoại tử tế bào gan. Với liều điều trị, thì paracetamol không gây độc bởi 1 lượng nhỏ NAPQI tạo ra sẽ liên hợp với glutathion (GSH) – chất chống oxy hóa tự nhiên của cơ thể có sẵn ở gan với nồng độ rất cao, tạo thành hợp chất không gây độc. Khi dùng liều cao PAR > 10g/ngày, sau một thời gian tiềm tàng 24 giờ, lượng NAPQI sinh ra nhiều, lượng GSH trong gan không đủ để liên hợp oxy hóa hết chất độc, khi đó tế bào gan sẽ bị tổn thương [40].



Trên thực nghiệm một số tác giả gây viêm gan bằng 1 số hóa chất khác như ethanol, D-galactosamin (D-GaIN) [67],[70].

#### **1.4. TỔNG QUAN VỀ CÂY DÈN TOÒNG QUẢ DÀI.**

##### **1.4.1. Đặc điểm thực vật học**

Dền toòng quả dài có tên khoa học là *Gomphogyne bonii* Gagnep. thuộc họ Bầu bí (Cucurbitaceae). Cây còn có một số tên khác như: Dây gom, Đầu thư [3],[12].

Dền toòng quả dài (*Gomphogyne bonii* Ganep.) là loài cây thảo có thân mảnh có thể dài tới 3m, nhẵn hoặc có lông thưa, leo nhờ tua cuốn đơn ở nách lá, sống lâu năm. Cây đực và cây cái riêng biệt. Lá có hình bầu dục hoặc hình bán nguyệt, dài 4-9 cm, chiều ngang 1,5-4 cm. Lá mọc kép hình chân vịt, có cuống chung dài 2-7 cm, cuống nhỏ dài 0,4-0,8 cm. Phiến lá chét có màng, nhẵn, lông chỉ có trên các gân chính của lá, mép lá khía, răng cưa. Tua cuốn chẻ đôi, hoặc đôi khi tua cuốn lớn. Hoa mọc thành cụm, khác gốc, dạng chùy mảnh và dài. Hoa đực nhỏ, hình sao, màu tím hoặc trắng dài 5-15 cm, cánh hoa thuôn hẹp dài 3-3,5 mm, cuống nhỏ dài 2-3 mm, bao phấn dài 7 mm, đế hoa dài 1-1,5 mm, đài hoa dài 1,5-2 mm. Hoa cái cuống nhỏ thon, ít phân nhánh hoặc không phân nhánh, 4 hoa trên 1 cuống mảnh noãn hình trụ, có lông mịn. Quả khô, dài, có cuống nhỏ 0,5 - 0,7 cm, có hoặc không có gân nhỏ ở đầu quả, màu đen. Cây ra hoa tháng 7 đến tháng 8, có quả từ tháng 9 đến tháng 10, hạt ít, xếp thành 3 hàng trong quả [49],[74],[75].

##### **1.4.2. Phân bố địa lý**

Dền toòng quả dài mọc tự nhiên ở độ cao 300-3200m trên đất đá vôi, đá hoa cương và vùng đất núi lửa, trong rừng thưa, vùng đồng bằng đến vùng núi cao. Phân bố dọc theo phía đông dãy Himalayas (Ấn Độ) đến New Guinea trong đó có loài *Gomphogyne bonii* Ganep. phân bố chủ yếu ở Việt Nam và Trung Quốc [75].

Tại Việt nam có loài *Gomphogyne bonii* Ganep. với tên gọi là Dền toòng quả dài, phân bố ở các tỉnh vùng núi phía Bắc như Cao Bằng, Lạng Sơn, Bắc Cạn, Thái Nguyên.

Năm 2019, Nguyễn Thu Thảo thực hiện khóa luận tốt nghiệp với tên đề tài “Bước đầu nghiên cứu về thực vật và thành phần hóa học của cây quả dài (*Gomphogyne bonii* Gagnep.) thu hái ở Cao Bằng” đã có một số kết quả nghiên cứu về cây Dền toòng quả dài như sau:

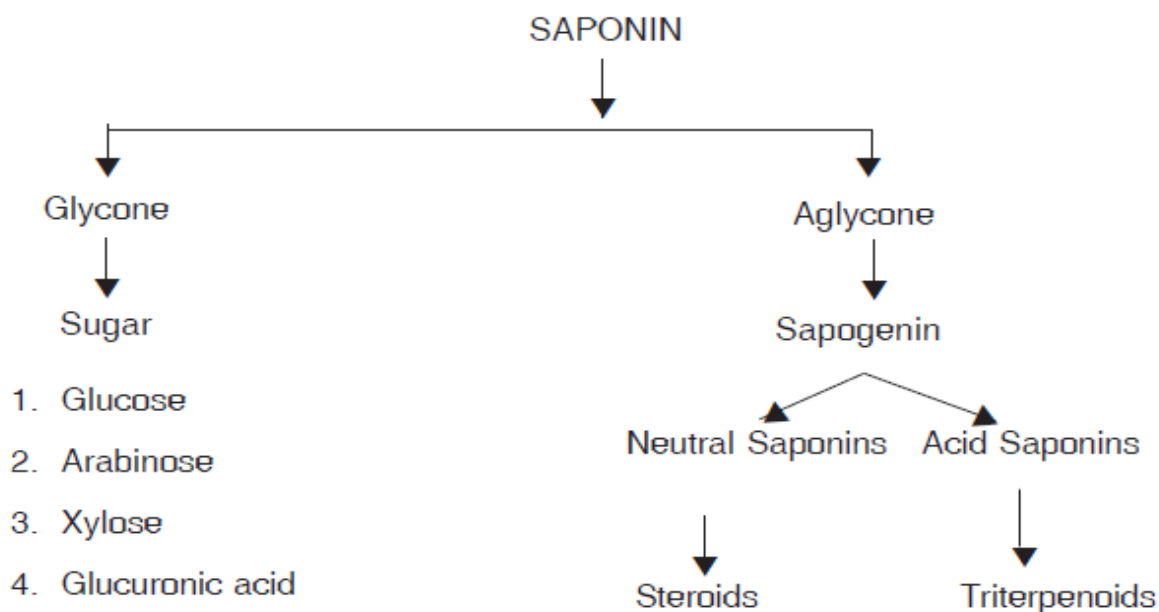
- Đã định tính sơ bộ thông qua các phản ứng hóa học và sắc kí lớp mỏng xác định trong bộ phận trên mặt đất của cây Dền tồng quả dài có chứa các nhóm chất: saponin, polyphenol (flavonoid,...), sterol.

- Định lượng polyphenol tổng có trong mẫu nghiên cứu bằng phương pháp đo quang phổ tử ngoại khả kiến là 43,83% tính theo chất chuẩn là acid gallic.

- Định lượng saponin toàn phần trong mẫu nghiên cứu bằng phương pháp đo quang phổ tử ngoại khả kiến là 1,45% tính theo chất chuẩn là Rb1 (Một Saponin triterpenic đã biết) [20].

Saponin là một nhóm các hợp chất có ở nhiều loài thực vật khác nhau. Tên gọi được dùng để chỉ nhóm glycosid khi hòa tan vào nước có tác dụng làm giảm sức căng bề mặt của dung dịch và tạo bọt. Các nhà khoa học Nhật Bản đã xác định, *G. pentaphyllum* có hơn 100 dẫn xuất saponin gọi chung là gypenosid hay gynosaponin có cấu trúc triterpen khung dammaran. Các saponin bao gồm có phần aglycon liên kết với một hoặc nhiều chuỗi carbohydrat. Khung triterpen dammaran của các aglycon saponin có thể có mạch nhánh hở hoặc mạch nhánh vòng, gồm hai nhóm lớn là saponin triterpen và saponin steroid.

Nhiều hợp chất saponin đã được xác định có cấu trúc tương tự với các saponin có trong nhân sâm và tam thất. Ginsenosid của nhân sâm cũng được cô lập là các triterpen saponin có khung protopanaxadiol ginsenosid Rb1, Rb3, Rd, F2, Rg3, malonyl-Rb1, malonyl-Rd và một ginsenosid có khung protopanaxatriol là ginsenosid Rf. Gypenosid XVII, IX (cũng là notoginsenosid Fd) và XV cũng được tìm thấy trong cây tam thất P. notoginseng, trong khi gypenoside XVII và IX được tìm thấy trong cây sâm Mỹ P. quinquefolium.



Hình 1.2. Phân loại các saponin

Về hoạt tính sinh học saponin có tác dụng bồi bổ tăng cường sinh lực như saponin có trong họ nhân sâm, long đờm, giảm ho (saponin có trong cam thảo, viễn chí), giảm đau nhức xương, hạ cholesterol máu [65]. Bên cạnh đó, năm 2004, tác giả Åke Norberg và các cộng sự, trong đó có các nhà khoa học Việt Nam đã cô lập được một gypenosid mới, đặt tên là phanosid có tác dụng kích thích tạo ra insulin (in vitro) [52]. Nghiên cứu sâu hơn cho thấy gypenosid ức chế hoạt tính và sự sao chép gen iNOS bằng cách giảm hoạt tính của NF-kB. Sự ức chế sinh tổng hợp NO bằng cách ức chế sự thể hiện gen của iNOS hoặc hoạt tính của nó là một mục tiêu quan trọng trong việc điều khiển một số bệnh lý như viêm và xơ cứng động mạch [47].

Các flavonoid là dẫn xuất phenol là những sắc tố có mặt rộng rãi trong giới thực vật. Vai trò của flavonoid trong tế bào thực vật là do chúng có khả năng tạo chelat với nhiều ion kim loại khác nhau, đồng thời tham gia vào quá trình vận chuyển điện tử, phản ứng với các gốc tự do, liên kết với các enzym làm thay đổi hoạt tính của các enzym.

Flavonoid có rất nhiều hoạt tính sinh học khác nhau. Ngoài tác dụng chống khối u (enpatin), tăng cường sức bền thành mạch (rutin), hay các tác dụng tương tự estrogen (glycoside quercetin) thì flavonoid còn đóng một vai trò rất quan trọng trong việc ngăn ngừa sự hủy hoại cấu trúc và chức năng gan và làm hạ glucose trong máu chống viêm, chống dị ứng, hạ lipid máu [32],[51].

## Chương 2

### ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Chất liệu nghiên cứu

##### 2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

+ Mẫu nghiên cứu: Dược liệu nghiên cứu là phần trên mặt đất của cây Dền toồng quả dài được thu hái tại huyện Trùng Khánh, tỉnh Cao Bằng tháng 10 năm 2018. Mẫu nghiên cứu đã được xác định tên khoa học là *Gomphogyne bonii* Gagnep., thuộc họ Bí (Cucurbitaceae) trong một nghiên cứu trước của nhóm tác giả [22].

Toàn cây DTQD thu hái về được cắt thành những đoạn nhỏ dài 2-3 cm, phơi khô ở nhiệt độ 50°C, bảo quản trong túi nilon đến khi sử dụng.

+ Chuẩn bị mẫu nghiên cứu: 1 kg DTQD (đã tính độ ẩm của dược liệu) được chiết với 3 lít nước ở nhiệt độ sôi trong 1h, lọc lấy dịch chiết nước và lặp lại thêm 2 lần. Gộp các dịch chiết nước, cô trên nồi cách thủy và điều chỉnh để thu được 1000ml dịch chiết (1ml dịch chiết tương đương 1g dược liệu); đây là mẫu thuốc để thử tác dụng trên đường huyết và tác dụng bảo vệ gan, tùy theo liều sử dụng mà cô đặc hoặc pha loãng thêm.



**Hình 2.1.** Ảnh cây Dền toồng quả dài (*Gomphogyne bonii* Gagnep.), hoa và quả

### 2.1.2. Hóa chất và máy móc phục vụ nghiên cứu.

#### 2.1.2.1. Hóa chất phục vụ nghiên cứu

- Alloxan lọ 1g của hãng Sigma-Aldrich, Singapore
- Gliclazid (Diamicron) viên nén 30mg của hãng Servier, Pháp.
- Nước cất (tự chưng cất), dung dịch formol.
- Silymarin viên nang 70 mg do Công ty STADA-VN sản xuất
- Paracetamol viên nén sủi bọt 500 mg (biệt dược Efferalgan), do công ty Sanofi-Aventis sản xuất.
- Dung dịch CMC 0,5% (dung môi pha silymarin)
- Kít định lượng các enzym và chất chuyển hóa trong máu: ALT (alanin aminotransferase), AST (aspartat aminotransferase), bilirubin toàn phần, albumin, cholesterol toàn phần, creatinin của hãng Erba (Đức).
- Các hóa chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học.

#### 2.1.2.2. Máy móc phục vụ nghiên cứu

- Máy thử đường huyết On Call EZII (hãng ACON Biotech, Mỹ, số máy REFG113-152)
- Que thử On Call Plus dùng cho máy On Call EZII
- Máy xét nghiệm sinh hóa bán tự động Erba Chem 5 V3 của Đức.
- Máy xét nghiệm huyết học ABX Micros ES 60 của Pháp.
- Máy li tâm lạnh EBA 20 (hãng Hettich, Đức, số máy 20)
- Cân kỹ thuật LX 2200C (hãng Precisa, Thụy Sĩ, số máy 7200474)
- Cân phân tích LX 220A (hãng Precisa, Thụy Sĩ, số máy 7000480)
- Bộ phẫu tích: kéo, kẹp, dao, dụng cụ làm giải phẫu bệnh

### 2.2. Đối tượng nghiên cứu: Động vật thực nghiệm

<i>Động vật thực nghiệm</i>	<i>Tiêu chuẩn</i>	<i>Nghiên cứu</i>
Chuột nhắt trắng chủng <i>Swiss</i>	Giống đực, khỏe mạnh, trọng lượng 20 - 25g	Tác dụng hạ glucose máu trên chuột nhắt gây ĐTĐ typ 2
	Khỏe mạnh, cả hai giống, trọng lượng 20 ± 2g	Tác dụng bảo vệ gan

Động vật được nuôi 5-7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu trong điều kiện phòng thí nghiệm với đầy đủ thức ăn và nước uống tại Bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội.

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.3.1. Nghiên cứu tác dụng hạ glucose máu trên chuột nhắt gây mô hình ĐTĐ typ 2

Mục đích thí nghiệm: Đánh giá tác dụng hạ glucose máu của dược liệu Dền toong quả dài ở liều 4g dược liệu/kg/ngày và liều 12g dược liệu/kg/ngày khi uống liên tục mẫu thử trong 2 tuần trên chuột nhắt được gây mô hình ĐTĐ typ 2. Đánh giá hình ảnh mô bệnh học gan, tụy kèm theo.

Động vật thực nghiệm: Chuột nhắt trắng giống đực được nuôi ổn định 1 tuần trước khi nghiên cứu. Thí nghiệm gồm 2 giai đoạn:

a) Giai đoạn 1: Nuôi béo 8 tuần.

Trước khi nghiên cứu, tất cả các chuột được định lượng glucose máu lúc đói lần 1 (tt). Chuột được cho ăn theo chế độ tiêu chuẩn và uống nước đầy đủ

+ Nhóm 1: Chứng sinh học (10 con): chế độ ăn cám thường (NFD)

+ Nhóm 2: Mô hình (70 con): chế độ ăn cám béo (HFD).

**Gây mô hình ĐTĐ typ 2: Theo phương pháp của Fabiola và Srinivasan [64], [68].**

**Bảng 2.2. Chế độ ăn NFD và HFD tính trên 100g thức ăn.**

	Chế độ ăn bình thường (%) (NFD)	Chế độ ăn giàu chất béo (%) (HFD)*
Protein	28,05	18,23
Chất béo no	12,14	42,89
Carbohydrat	59,81	38,88
Tổng (gam)	100	100
Năng lượng (kcal)	467,5	614,5

\*Siro fructose 55% (Daesang Corporation) được trộn thêm trong thức ăn của chuột nhắt có chế độ ăn HFD.

Sau 8 tuần nuôi béo, tất cả chuột ở hai nhóm được định lượng đường máu lúc đói lần 2 (ts). Chuột ở nhóm mô hình được tiêm màng bụng ALX liều 180 mg/kg liều duy nhất. Chuột ở nhóm chứng sinh học (lô 1) tiêm nước muối sinh lý 0,9% đây là dung môi pha ALX.

Sau 72 giờ, định lượng đường máu lúc đói tất cả các chuột nhóm mô hình (t<sub>0</sub>), chọn các con bị ĐTĐ (có glucose máu lúc đói  $\geq 8$  mmol/l) chia thành 4 lô từ lô 2 đến lô 5 tham gia nghiên cứu giai đoạn 2

b) Giai đoạn 2: Đánh giá tác dụng của thuốc nghiên cứu. Chuột được chia vào 5 lô nghiên cứu, mỗi lô 10 con

- Lô 1: Lô chứng: Chế độ NFD + tiêm nước muối sinh lý 0,9 % + uống nước cất
- Lô 2: Chế độ HFD + tiêm ALX liều 180 mg/kg + uống nước cất
- Lô 3: Chế độ HFD + tiêm ALX liều 180 mg/kg + uống gliclazid liều 80 mg/kg pha trong nước cất
- Lô 4: Chế độ HFD + tiêm ALX liều 180 mg/kg + uống Dền toòng quả dài liều 4g/kg/ngày
- Lô 5: Chế độ HFD + tiêm ALX liều 180 mg/kg + uống Dền toòng quả dài liều 12g/kg/ngày

**\* Đánh giá tác dụng hạ glucose máu của thuốc:**

Chuột lô 1 và 2 được uống nước cất liên tục trong 2 tuần. Chuột lô 3 đến 5 uống thuốc thử liên tục trong 2 tuần.

Sau đó lấy máu toàn phần từ đuôi chuột, tiến hành định lượng glucose máu tại các thời điểm t<sub>1</sub> (sau 1 tuần uống thuốc), t<sub>2</sub> (sau 2 tuần uống thuốc). Sau 2 tuần uống thuốc, ngoài glucose máu, đồng thời mổ chuột lấy gan, tụy để đánh giá cân nặng, đại thể, vi thể 30% số chuột mỗi lô.

**2.3.2. Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của Dền toòng quả dài trên thực nghiệm**

Chuột nhắt trắng, được chia ngẫu nhiên thành 5 lô như sau:

- Lô 1 (chứng sinh học): uống nước cất, 0,2 mL/10 g.
- Lô 2 (mô hình): uống nước cất 0,2 mL/10g + paracetamol 400 mg/kg
- Lô 3 (chứng dương): uống silymarin 140 mg/kg + paracetamol 400 mg/kg
- Lô 4: uống Dền toòng quả dài liều 4g/kg + paracetamol 400 mg/kg
- Lô 5: uống Dền toòng quả dài liều cao 12g/kg + paracetamol 400 mg/kg

Chuột được cho uống thuốc thử hoặc nước cất liên tục vào các buổi sáng trong 10 ngày. Đến ngày thứ 10, sau khi uống thuốc thử 3 giờ (chuột được nhịn đói 16-18 giờ trước đó), tiến hành gây tổn thương tế bào gan bằng cách cho chuột từ lô 2 đến lô 5 uống paracetamol liều 400 mg/kg. Sau 48 giờ gây độc bằng paracetamol:

Lấy máu động mạch cảnh chuột để đo hoạt độ enzym AST, ALT

Lấy gan

Cân trọng lượng gan

Quan sát hình ảnh đại thể của gan ở các lô chuột

Giải phẫu mô bệnh học gan của 30% số chuột mỗi lô.

#### 2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được nhập và xử lý bằng phương pháp và thuật toán thống kê y sinh học trên phần mềm Microsoft office Excel 2013. Số liệu được biểu diễn dưới dạng  $\bar{X} \pm \overline{SD}$ . Kiểm định các giá trị bằng t-test Student hoặc test trước-sau (Avant – Après). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi  $p \leq 0,05$ .

<i>Chú thích:</i>	$p \leq 0,05$	$p \leq 0,01$	$p \leq 0,001$
<i>Khác biệt so với lô chứng sinh học</i>	*	**	***
<i>Khác biệt so với lô mô hình</i>	+	++	+++

#### 2.5. Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành tại: Bộ môn Dược liệu – Dược cổ truyền, Học Viện Y Dược cổ truyền Việt Nam và Bộ môn Dược lý – Trường Đại học Y Hà Nội.

Các xét nghiệm vi thể được thực hiện tại Trung tâm Nghiên cứu và phát hiện sớm ung thư (do PGS.TS. Lê Đình Roanh đọc kết quả vi thể).



### Chương 3

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 3.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng hạ glucose máu

#### 3.1.1. Sự thay đổi cân nặng ở mô hình chuột gây béo phì

**Bảng 3.1. Ảnh hưởng của Dền toòng quả dài đến thể trọng chuột**

Thời gian	Trọng lượng (g) $(\bar{X} \pm SD)$		p so với nhóm 1
	Nhóm 1 (chúng sinh học) (n=10)	Nhóm 2 (Mô hình ăn béo) (n=70)	
Trước nghiên cứu	28,30 ± 2,50	28,48 ± 2,64	> 0,05
Sau 4 tuần	35,90 ± 4,28 ***	50,91 ± 5,70 ***	< 0,001
% tăng thể trọng	<b>34,9</b>	<b>78,8</b>	
Sau 6 tuần	40,70 ± 5,38 ***	55,09 ± 6,85 ***	< 0,001
% tăng thể trọng	<b>43,8</b>	<b>93,4</b>	
Sau 8 tuần	36,90 ± 4,79 ***	58,98 ± 7,37 ***	< 0,001
% tăng thể trọng	<b>30,4</b>	<b>107,1</b>	

\*\*\* : p < 0,001: So sánh với thời điểm trước nghiên cứu

**Nhận xét:**

- Sau 4 tuần, 6 tuần và 8 tuần, trọng lượng của các nhóm đều tăng rõ rệt so với trước nghiên cứu, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p < 0,001
- Sau 4 tuần, 6 tuần và 8 tuần, trọng lượng chuột của nhóm ăn chế độ béo (chế độ ăn 40% năng lượng là lipid + 55% fructose) tăng rõ rệt so với nhóm chúng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( p < 0,001 ).

#### 3.1.2. Tác dụng của Dền toòng quả dài trên chuột nhắt gây mô hình ĐTD typ 2

**Bảng 3.2. Sự biến đổi nồng độ glucose máu chuột nhắt trắng gây mô hình ĐTĐ typ 2**

<i>Thời gian</i>	Glucose máu (mmol/L) ( $\bar{X} \pm SD$ )		p so với nhóm 1
	Nhóm 1 (chứng sinh học) (n=10)	Nhóm 2 (Mô hình ăn béo) (n=70)	
Trước nghiên cứu	4,80 ± 0,88	5,25 ± 1,42	> 0,05
Sau 8 tuần	4,95 ± 0,85	7,13 ± 1,96	< 0,01
Sau tiêm ALX 72 <sup>h</sup>	5,35 ± 0,65	10,60 ± 2,76 *** ( $\Delta\Delta\Delta$ )	< 0,001

\*\*\*: p < 0,001: p so với trước nghiên cứu

$\Delta\Delta\Delta$ : p < 0,001: p so với thời điểm sau 8 tuần

**Nhận xét:**

- Nồng độ glucose máu ở tất cả các thời điểm nghiên cứu của chuột ở nhóm 1 thay đổi không có sự khác biệt.
- Sau khi ăn thức ăn giàu chất béo 8 tuần nồng độ glucose máu của chuột ở nhóm 2 tăng so với nồng độ glucose máu ở nhóm 1, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,01)
- Sau 72 giờ tiêm ALX, nồng độ glucose máu ở nhóm 2 đã tăng cao rõ rệt so với nhóm 1 (p < 0,001) và so với thời điểm trước khi tiêm ALX (p < 0,001)

**Bảng 3.3.** Ảnh hưởng của Dền toồng quả dài đến nồng độ glucose máu của chuột ĐTĐ typ 2 sau 2 tuần nghiên cứu

Thời gian	Nồng độ glucose máu (mmol/l) $\bar{X} \pm SD$ (n = 10)		
	Trước uống thuốc (t <sub>0</sub> )	Sau uống thuốc 1 tuần (t <sub>1</sub> )	Sau uống thuốc 2 tuần (t <sub>2</sub> )
<b>Lô 1:</b> Chuột bình thường Uống nước cất	<b>5,35 ± 0,65</b>	<b>5,96 ± 0,84</b>	<b>5,70 ± 0,76</b>
<b>Lô 2:</b> Chuột ĐTĐ Uống nước cất	<b>11,10 ± 2,21</b> <i>p2-1 &lt; 0,001</i>	<b>11,00 ± 2,98</b> <i>p2-1 &lt; 0,001</i>	<b>9,58 ± 2,24</b> <i>p2-1 &lt; 0,001</i>
% thay đổi so với t <sub>0</sub>		↓ <b>0,9</b>	↓ <b>13,7</b>
<b>Lô 3:</b> Chuột ĐTĐ Uống Gliclazid 80 mg/kg	<b>10,67 ± 1,94</b> <i>p3-1 &lt; 0,001</i>	<b>8,40 ± 1,17</b> <i>p3-2 &lt; 0,05</i>	<b>7,59 ± 1,34</b> <i>p3-2 &lt; 0,05</i>
% thay đổi so với t <sub>0</sub>		↓ <b>21,3</b>	↓ <b>28,9</b>
% thay đổi so với lô 2		↓ <b>23,6</b>	↓ <b>20,8</b>
<b>Lô 4:</b> Chuột ĐTĐ Uống Dền toồng quả dài liều 4g/kg/ngày	<b>10,10 ± 2,45</b> <i>p4-1 &lt; 0,001</i>	<b>8,44 ± 1,98</b> <i>p4-2 &lt; 0,05</i> <i>p4-3 &gt; 0,05</i>	<b>7,76 ± 1,14</b> <i>p4-2 &lt; 0,05</i> <i>p4-3 &gt; 0,05</i>
% thay đổi so với t <sub>0</sub>		↓ <b>16,4</b>	↓ <b>23,2</b>
% thay đổi so với lô 2		↓ <b>31,9</b>	↓ <b>19,0</b>
<b>Lô 5:</b> Chuột ĐTĐ Uống Dền toồng quả dài liều 12g/kg/ngày	<b>10,12 ± 2,37</b> <i>p5-1 &lt; 0,001</i>	<b>7,49 ± 1,32</b> <i>p5-2 &lt; 0,01</i> <i>p5-3 &gt; 0,05</i> <i>p5-4 &gt; 0,05</i>	<b>7,05 ± 1,29</b> <i>p5-2 &lt; 0,01</i> <i>p5-3 &gt; 0,05</i> <i>p5-4 &gt; 0,05</i>
% thay đổi so với t <sub>0</sub>		↓ <b>26,0</b>	↓ <b>30,3</b>
% thay đổi so với lô 2		↓ <b>31,9</b>	↓ <b>26,4</b>

**Nhận xét:** Kết quả cho thấy:

- Gliclazid 80mg/kg/ngày ở thời điểm sau uống thuốc 1 tuần và 2 tuần làm giảm nồng độ glucose máu so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

- Sau 1 tuần uống thuốc, DTQD liều 4g/kg/ngày và 12g/kg/ngày làm giảm nồng độ glucose máu so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ).

Tác dụng này tương đương gliclazid 80mg/kg.

- Sau 2 tuần uống thuốc, DTQD liều 4g/kg/ngày và 12g/kg/ làm giảm nồng độ glucose máu so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ). Tác dụng này tương đương gliclazid 80mg/kg.

### 3.1.3. Tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu của Dền toong quả dài trên chuột nhắt gây mô hình ĐTĐ dạng typ 2

**Bảng 3.4. Chỉ số lipid máu của chuột ĐTĐ typ 2 sau 2 tuần uống thuốc**

Thời gian	Nồng độ lipid máu (mmol/l) $\bar{X} \pm SD$ (n = 10)			
	TC	TG	HDL-C	LDL-C
<b>Lô 1:</b> Chuột bình thường Uống nước cất	2,44 ± 0,30	0,86 ± 0,18	0,87 ± 0,11	1,18 ± 0,21
<b>Lô 2:</b> Chuột ĐTĐ Uống nước cất	2,88 ± 0,42*	1,09 ± 0,13**	0,86 ± 0,12	1,52 ± 0,41*
<b>Lô 3:</b> Chuột ĐTĐ Uống Gliclazid 80 mg/kg	2,72 ± 0,15	0,95 ± 0,10	0,91 ± 0,17	1,38 ± 0,24
p so lô mô hình	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,01$	$p > 0,05$
<b>Lô 4:</b> Chuột ĐTĐ uống Dền toong quả dài liều 4g/kg/ngày	2,72 ± 0,28	1,19 ± 0,22	0,83 ± 0,13	1,35 ± 0,25
p so lô mô hình	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
<b>Lô 5 :</b> Chuột ĐTĐ Uống Dền toong quả dài liều 12g/kg/ngày	2,36 ± 0,37	0,94 ± 0,18	0,79 ± 0,19	1,14 ± 0,36

\*,\*\* :  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ; p so với lô chứng

Nhận xét:

- Nồng độ cholesterol máu toàn phần, triglycerid, HDL-C và LDL-C của chuột ở các lô có chế độ ăn giàu lipid tăng cao rõ so với lô chứng ( $p < 0,001$ ).
- Gliclazid liều 80mg/kg uống liên tục trong 2 tuần làm giảm chỉ số TG so với lô mô hình ( $p < 0,05$  và  $p < 0,01$ ).
- DTQD liều 4g/kg uống trong 2 tuần liên tục có tác dụng làm giảm chỉ số TG so với lô mô hình ( $p < 0,05$ ), có xu hướng làm giảm chỉ số cholesterol toàn phần và LDL-C nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).
- DTQD liều 12g/kg uống trong 2 tuần liên tục có tác dụng làm giảm chỉ số cholesterol toàn phần và TG so với lô mô hình ( $p < 0,05$ ), có xu hướng làm giảm chỉ số LDL-C nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

**3.1.4. Ảnh hưởng của Dền toòng quả dài lên trọng lượng gan, tụy và mô bệnh học chuột nhắt gây mô hình ĐTD dạng typ 2**

**Bảng 3.5. Trọng lượng gan của chuột ĐTĐ typ 2 sau uống thuốc 2 tuần**

<b>Lô chuột (n=10)</b>	<b>Trọng lượng gan (g) <math>\bar{X} \pm SD</math></b>	<b>% tính theo cân nặng <math>\bar{X} \pm SD</math></b>	<b>p so với lô 1</b>
<b>Lô 1:</b> Chứng sinh học Uống nước cất	1,54 ± 0,29	3,76 ± 0,82	
<b>Lô 2:</b> Chuột ĐTĐ Uống nước cất	2,12 ± 0,33	3,92 ± 0,51	p > 0,05
<b>Lô 3:</b> Chuột ĐTĐ Uống gliclazid 80 mg/kg	2,25 ± 0,21	4,00 ± 0,24	p > 0,05
p so lô mô hình	p > 0,05	p > 0,05	
<b>Lô 4:</b> Chuột ĐTĐ Uống Dền toong quả dài liều 4g/kg/ngày	2,32 ± 0,39	4,10 ± 0,72	p > 0,05
p so lô mô hình	p > 0,05	p > 0,05	
<b>Lô 5:</b> Chuột ĐTĐ Uống Dền toong quả dài liều 12g/kg/ngày	2,31 ± 0,34	4,13 ± 0,51	p > 0,05
p so lô mô hình	p > 0,05	p > 0,05	
p so liều thấp	p > 0,05	p > 0,05	

**Nhận xét:**

- Trọng lượng gan tương đối (tính theo % cân nặng) ở các lô mô hình, lô uống gliclazid, lô uống DTQD cả 2 liều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

**Bảng 3.6. Trọng lượng tụy của chuột ĐTĐ typ2 sau uống thuốc 2 tuần**

<b>Lô chuột (n=10)</b>	<b>Trọng lượng tụy (g) <math>\overline{X} \pm SD</math></b>	<b>% tính theo cân nặng <math>\overline{X} \pm SD</math></b>	<b>p so với lô 1</b>
<b>Lô 1:</b> Chứng sinh học Uống nước cất	0,23 ± 0,07	0,55 ± 0,16	
<b>Lô 2:</b> Chuột ĐTĐ Uống nước cất	0,25 ± 0,09	0,47 ± 0,14	p > 0,05
<b>Lô 3:</b> Chuột ĐTĐ Uống gliclazid 80 mg/kg	0,31 ± 0,06	0,55 ± 0,11	p > 0,05
p so lô mô hình	p > 0,05	p > 0,05	
<b>Lô 4:</b> Chuột ĐTĐ Uống Dền toong quả dài liều 4g/kg/ngày	0,27 ± 0,07	0,48 ± 0,11	p > 0,05
p so lô mô hình	p > 0,05	p > 0,05	
<b>Lô 5:</b> Chuột ĐTĐ Uống Dền toong quả dài liều 12g/kg/ngày	0,27 ± 0,08	0,47 ± 0,12	p > 0,05
p so lô mô hình	p > 0,05	p > 0,05	
p so liều thấp	p > 0,05	p > 0,05	

**Nhận xét:**

- Trọng lượng tụy tương đối (tính theo % cân nặng) ở các lô chứng sinh học, lô mô hình, lô uống gliclazid, lô uống DTQD cả 2 liều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05)

### 3.1.5. Mô bệnh học chuột nhất gây mô hình ĐTĐ dạng typ 2

- Đại thể

+ Về gan

Lô nghiên cứu (n=10)	Đại thể gan sau 2 tuần uống thuốc
<b>Lô chứng</b> (NFD + nước cất)	Màu hồng sẫm, đồng đều về màu sắc. Mật độ mô mềm và đồng đều.
<b>Lô mô hình</b> (HFD + ALX 180mg/kg)	Màu bạc hơn so với lô chứng sinh học, màu sắc kém đều hơn, mật độ mô lỏng lẻo so với lô chứng sinh học.
<b>Lô chứng dương</b> (HFD + ALX 180mg/kg + gliclazid 80mg/kg)	Màu bạc hơn so với lô chứng sinh học, màu sắc kém đều hơn, mật độ mô lỏng lẻo so với lô chứng sinh học.
<b>Lô trị 1</b> (HFD + ALX 180mg/kg + DTQD 4g/kg/ngày)	Màu bạc hơn so với lô chứng sinh học, màu sắc kém đều hơn, mật độ mô lỏng lẻo so với lô chứng sinh học.
<b>Lô trị 2</b> (HFD + ALX 180mg/kg + DTQD 12g/kg/ngày)	Màu bạc hơn so với lô chứng sinh học, màu sắc kém đều hơn, mật độ mô lỏng lẻo so với lô chứng sinh học.



**Hình3.1.** Hình ảnh đại thể gan chuột lô chứng





**Hình 3.2.** Hình ảnh đại thể gan chuột lô mô hình



**Hình 3.3.** Hình ảnh đại thể gan chuột lô uống gliclazid 80mg/kg/ngày



**Hình 3.4.** Hình ảnh đại thể gan chuột lô uống DTQD 4g/kg/ngày



***Hình 3.5.*** Hình ảnh đại thể gan chuột lô uống DTQD 12g/kg/ngày + Về tụy

<b>Lô nghiên cứu</b>	<b>Đại thể tụy sau 2 tuần uống thuốc</b>
<b>Lô chứng</b> (NFD + nước cất)	Màu hồng nhạt, mật độ dai và chắc. Không xung huyết, không thấy tổn thương đại thể
<b>Lô mô hình</b> (HFD + ALX 180mg/kg)	Màu hồng nhạt, mật độ dai và chắc. Không xung huyết, không thấy tổn thương đại thể.
<b>Lô chứng dương</b> (HFD + ALX 180mg/kg + gliclazid 80mg/kg)	Màu hồng nhạt, mật độ dai và chắc. Không xung huyết, không thấy tổn thương đại thể.
<b>Lô trị 1</b> (HFD + ALX 80mg/kg + DTQD 4g/kg/ngày)	Màu hồng nhạt, mật độ dai và chắc. Không xung huyết, không thấy tổn thương đại thể.
<b>Lô trị 2</b> (HFD+ALX 180mg/kg + DTQD12g/kg/ngày)	Màu hồng nhạt, mật độ dai và chắc. Không xung huyết, không thấy tổn thương đại thể.



**Lô 1: Chứng sinh học**



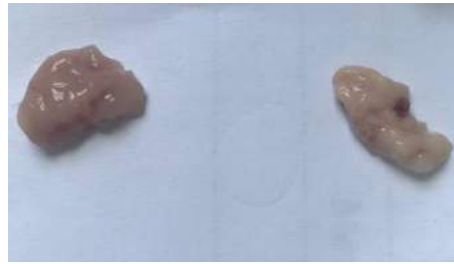
**Lô 2: Mô hình**



**Lô 3: Gliclazid**



**Lô 4: DTQD 4g/kg**

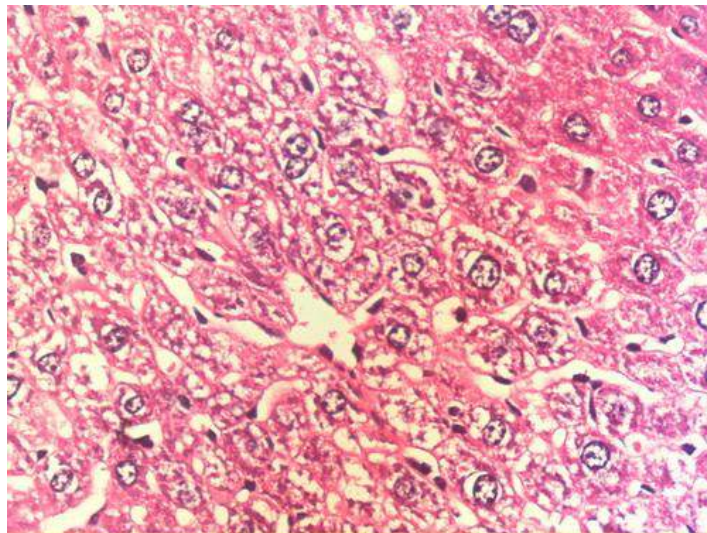


**Lô 4: DTQD 12g/kg**

**Hình 3.6. Hình ảnh tụy chuột ở các lô chuột nghiên cứu**

- **Vi thể**

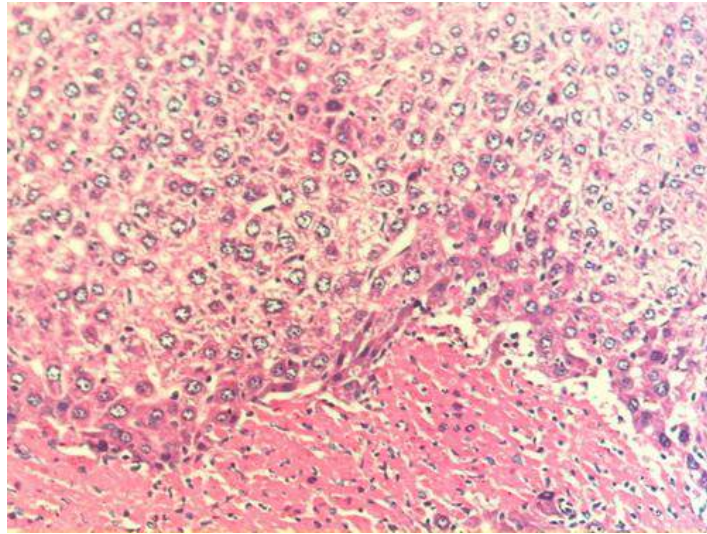
+ Hình thái vi thể gan



**Tế bào gan bình thường**

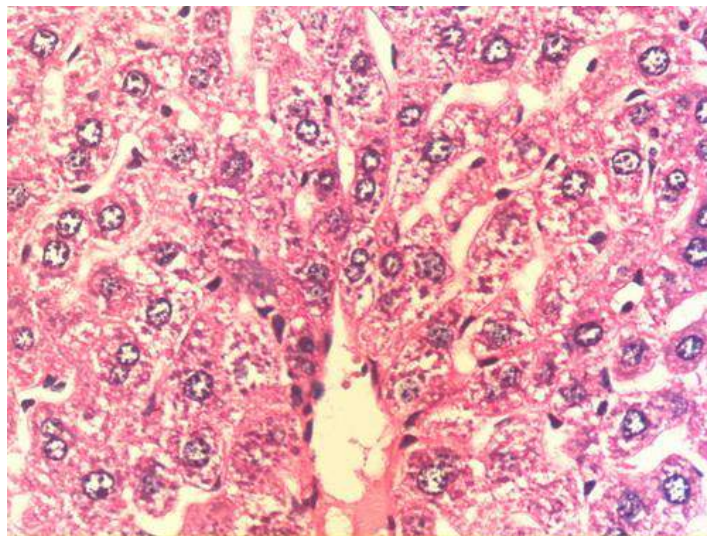
**Hình 3.7. Hình thái vi thể gan chuột lô chứng (chuột số 10) (HE x 400)**

**(HE x 400: Nhuộm Hematoxylin - Eosin, độ phóng đại 400 lần)**



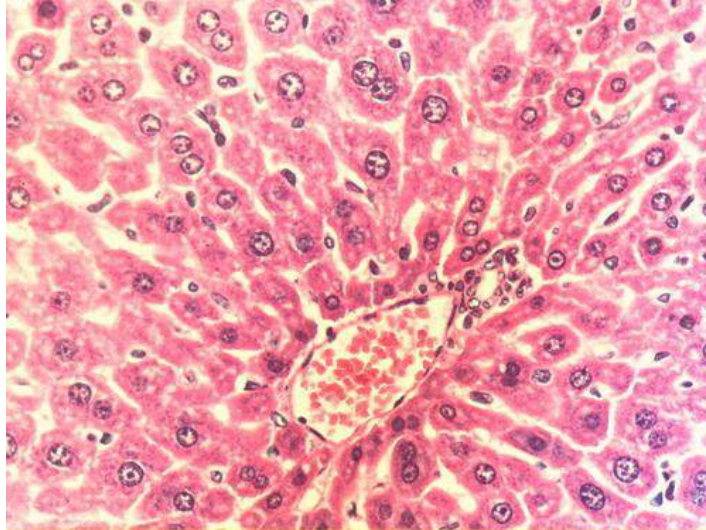
*Tế bào gan có vùng thoái hóa hoại tử*

**Hình 3.8.** Hình thái vi thể gan chuột lô mô hình (chuột số 15) (HE x 400)



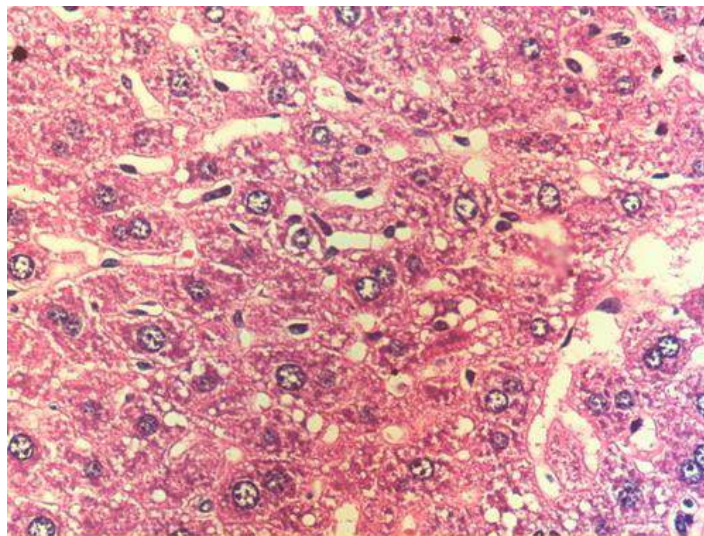
*Tế bào gan có khá nhiều vùng thoái hóa hạt, hốc*

**Hình 3.9.** Hình thái vi thể gan chuột lô mô hình (chuột số 24) (HE x 400)



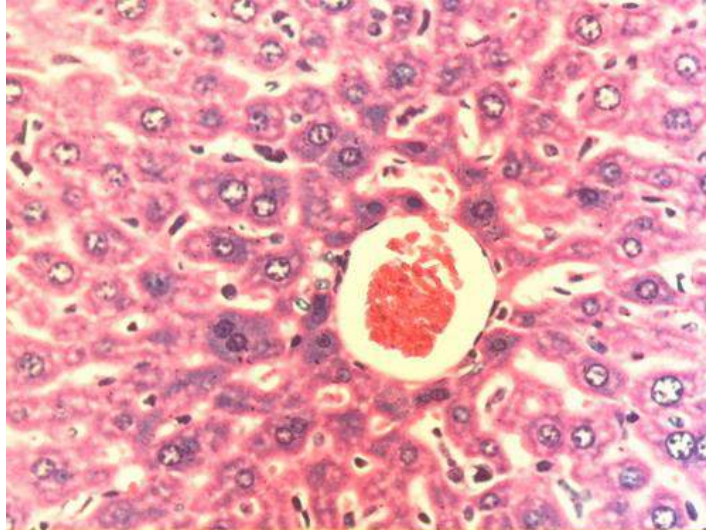
*Tế bào gan bình thường*

**Hình 3.10.** Hình thái vi thể gan chuột lô uống gliclazid 80mg/kg  
(chuột số 30) (HE x 400)



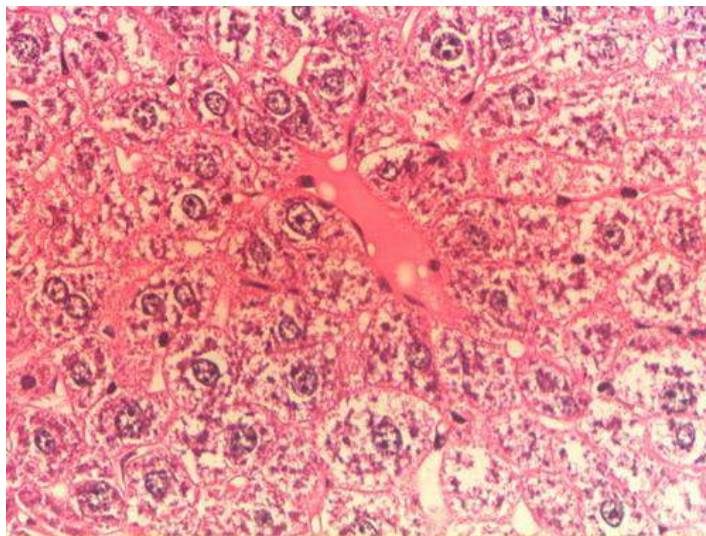
*Tế bào gan có khá nhiều vùng thoái hóa*

**Hình 3.11.** Hình thái vi thể gan chuột lô uống gliclazid liều 80mg/kg  
(chuột số 35) (HE x 400)



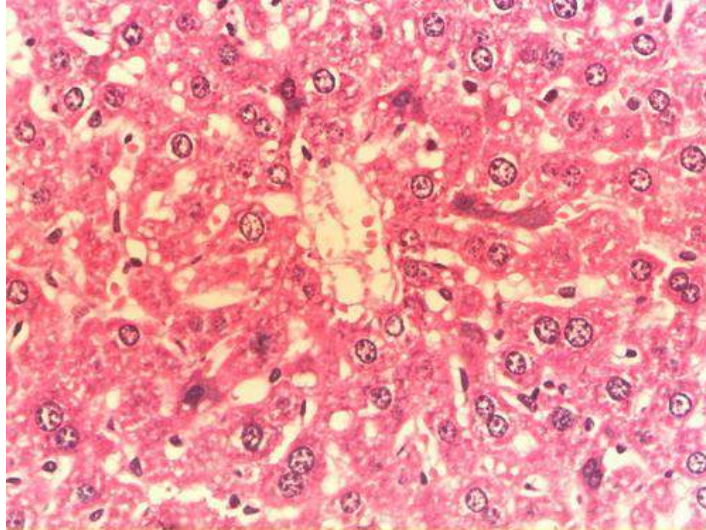
*Tế bào gan bình thường*

**Hình 3.12.** Hình thái vi thể gan chuột lô uống DTQD 4g/kg  
(chuột số 80) (HE x 400)



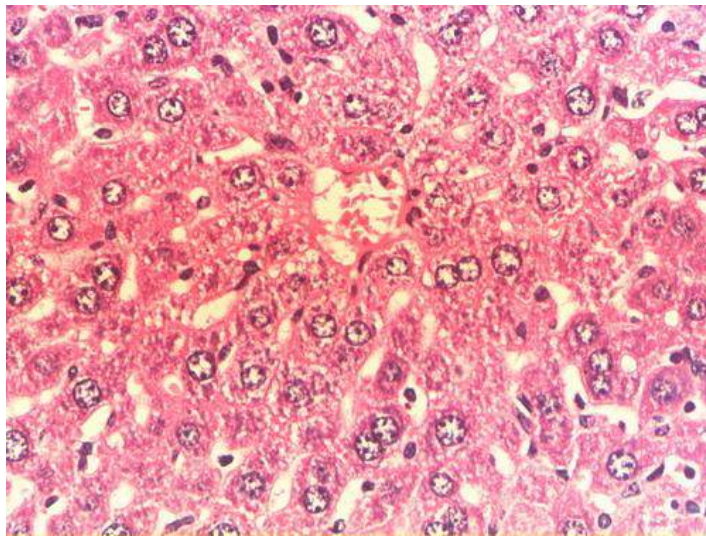
*Tế bào gan có vùng thoái hóa hốc hạt*

**Hình 3.13.** Hình thái vi thể gan chuột lô uống DTQD 4g/kg  
(chuột số 79) (HE x 400)



*Tế bào gan bình thường*

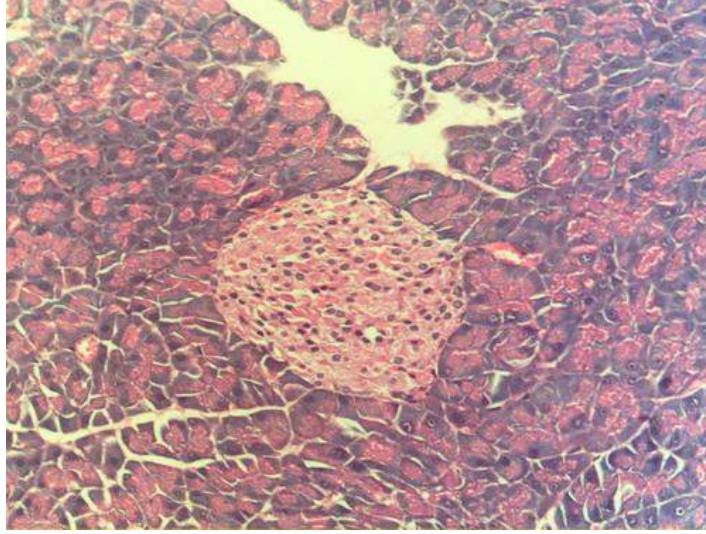
**Hình 3.14.** Hình thái vi thể gan chuột lô uống DTQD 12g/kg  
(chuột số 69) (HE x 400)



*Tế bào gan có rất ít ổ thoái hóa nhẹ*

**Hình 3.15.** Hình thái vi thể gan chuột lô uống DTQD 12g/kg  
(chuột số 72) (HE x 400)

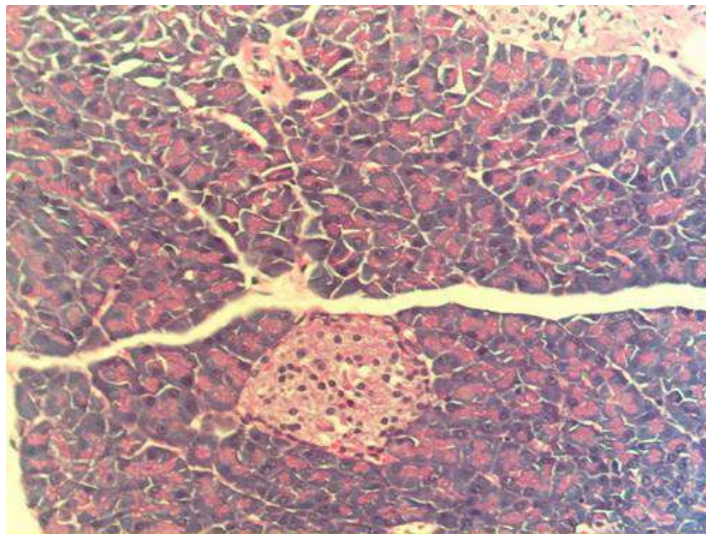
+ Hình thái vi thể tụy



*Tuyến tụy và tiểu đảo tụy bình thường*

**Hình 3.16.** Hình thái vi thể tụy chuột lô chúng (chuột số 1) (HE x 400)

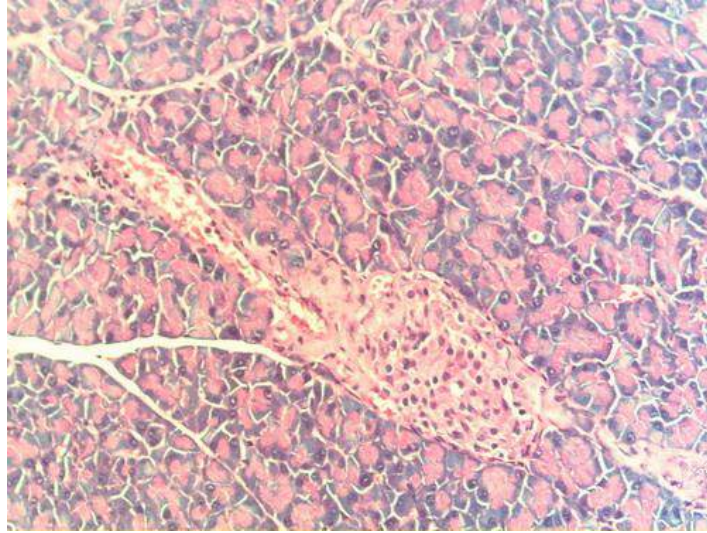
(HE x 400: Nhuộm Hematoxylin - Eosin, độ phóng đại 400 lần)



*Tuyến tụy và tiểu đảo tụy bình thường*

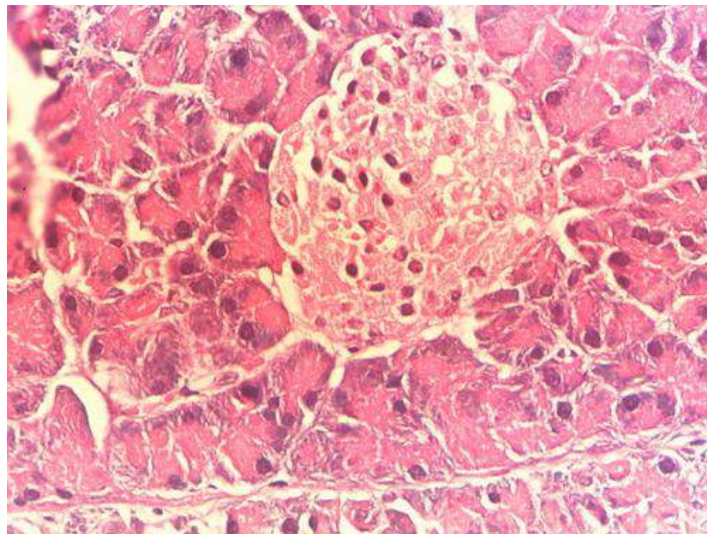
**Hình 3.17.** Hình thái vi thể tụy chuột lô mô hình (chuột số 15) (HE x 400)





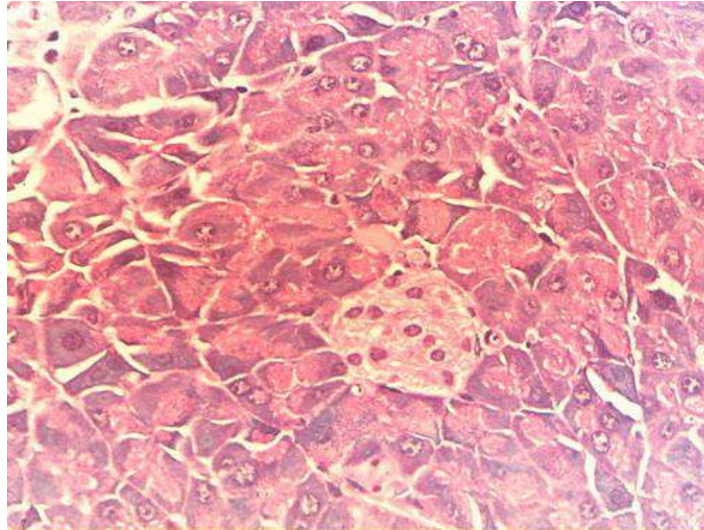
*Tuyến tụy và tiểu đảo tụy bình thường*

**Hình 3.18.** Hình thái vi thể tụy chuột lô uống gliclazid 80mg/kg  
(chuột số 30) (HE x 400)



*Tuyến tụy và tiểu đảo tụy bình thường*

**Hình 3.19.** Hình thái vi thể tụy chuột lô uống DTQD 4g/kg  
(chuột số 73) (HE x 400)



*Tuyến tụy và tiểu đảo tụy bình thường*

**Hình 3.20.** Hình thái vi thể tụy chuột lô uống DTQD 12g/kg

(chuột số 69) (HE x 400)

### 3.2. Tác dụng bảo vệ gan của Dền toòng quả dài trên thực nghiệm.

#### 3.2.1. Tác dụng bảo vệ gan của Dền toòng quả dài trên thực nghiệm

**Bảng 3.7.** Ảnh hưởng của Dền toòng quả dài lên trọng lượng gan chuột

Lô nghiên cứu	Trọng lượng gan ( $\bar{X} \pm SD$ , g/10g thể trọng)	p so với silymarin
<b>Lô 1:</b> Chứng sinh học Uống nước cất	0,503 ± 0,126	
<b>Lô 2:</b> Mô hình Uống paracetamol 400mg/kg	0,641 ± 0,135*	
<b>Lô 3:</b> Chứng dương Uống silymarin 140mg/kg	0,665 ± 0,086	
<b>Lô 4:</b> DTQD liều 4g/kg/ngày	0,533 ± 0,050 <sup>+</sup>	p < 0,01
<b>Lô 5:</b> DTQD liều 12g/kg/ngày	0,606 ± 0,149	p > 0,05

\* $p < 0,05$  so với lô chứng sinh học      <sup>+</sup> $p < 0,05$  so với lô mô hình

**Nhận xét:** Kết quả bảng 3.7 cho thấy:

- Trọng lượng gan chuột ở lô mô hình (chỉ uống paracetamol 400 mg/kg) (lô 2) tăng cao rõ rệt so với lô chứng (lô 1) ( $p < 0,05$ ).

- Trọng lượng gan chuột ở các lô uống Dền toong quả dài đều có xu hướng giảm so với lô mô hình, mức giảm có ý nghĩa thống kê được quan sát thấy ở lô uống Dền toong quả dài liều 4g dược liệu/kg/ngày ( $p < 0,05$ ).

**Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Dền toong quả dài đến hoạt độ AST trong máu chuột**

Lô nghiên cứu (n=10)	AST (UI/L) $(\bar{X} \pm SD)$	p so với lô uống silymarin
Lô 1: Chứng sinh học	92,92 ± 12,53	
Lô 2: Mô hình Uống paracetamol 400mg/kg	641,80 ± 145,53***	
Lô 3: Chứng dương Uống silymarin 140mg/kg	222,56 ± 77,00 <sup>+++</sup>	
Lô 4: DTQD liều 4g/kg/ngày	184,25 ± 44,83 <sup>+++</sup>	p > 0,05
Lô 5: DTQD liều 12g/kg/ngày	276,83 ± 69,79 <sup>+++</sup> p <sub>5-4</sub> < 0,01	p > 0,05

\* $p < 0,05$  so với lô chứng sinh học      <sup>+</sup> $p < 0,05$  so với lô mô hình

**Nhận xét:** Kết quả bảng 3.8 cho thấy:

- Hoạt độ AST của lô mô hình tăng cao rõ rệt so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .
- Silymarin liều 140 mg/kg/ngày có tác dụng làm giảm rõ rệt hoạt độ AST so với lô mô hình ( $p < 0,001$ ).
- Hoạt độ AST ở các lô uống thuốc thử đều giảm rõ rệt so với lô mô hình ( $p < 0,001$ ). DTQD liều 4g dược liệu/kg thể hiện tác dụng làm giảm hoạt độ AST tốt hơn liều 12g dược liệu/kg ( $p < 0,01$ ) và tương đương với silymarin liều 140 mg/kg ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.9. Ảnh hưởng của Dền toòng quả dài đến hoạt độ ALT trong máu chuột**

<b>Lô nghiên cứu (n=10)</b>	<b>ALT (UI/L) <math>(\bar{X} \pm SD)</math></b>	<b>p so với lô uống silymarin</b>
<b>Lô 1:</b> Chứng sinh học	45,00 ± 7,35	
<b>Lô 2:</b> Mô hình Uống paracetamol 400mg/kg	402,50 ± 85,05***	
<b>Lô 3:</b> Chứng dương Uống silymarin 140mg/kg	124,78 ± 15,09 <sup>+++</sup>	
<b>Lô 4:</b> DTQD liều 4g/kg/ngày	134,50 ± 33,92 <sup>+++</sup>	p > 0,05
<b>Lô 5:</b> DTQD liều 12g/kg/ngày	157,92 ± 24,74 <sup>+++</sup> p <sub>5-4</sub> > 0,05	<b>p &lt; 0,01</b>

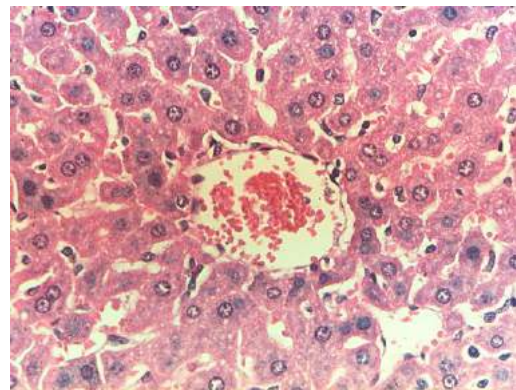
**Nhận xét:** Kết quả bảng 3.9 cho thấy:

- Hoạt độ ALT của lô mô hình tăng cao rõ rệt so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .
- Silymarin liều 140 mg/kg/ngày có tác dụng làm giảm rõ rệt hoạt độ ALT so với lô mô hình ( $p < 0,001$ ).
- Các lô uống Dền toòng quả dài đều có hoạt độ ALT thấp hơn rõ rệt so với lô mô hình ( $p < 0,001$ ). Không có sự khác biệt về hoạt độ ALT khi so sánh giữa 2 lô uống DTQD. Tuy nhiên, khi so sánh với lô uống silymarin liều 140 mg/kg, Dền toòng quả dài liều 4g dược liệu/kg thể hiện hiệu quả hạ ALT tương đương với thuốc đối chứng chuẩn ( $p > 0,05$ ), trong khi đó Dền toòng quả dài liều 12g dược liệu/kg thể hiện hiệu quả hạ ALT chưa tốt bằng thuốc đối chứng chuẩn ( $p < 0,01$ ).

### 3.2.2. Hình ảnh đại thể và vi thể gan chuột sau 10 ngày uống thuốc

#### - Đại thể

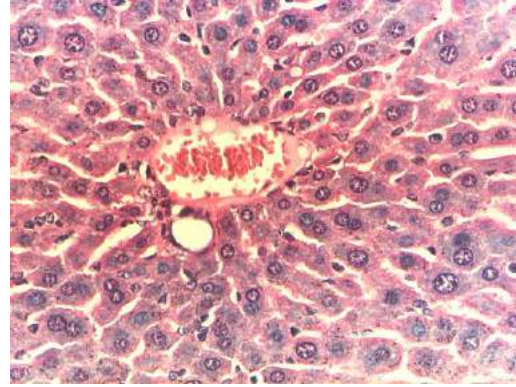
<i>Lô nghiên cứu</i>	<i>Hình ảnh vi thể gan</i>
Chứng sinh học	3/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh tế bào gan bình thường, huyết quản nhiều hồng cầu
Mô hình	2/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh nhiều vùng tế bào gan thoái hóa, hoại tử chảy máu, rất nhiều tế bào viêm. 1/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh ít tế bào gan thoái hóa hốc nhẹ, nhiều tế bào viêm.
Silymarin liều 140 mg/kg	2/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh khá nhiều vùng tế bào gan thoái hóa hốc, ít tế bào viêm. 1/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh ít ổ tế bào gan thoái hóa hạt hốc, ít tế bào viêm
DTQD liều 4g/kg/ngày	1/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh rất ít tế bào gan thoái hóa nhẹ, ít tế bào viêm. 1/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh khá nhiều vùng tế bào gan thoái hóa hốc, nhiều ổ tế bào viêm và chất hoại tử. 1/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh tế bào gan bình thường.
DTQD liều 12g/kg/ngày	1/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh tế bào gan bình thường, khá nhiều tế bào viêm. 1/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh tế bào gan nhiều vùng thoái hóa hốc, rất nhiều tế bào viêm, có vùng hoại tử chảy máu. 1/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh ít vùng tế bào gan thoái hóa, nhiều ổ tế bào viêm



**Hình 3.22:** Hình ảnh gan chuột lô chứng sinh học (chuột số 01)

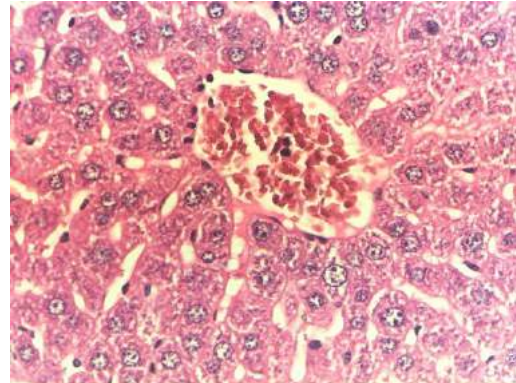
Gan bình thường, huyết quản nhiều hồng cầu (HE x 400)

(HE x 400: Nhuộm Hematoxylin - Eosin, độ phóng đại 400 lần)



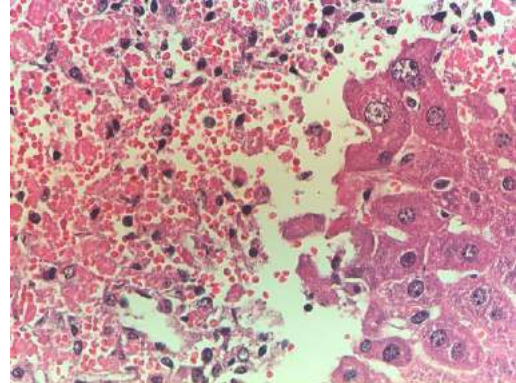
**Hình 3.23:** Hình ảnh gan chuột lô chứng sinh học (chuột số 03)

Gan bình thường, huyết quản nhiều hồng cầu, rải rác có các ổ tế bào viêm



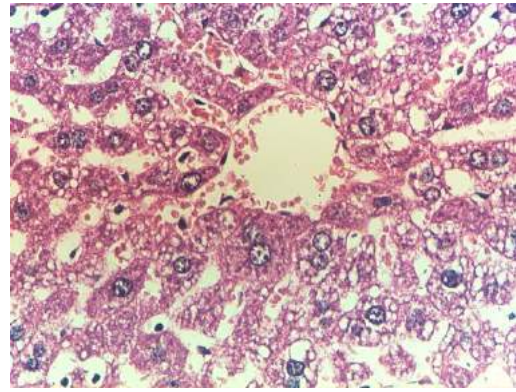
**Hình 3.24:** Hình ảnh gan chuột lô mô hình (chuột số 16)

Có ít tế bào gan thoái hóa hốc nhẹ, nhiều tế bào viêm



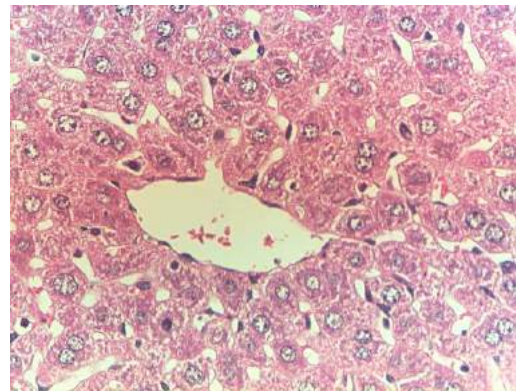
**Hình 3.25:** Hình ảnh gan chuột lô mô hình (chuột số 17)

Rất nhiều tế bào viêm, nhiều vùng tế bào gan thoái hóa, hoại tử chảy máu



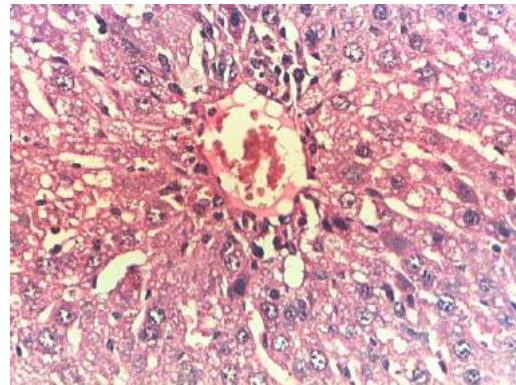
**Hình 3.26:** Hình ảnh gan chuột lô silymarin (chuột số 29)

Khá nhiều vùng tế bào gan thoái hóa hốc, ít tế bào viêm



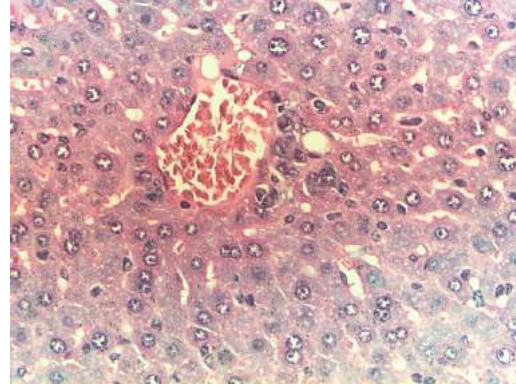
**Hình 3.27:** Hình ảnh gan chuột lô silymarin (chuột số 30)

Ít tế bào viêm, có ít ổ tế bào gan thoái hóa hạt hốc



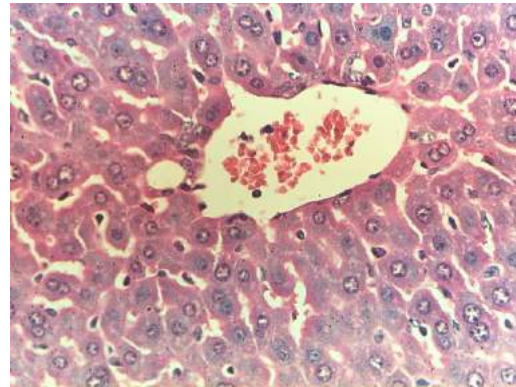
**Hình 3.28:** Hình ảnh gan chuột lô DTQD 4g/kg (chuột số 68)

Khá nhiều vùng tế bào gan thoái hóa hốc, nhiều ổ tế bào viêm và chất hoại tử



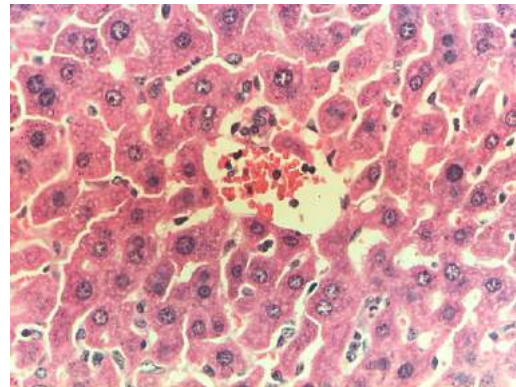
**Hình 3.29:** Hình ảnh gan chuột lô DTQD 4g/kg (chuột số 70)

Có rất ít tế bào gan thoái hóa nhẹ, ít tế bào viêm



**Hình 3.30:** Hình ảnh gan chuột lô DTQD 4g/kg (chuột số 71)

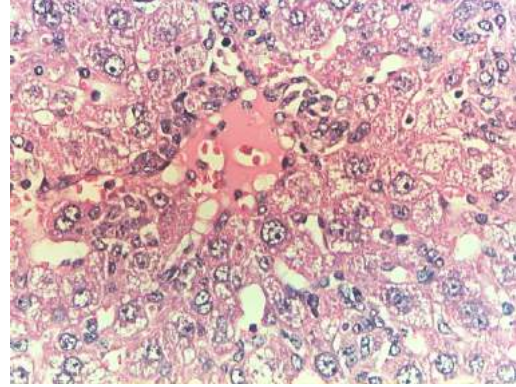
Tế bào gan bình thường



**Hình 3.31:** Hình ảnh gan chuột lô DTQD 12g/kg (chuột số 57)

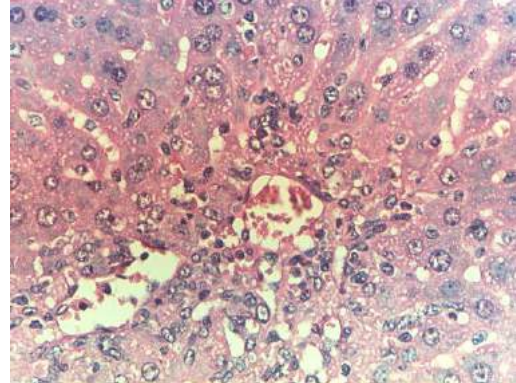
Tế bào gan bình thường, khá nhiều tế bào viêm





**Hình 3.32:** Hình ảnh gan chuột lô DTQD 12g/kg (chuột số 58)

Nhiều vùng thoái hóa hốc, rất nhiều tế bào viêm, có vùng hoại tử chảy máu



**Hình 3.34:** Hình ảnh gan chuột lô DTQD 12g/kg (chuột số 59)

Có ít vùng tế bào gan thoái hóa, nhiều ổ tế bào viêm

## **Chương 4: BÀN LUẬN**

### **4.1. Tác dụng hạ glucose máu của Dền toòng quả dài**

#### **4.1.1. Mô hình gây ĐTD typ 2**

Để đánh giá tác dụng của thuốc điều trị ĐTD typ 2 việc cần thiết là tạo được mô hình ĐTD typ 2 trên động vật thực nghiệm [68]. Trên thế giới, các mô hình được sử dụng là mô hình trên chuột có các đột biến di truyền dẫn đến béo phì và đề kháng insulin. Ở Việt Nam và một số nước khác như Trung Quốc, Ấn Độ việc sử dụng động vật di truyền khá là khó áp dụng. Mô hình kết hợp chế độ ăn béo phì (dẫn đến kháng insulin) và liều thấp ALX (giảm sản xuất insulin) đã được áp dụng thay thế và ngày càng trở nên phổ biến hơn. Phương pháp nghiên cứu của mô hình này đã mô phỏng lại sự thay đổi, cơ chế bệnh sinh của bệnh ĐTD typ 2 với các biểu hiện: tăng nồng độ glucose máu, thay đổi nồng độ insulin, tăng nồng độ các chỉ số lipid máu...[25],[66].

#### **4.1.2. Tác dụng của Dền toòng quả dài lên nồng độ glucose máu và các chỉ số lipid máu ở chuột nhắt gây ĐTD typ 2**

##### *4.1.2.1. Trọng lượng chuột trong nghiên cứu*

Chuột nhắt trắng được nuôi béo bằng chế độ ăn áp dụng tương tự theo nghiên cứu của Srinivasan (có 58% chất béo), tuy nhiên để phù hợp với chủng chuột hiện có tại Việt Nam tỉ lệ này có sự thay đổi trong đó lipid được điều chỉnh xuống còn 40% trong khẩu phần ăn [15],[27]. Ngoài ra, trong chế độ ăn béo có bổ sung thêm 55% fructose dựa theo mô hình của Rivera [64]. Fructose 1 loại đường đơn được chuyển hóa chủ yếu tại gan để sinh năng lượng, sự dư thừa fructose sẽ làm tăng quá trình tổng hợp TG tại gan, ảnh hưởng đến quá trình chuyển hóa glucose và lipid [26]. Nồng độ triglycerid cao trong máu do chế độ ăn giàu chất béo làm tăng số lượng và quá trình oxy hóa các acid béo tự do. Sự gia tăng quá trình oxy hóa acid béo làm giảm quá trình oxy hóa glucose, giảm sự thu nhận và sử dụng glucose ở cơ vân dẫn đến tình trạng kháng insulin [66].

Kết quả bảng 3.1 cho thấy: sau 6 tuần, trọng lượng chuột ở lô mô hình tăng 93,4% so với trước nghiên cứu, sau 8 tuần, mức tăng này là 107,1%, trong khi ở lô chứng sinh học, mức tăng trọng lượng lần lượt là 43,8% và 30,4 %, thấp hơn có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ). Kết quả này cho thấy, chế độ ăn 40% lipid kết hợp fructose trên chuột nhắt cho kết quả tương tự với nhiều nghiên cứu thực nghiệm trên chuột của

các tác giả Việt Nam cũng như nước ngoài. Nghiên cứu của Hồ Mỹ Dung năm 2017 trên chuột nhắt trắng, trọng lượng chuột sau 8 tuần nghiên cứu tăng 67,2% trong khi mức tăng trọng lượng chuột ở lô chứng sinh học là 46,6 % [4]. Nghiên cứu của

Camilla và cộng sự đã gây mô hình ĐTĐ typ 2 cho chuột bằng cách tiến hành nuôi chuột với chế độ ăn giàu lipid và nhiều năng lượng trong 10 tuần, trọng lượng chuột ở lô nuôi béo tăng có ý nghĩa thống kê [54]. Từ đó, chúng tôi có thể khẳng định đã tạo được mô hình chuột béo phì thành công.

#### 4.1.2.2. Về nồng độ glucose máu

Nghiên cứu cho thấy chế độ ăn giàu lipid kết hợp với tiêm màng bụng ALX liều 180 mg/kg sau 72 giờ đã làm gia tăng nồng độ glucose máu chuột nhắt trắng. Theo báo cáo của Oasasenaga Macdonald Ighodaro, ALX với các đường dùng khác nhau như tiêm tĩnh mạch, tiêm màng bụng, tiêm dưới da trong khoảng liều từ 50 mg/kg đến 200 mg/kg có thể gây tình trạng đái tháo đường trên các loài động vật khác nhau như chó, mèo, khỉ, chuột, thỏ [54]. Trong đó, mức liều theo đường tiêm màng bụng phổ biến được dùng là 150 mg/kg, tuy nhiên qua nghiên cứu thăm dò của chúng tôi thấy với mức liều như vậy chưa đủ để gây tình trạng tăng glucose máu rõ rệt, vì vậy nghiên cứu đã lựa chọn liều ALX 180 mg/kg, kết quả bảng 3 cho thấy, nồng độ glucose trong máu chuột nhắt trắng sau 8 tuần ở lô chuột ăn béo có tăng so với nồng độ glucose máu ở lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ), sau tiêm ALX 72h, nồng độ glucose máu ở lô 2 (mô hình) tăng cao rõ rệt so với lô 1 ( $p < 0,001$ ) và so với thời điểm trước khi tiêm ALX ( $p < 0,001$ ). Dựa trên sự thành công của mô hình, chúng tôi tiếp tục đánh giá tác dụng của mẫu thử DTQD ở 2 mức liều 4g/kg và 12g/kg.

Số liệu bảng 3.3 cho thấy cả Gliclazid 80mg/kg/ngày và DTQD ở 2 mức liều làm giảm nồng độ glucose máu so với lô mô hình (cả 2 mức liều đều làm giảm 31,9% so với lô mô hình sau 1 tuần uống mẫu thử), sau 2 tuần nồng độ glucose máu ở lô uống DTQD liều thấp giảm 19,0 % và lô uống DTQD liều cao giảm 26,4% so với lô mô hình), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$  và  $p < 0,01$ . Không có sự khác biệt có ý nghĩa về mức giảm glucose máu giữa 2 mức liều. Trong đó, tác dụng của DTQD ở cả liều 4g/kg và 12g/kg là tương đương với tác dụng hạ glucose máu của gliclazid. Như vậy, DTQD đã làm hạ glucose máu ngay thời điểm sau 1 tuần và tiếp tục làm giảm glucose ở tuần thứ 2. Gliclazid là thuốc điều trị đái tháo đường thuộc

nhóm sulfonylure thế hệ 2, làm giảm nồng độ glucose máu qua cơ chế chính là kích thích bài tiết insulin, ngoài ra còn làm tăng sự gắn vào receptor của insulin tại mô đích, do đó có tác dụng làm hạ glucose máu [24]. Do cơ chế này nên gliclazid là thuốc chứng dương phù hợp được lựa chọn cho mô hình ĐTĐ dạng typ 2 kết hợp giữa chế độ ăn giàu chất béo và ALX.

Từ kết quả nghiên cứu này có thể khẳng định, DTQD có tác dụng hạ glucose máu, cơ chế của thuốc được chứng minh qua một số nghiên cứu về các thành phần có trong DTQD như sau: flavonoid - một polyphenol có mặt trong nhiều loại cây, lá... bao gồm khoảng 8000 hoạt chất phenolic, được coi là chất chuyển hóa thứ cấp có hoạt tính sinh học trong điều trị các bệnh lý như: tim mạch, ung thư, béo phì [60]. Theo nghiên cứu của Tapan Seal thành phần flavonoid chủ yếu có trong *Gomphogyne* là Quercetin [69]. Cơ chế điều trị đái tháo đường của các flavonoid nhờ điều hòa quá trình tiêu hóa carbonhydrat, kích thích sự bài tiết insulin, tăng hiệu quả của con đường tín hiệu insulin, tăng cường dự trữ glucose và dự trữ mỡ [71]. Bên cạnh đó, một nghiên cứu khác của Eid HM và cộng sự năm 2017 cũng đã chỉ ra rằng Quercetin có tác dụng giúp cân bằng nồng độ glucose máu thông qua việc làm tăng tính nhạy cảm và tăng tiết insulin, tăng sử dụng glucose ở các tế bào ngoại biên cùng với sự ức chế hấp thu glucose ở ruột [41]. Một nghiên cứu khác cũng cho thấy quercetin làm giảm nồng độ glucose máu ở các nồng độ 10, 25 và 50 mg/kg [34]. Như vậy, việc chứa 1 lượng các hợp chất flavonoid có tác dụng hạ glucose máu như trên có trong thành phần giúp DTQD có tác dụng hạ glucose máu sau uống mẫu thử. Như vậy cơ chế hạ glucose máu của DTQD rất phong phú, bao gồm tất cả các cơ chế được nói đến ở trên của các flavonoid, điều này giải thích vì sao tác dụng hạ glucose máu của DTQD xuất hiện nhanh ngay sau 1 tuần uống thuốc.

Cho đến nay chưa có nghiên cứu nào đánh giá tác dụng hạ glucose máu của mẫu thử DTQD, so sánh với 1 số dược liệu có tác dụng hạ glucose máu trong các nghiên cứu khác của Đào Văn Phan, Nguyễn Khánh Hòa và Nguyễn Duy Thuận về Giảo cổ lam cho thấy: Giảo cổ lam liều 500mg/kg có tác dụng hạ glucose máu (nồng độ glucose máu giảm 22%), với liều 1000mg/kg làm giảm 36% nồng độ glucose máu so với lô mô hình [16]. Nghiên cứu của Phùng Thanh Hương về tác dụng hạ glucose của Bằng lăng nước: dịch chiết ethanol ở mức liều 18,2g dược liệu khô làm giảm 35,01%

nồng độ glucose máu sau 4 giờ [13]. Nghiên cứu của Hồ Mỹ Dung cho thấy, cây lược vàng có tác dụng làm giảm nồng độ glucose máu của chuột nhất trắng đái tháo đường typ 2 (giảm 31% sau 2 tuần uống thuốc).

#### 4.1.2.3. Về nồng độ lipid máu

Béo phì là một trong số nguyên nhân gây tình trạng đái tháo đường typ 2 do làm tăng acid béo tự do, tăng triglycerid dẫn tới sự đề kháng insulin [33]. Vì vậy, chế độ ăn giàu chất béo dẫn tới sự bất thường trong chuyển hóa lipid biểu hiện qua kết quả của nghiên cứu, ở lô mô hình nồng độ cholesterol toàn phần, triglyceride, LDL-C tăng cao rõ rệt so với lô chứng ( $p < 0,001$ ). Kết quả ở lô mô hình có tăng nồng độ cholesterol toàn phần và triglycerid máu cũng tương tự trong các nghiên cứu gây mô hình ĐTĐ typ 2 trên động vật bằng chế độ ăn giàu chất béo của các tác giả Bùi Thị Quỳnh Nhung, Hồ Mỹ Dung [4],[15]. Kết quả bảng 3.4 cho thấy: DTQD liều 4g/kg và 12g/kg/ngày uống liên tục trong 2 tuần làm giảm rõ nồng độ TG so với lô mô hình ( $p < 0,05$ ). DTQD liều 12g/kg/ngày còn có tác dụng làm giảm chỉ số cholesterol toàn phần so với lô mô hình ( $p < 0,05$ ), có xu hướng làm giảm chỉ số LDL-C. Trong nghiên cứu của Coskun O và cộng sự đã chỉ ra rằng, quercetin một chất có mặt trong DTQD có tác dụng làm giảm sự peroxide hóa lipid, làm giảm các acid béo tự do [39]. Các hợp chất saponin có trong thành phần của DTQD đã được báo cáo có tác dụng hạ lipid máu tốt trong nhiều nghiên cứu [61],[63]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi chưa thấy xuất hiện tác dụng hạ cholesterol máu của DTQD liều thấp (4g/kg) sau 2 tuần uống thuốc. Cả 2 mức liều chưa làm giảm được nồng độ LDL-C và làm tăng HDL-C. Tuy nhiên, sau 2 tuần uống thuốc, DTQD liều thấp có tác dụng hạ lipid máu thể hiện trên chỉ số TG. Liều cao của DTQD (12g/kg) làm giảm có ý nghĩa thống kê cả nồng độ TG và cholesterol trong máu chuột nhất trắng. Điều này có thể giải thích do mô hình ĐTĐ typ 2 của chúng tôi đã tạo ra sự rối loạn lipid máu, liều thấp của DTQD chưa đủ để điều chỉnh nồng độ TG, HDL-C và LDL-C về chỉ số bình thường đồng thời, thời gian nghiên cứu ngắn, chuột nhất trắng được uống mẫu thử trong 2 tuần. Ngay với cả những thuốc y học hiện đại điều trị rối loạn lipid máu hiệu quả như nhóm statin cũng phải cần thời gian tối thiểu là 4 tuần mới thể hiện được tác dụng tối đa của thuốc. Như vậy, các mô hình chuột đái tháo đường typ 2 bằng cách cho chuột ăn chế độ ăn giàu lipid và năng lượng

đều thu được kết quả chung là làm tăng rõ rệt nồng độ triglycerid và cholesterol toàn phần trong máu chuột [4],[13],[54]. Chuột được nuôi bằng chế độ ăn giàu lipid có sự nhạy cảm với insulin do đó chỉ cần 1 liều của ALX tiêm màng bụng có thể gây rối loạn chuyển hóa glucose.

#### **4.1.3. Tác dụng của Dền toòng quả dài trên mô bệnh học gan, tụy.**

##### **4.1.3.1. Về gan**

Trong cơ thể, gan là cơ quan đảm nhiệm nhiều chức năng quan trọng và phức tạp, đặc biệt là quá trình chuyển hóa lipid [26]. Khi chuột được ăn chế độ ăn giàu chất béo và đưa hóa chất vào cơ thể chuột có thể làm ảnh hưởng đến gan. Vì vậy, đánh giá ảnh hưởng của mẫu thử trong việc cải thiện các tổn thương do mô hình ĐTĐ typ 2 gây ra là rất cần thiết. Trên xét nghiệm sinh hóa cho thấy, DTQD cả 2 mức liều làm giảm TG máu đặc biệt liều cao của DTQD làm giảm cả TC sau 2 tuần uống thuốc so với lô mô hình. Sau 2 tuần điều trị, tụy cân nặng của gan không giảm so với lô mô hình nhưng không thấy tổn thương về mặt đại thể, không quan sát thấy sự khác biệt so với lô chuột uống gliclazid. Qua kết quả giải phẫu bệnh vi thể, chúng tôi nhận thấy sự biến đổi tích cực về mặt cấu trúc gan, tình trạng nhiễm mỡ đã giảm rõ. Ở lô điều trị DTQD liều 12g dược liệu/kg, các mẫu bệnh phẩm gan có tình trạng thoái mỡ nhẹ, giảm hơn hẳn lô mô hình với 100% mẫu bệnh phẩm thoái hóa mỡ nặng, có hoại tử và lô DTQD liều thấp 4g/kg với hình ảnh gan thoái hóa hốc, hạt. Có thể hiệu quả hạ glucose máu của thuốc thử đã góp phần cải thiện sự rối loạn chuyển hóa lipid máu, đặc biệt tại gan và các thành phần như saponin, flavonoid có trong các dược liệu cũng có tác dụng tốt lên việc điều chỉnh rối loạn chuyển hóa lipid máu.

##### **4.1.3.2. Về tụy**

Bằng quan sát đại thể, chúng tôi không phát hiện thấy tổn thương của tụy các lô chuột. Cân nặng của tụy chuột sau 2 tuần uống DTQD liều 4g/kg và 12g/kg không khác biệt so với lô mô hình.

Trên kết quả vi thể, cả lô chứng sinh học, lô mô hình và các lô uống thuốc (gliclazid 80mg/kg và DTQD ở 2 mức liều 4g dược liệu/kg, 12g dược liệu/kg) đều có hình ảnh cấu trúc đảo tụy tương tự nhau, các mẫu bệnh phẩm có cấu trúc gần như bình thường, tiểu đảo tụy màu hồng nhạt, mật độ tiểu đảo dai và chắc. Như vậy, trên hình

ảnh vi thể tụy chưa có sự khác biệt giữa lô mô hình và lô chứng sinh học cũng như giữa các lô dùng thuốc và lô mô hình.

## **4.2. Tác dụng bảo vệ gan của Dền toong quả dài trên mô hình thực nghiệm**

### **4.2.1. Về lựa chọn mô hình**

Trên thực nghiệm, để đánh giá khả năng hạn chế sự tổn thương của gan khi gan bị các tác nhân có hại tấn công như rượu, virus, thuốc... người ta thường gây mô hình viêm gan thực nghiệm bằng virus, thuốc hoặc hóa chất. Mô hình gây viêm gan càng gần với thực tế và rõ ràng cơ chế thì tính ứng dụng càng cao. Mô hình viêm gan do virus sẽ là mô hình tốt nhất, có phạm vi ứng dụng lớn vì hiện nay viêm gan do virus là một nguyên nhân chiếm phần lớn ở Việt Nam và nhiều nước khác. Tuy nhiên, cho đến nay do tính an toàn nên chưa có tài liệu tham khảo nào xây dựng mô hình này. Trong nghiên cứu này, chúng tôi lựa chọn mô hình gây viêm gan bằng paracetamol (PAR) liều cao bởi PAR là một thuốc hạ sốt, giảm đau thông thường, được sử dụng rộng rãi ở Việt Nam cũng như trên thế giới [35]. Thuốc dễ dung nạp, ít gây tai biến ở đường tiêu hóa, có thể dễ dàng mua mà không cần kê đơn. Chính vì lý do đó mà tình trạng lạm dụng thuốc hoặc sử dụng quá liều dẫn đến độc tính của thuốc thường xuyên xảy ra. Paracetamol gây tổn thương gan bằng cơ chế sinh ra gốc tự do dưới tác dụng của CYP, đồng thời làm cạn kiệt hệ thống oxy hóa của cơ thể (hệ thống các chất thiol). PAR sau khi vào cơ thể thông qua quá trình glucuro - hợp và sulfo - hợp, khoảng 90% được chuyển hóa tạo thành các chất không còn hoạt tính, thải trừ qua thận, còn lại được chuyển hóa qua CYP với nhiều isoenzym, trong số đó có CYP<sub>2E1</sub>, CYP<sub>1A2</sub>, CYP<sub>3A4</sub> chuyển PAR thành N-acetyl-p-benzoquinonimin (NAPQI), một chất chuyển hóa gây độc với tế bào gan. Với liều điều trị (0,5-1 g 1 lần, các lần cách nhau ít nhất 4 giờ) lượng nhỏ NAPQI sẽ liên hợp với glutathion (GSH) - chất chống oxy hóa tự nhiên của cơ thể sẵn có trong gan để tạo ra hợp chất không độc đào thải ra ngoài. Khi sử dụng liều cao > 10g/ngày, sau một thời gian tiềm tàng 24 giờ tế bào gan sẽ bị viêm cấp và hoại tử do không đủ lượng GSH liên hợp với NAPQI, NAPQI dư thừa gây peroxy hóa lipid màng tế bào, dẫn đến tổn thương gan. Mức độ tổn thương gan do PAR gây ra phụ thuộc vào liều lượng và đường dùng. Khi liều càng cao thì mức độ tổn thương gan càng nặng, có thể gây tử vong [24]. Ngoài ra PAR còn gây độc cho gan thông qua các cơ chế khác [48],[72].

Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã sử dụng PAR gây độc cho tế bào gan trên thực nghiệm để đánh giá tác dụng của thuốc bảo vệ gan. Pedram Moshai-Nezhad và cộng sự năm 2018 dùng PAR tiêm màng bụng liều 500 mg/kg [55], Mazraati P và cộng sự cho chuột nhắt trắng uống PAR liều 650 mg/kg [62]. Sau khi tham khảo các nghiên cứu đã được tiến hành, chúng tôi chọn liều gây độc của PAR là 400mg/kg theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Ở liều độc này có thể quan sát được tổn thương gan ở mức độ vừa phải, chuột ít bị chết sau khi gây độc, đồng thời cũng phù hợp với thực tiễn lâm sàng - bệnh nhân thường bị ngộ độc theo đường uống.

Về lựa chọn chứng dương, silymarin là thuốc đã được nghiên cứu chứng minh tác dụng bảo vệ gan với nhiều cơ chế khác nhau: bảo vệ và ổn định màng tế bào, ngăn ngừa tấn công của một số độc chất vào gan, ức chế quá trình peroxy hóa lipid và ức chế cytochrom P<sub>450</sub>, dọn sạch gốc tự do, giảm sử dụng glutathion của tế bào gan, ức chế quá trình xơ hóa. Vì vậy, silymarin được lựa chọn là thuốc chứng dương trong nghiên cứu. Trên lâm sàng, silymarin thường được dùng với liều trung bình cho người lớn là 280-420mg/ngày, tương đương 5,6-8,4mg/kg/ngày, vì vậy liều trên chuột nhắt với hệ số ngoại suy 12 để có tác dụng tương đương là 67,2-100,8 mg/kg/ngày. Tuy nhiên trong qua tham khảo các nghiên cứu đã được tiến hành chúng tôi lựa chọn liều thể hiện tác dụng tốt là 140mg/kg.

#### **4.2.2. Tác dụng bảo vệ gan của Dền toòng quả dài**

Nghiên cứu bảo vệ gan trên thực nghiệm là đánh giá khả năng hạn chế sự tổn thương gan của thuốc khi gan bị các tác nhân có hại như thuốc, hóa chất, rượu... tấn công với sự có mặt của thuốc trước đó. Hoạt độ AST và ALT là một trong các chỉ số quan trọng để đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan, do đó để khẳng định tác dụng bảo vệ gan của mẫu thử cần đánh giá hoạt độ AST và ALT trong huyết thanh chuột sau khi gây tổn thương bằng PAR 400 mg/kg.

Kết quả bảng 3.8 và 3.9 cho thấy: với liều PAR 400mg/kg, đường uống đã làm tăng cao hoạt độ AST và ALT so với lô chứng sinh học, AST tăng từ 92,92 UI/L ở lô chứng sinh học lên đến 641,80 UI/L ở lô mô hình; ALT tăng từ 45 UI/L ở lô chứng sinh học lên 402,5 UI/L ở lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ). Điều đó chứng tỏ PAR đã gây tổn thương tế bào gan, làm giải phóng enzym vào trong máu. Kết quả này cũng tương tự một số mô hình của các tác giả khác [7],[31]. ALT là



enzym có nhiều nhất trong tế bào gan, tập trung chủ yếu ở bào tương của nhu mô gan. Khi bị tổn thương hủy hoại tế bào gan thậm chí chỉ cần thay đổi tính thấm màng tế bào, nồng độ ALT đã tăng cao. Khác với ALT, AST khu trú chủ yếu trong ty thể, chỉ 1/3 AST khu trú ở bào tương tế bào. Ngoài ra AST còn phân bố ở nhiều cơ quan khác như tim, cơ vân... Khi tổn thương chỉ dừng lại ở mức tế bào, chưa tổn thương đến màng ty thể thì chủ yếu ALT và một phần nhỏ AST trong bào tương được giải phóng.

Ở lô chuột được uống DTQD ở cả 2 mức liều đều làm giảm rõ rệt hoạt độ AST và ALT so với lô mô hình (bảng 3.8 và 3.9), trong đó chuột ở lô uống DTQD liều thấp (4g/kg/ngày) tác dụng làm giảm hoạt độ AST và ALT tương đương với thuốc đối chứng chuẩn silymarin, một thuốc bảo vệ gan đã được chứng minh tác dụng. Ở lô DTQD liều thấp AST giảm 71,3%, ALT giảm 66,6 % và lô uống DTQD liều cao AST giảm 56,9 % và ALT giảm 60,8 % so với lô mô hình. Trọng lượng gan của chuột ở các lô uống DTQD đều có xu hướng giảm so với lô mô hình, mức giảm có ý nghĩa thống kê được quan sát thấy ở lô uống DTQD liều 4g dược liệu/kg/ngày ( $p < 0,01$ ). Quan sát đại thể gan ở lô mô hình cho thấy bề mặt gan không nhẵn, màu nhạt, phù nề, có chỗ bị hoại tử, bạc màu và nhiều chấm xuất huyết, không quan sát thấy rõ các tổn thương trên bề mặt gan ở lô dùng silymarin và các lô uống DTQD. Tác dụng của mẫu thử được khẳng định một lần nữa thông qua hình ảnh vi thể gan, ở lô mô hình cho thấy có 2/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh nhiều vùng tế bào gan thoái hóa, hoại tử chảy máu, rất nhiều tế bào viêm, 1/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh ít tế bào gan thoái hóa hốc nhẹ, nhiều tế bào viêm. Trong khi ở các lô mẫu thử có 1/3 mẫu bệnh phẩm có rất ít hình ảnh tế bào gan thoái hóa nhẹ, ít tế bào viêm, 1/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh khá nhiều vùng tế bào gan thoái hóa hốc, nhiều ổ tế bào viêm và chất hoại tử, 1/3 mẫu bệnh phẩm có hình ảnh tế bào gan bình thường. Như vậy, kết quả giải phẫu bệnh phù hợp với kết quả hóa sinh và cho thấy đã có sự cải thiện so với tổn thương của lô mô hình.

Nghiên cứu của Dong Xu và cộng sự năm 2019 cho thấy, các flavonoid như quercetin-3-O-(2'',6''-di- $\alpha$ -L-rhamnosyl)- $\beta$ -D-galactopyranoside(1), quercetin-3-O-2'',6''-di- $\alpha$ -L-rhamnosyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside, quercetin-3-O-(2''- $\alpha$ -L-rhamnosyl)- $\beta$ -D-galactopyranoside, quercetin-3-O-(2''- $\alpha$ -L-rhamnosyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside có tác dụng bảo vệ tế bào chống lại sự oxy hóa [58]. Bên cạnh đó, các saponin (Gypenosid)

đã được nghiên cứu trên chuột nhắt trắng gây tổn thương gan cho thấy làm giảm đáng kể hoạt độ AST và ALT đồng thời hạn chế sự tiến triển tổn thương gan nhiễm mỡ. Có thể cho rằng nhờ các hợp chất có trong DTQD giúp mẫu thử có tác dụng bảo vệ gan. Tác dụng làm giảm hoạt độ AST và ALT của DTQD liều 4g/kg thể hiện tốt hơn ở liều 12g/kg, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê  $p > 0,05$ . Kết quả sinh hóa tương đồng với hình ảnh vi thể gan ở lô uống DTQD liều thấp 4g/kg có sự cải thiện hơn so với lô uống DTQD liều cao 12g/kg. So sánh với tác dụng bảo vệ gan của 1 số dược liệu khác như nấm Hồng chi Đà Lạt chủng DL1 liều 6g/kg có tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây độc bằng paracetamol ở chuột nhắt trắng, thể hiện qua việc làm giảm hoạt độ AST, ALT trong huyết thanh (23,4% và 20,9% so với lô mô hình, tác dụng tương đương silymarin 140mg/kg), giảm tổn thương mô bệnh học gan [7]. Trong nghiên cứu của Hoàng Thái Hoa Cương năm 2009, rễ cây Mạ Mân liều 0,033 g/kg làm giảm hoạt độ AST và ALT tương ứng 57,7% và 71,1 % so với lô mô hình [2]. Kết quả của Nguyễn Thị Nga và cộng sự năm 2011 cũng cho thấy tác dụng chống oxy hóa và bảo vệ gan của các chế phẩm từ cây dầu giun trên mô hình gây tổn thương gan chuột nhắt trắng bằng paracetamol [28]. Kết quả cho thấy, DTQD làm giảm đáng kể hoạt độ AST và ALT khi so sánh với một số dược liệu khác.

## KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu tác dụng hạ glucose máu và tác dụng bảo vệ gan của dịch chiết nước Dền toồng quả dài, chúng tôi rút ra kết luận như sau:

### **1. Tác dụng hạ glucose máu của Dền toồng quả dài**

Dền toồng quả dài liều 4g/kg/ngày sau 2 tuần uống mẫu thử làm giảm nồng độ glucose máu glucose máu trên chuột nhất trắng ĐTD typ 2 ( giảm 23,2% so với trước nghiên cứu và giảm 19% so với lô mô hình)

Dền toồng quả dài liều 12g/kg/ngày uống liên tục trong 2 tuần làm giảm nồng độ glucose máu trên chuột nhất trắng ĐTD typ 2 (giảm 30,3% so với trước nghiên cứu và giảm 26,4% so với lô mô hình).

Dền toồng quả dài liều 4g/kg/ngày và liều 12g/kg/ngày uống liên tục trong 2 tuần có tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu thông qua tác dụng làm giảm TG (liều 4g/kg và liều 12g/kg), cholesterol toàn phần (liều 12g/kg) trên chuột nhất được gây mô hình đái tháo đường dạng typ 2

### **2. Tác dụng bảo vệ gan của Dền toồng quả dài trên mô hình thực nghiệm**

Dền toồng quả dài liều 4g/kg/ngày và liều 12g/kg/ngày có tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây độc bằng paracetamol ở chuột nhất trắng, thể hiện qua việc làm giảm hoạt độ AST, ALT trong huyết thanh, giảm tổn thương mô bệnh học gan.

Dền toồng quả dài liều 4g/kg/ngày làm hoạt độ AST giảm 71,3%, hoạt độ ALT giảm 66,6 % so với lô mô hình.

Dền toồng quả dài liều 12g/kg/ngày làm hoạt độ AST giảm 56,9 % và hoạt độ ALT giảm 60,8 % so với lô mô hình

Tác dụng hạ transaminase của liều 4g/kg/ngày là tương đương với silymarin 140mg/kg.

**KIẾN NGHỊ**

- Cần tiếp tục nghiên cứu tác dụng phục hồi tổn thương gan của Dền toòng quả dài trên mô hình thực nghiệm
- Đánh giá tác dụng hạ glucose máu của Dền toòng quả dài trên mô hình chuột bình thường và các mô hình tăng glucose máu khác kèm định lượng insulin

# TÀI LIỆU THAM KHẢO

## TÀI LIỆU TIẾNG VIỆT

1. Bộ Y tế (2017). *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị đái tháo đường typ 2 (Ban hành kèm theo Quyết định số 3319/QĐ-BYT ngày 17/9/2017)*.
2. Hoàng Thái Hoa Cương (2009), *Nghiên cứu tác dụng bảo vệ và phục hồi tổn thương gan của rễ cây mã môn trên thực nghiệm*, Luận văn Thạc sỹ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội, Hà Nội
3. Võ Văn Chi (2011). *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội
4. Hồ Mỹ Dung (2017). *Nghiên cứu độc tính và tác dụng hạ glucose máu của CF2 trên thực nghiệm*, Luận văn thạc sỹ y học, Đại học Y Hà Nội.
5. Nguyễn Tiến Dũng (2006). *Nghiên cứu tác dụng hạ glucose máu của bột chiết cây dền cạn (Catharanthus roseus) ở chuột nhắt trắng gây đái tháo đường thực nghiệm*, Luận văn thạc sỹ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
6. Đỗ Trung Đàm (2006). Chương 17: Phương pháp nghiên cứu dược lý thuốc chống đái tháo đường. *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ thảo dược*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 199-206.
7. Trần Việt Đức (2015), *Nghiên cứu tác dụng bảo vệ và phục hồi tổn thương gan của cao lỏng Hồng chi Đà Lạt chủng DLI trên thực nghiệm*. Khóa luận tốt nghiệp bác sĩ đa khoa, Đại học Y Hà Nội
8. Châu Ngọc Hoa (2012). *Viêm gan. Bệnh học nội khoa*. Nhà xuất bản Y học, Hồ Chí Minh, 181-188.
9. Văn Đình Hoa (2012). *Rối loạn chuyển hóa glucid. Sinh lý bệnh*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 58-71.
10. Nguyễn Thế Khánh và Phạm Tử Dương (2005). *Xét nghiệm sử dụng trong lâm sàng*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
11. Nguyễn Nhược Kim (2012). *Bệnh học nội khoa Y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
12. Đỗ Tất Lợi (2015). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học
13. Phan Lê Bình Mai, Phùng Thanh Hương, Nguyễn Thị Thùy Dương (2010), *Triển khai áp dụng mô hình đái tháo đường typ 2 trên chuột cống trắng ở Việt Nam*, *Tạp chí nghiên cứu y học*, 59-65

14. Hoàng Thị Bích Ngọc (2011). Hóa học glucid. *Hóa sinh*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 17-24.
15. Bùi Thị Quỳnh Nhung (2011). *Nghiên cứu tính an toàn và tác dụng hạ glucose huyết của Vinabetes trên thực nghiệm*, Luận văn thạc sỹ, Trường Đại học Y Hà Nội tr.58-64
16. Đào Văn Phan, Nguyễn Khánh Hòa và Nguyễn Duy Thuần (2003). Nghiên cứu sàng lọc tác dụng hạ đường huyết của sinh địa, móng trâu, giao cổ lam và tri mẫu. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, 21, 1-6.
17. Đào Văn Phan (2000). Silymarin (legalon) – đặc điểm dược lý và các ứng dụng trong lâm sàng, *Hội thảo khoa học Legalon và ứng dụng Hà Nội*, 125.
18. Đỗ Thị Nguyệt Quế (2013). *Nghiên cứu tác dụng hạ glucose huyết của rễ cây chóc máu nam (Salacia cochinchinensis Lour., Celastraceae) trên thực nghiệm*, Luận án tiến sĩ y học, Viện Dược liệu.
19. Đặng Kim Thanh (2000). *Nghiên cứu tác dụng của nước sắc chàm tía trên bệnh nhân mỡ sỏi đường mật và viêm gan virus cấp*. Luận án tiến sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
20. Nguyễn Thu Thảo (2019). *Bước đầu nghiên cứu về thực vật và thành phần hóa học của cây quả dài (Gomphogyne bonii Gagnep.) thu hái ở Cao Bằng*. Luận văn thạc sĩ Y học. Học viện Y Dược học cổ truyền.
21. Hà Thị Xuân Thu (2010). *Nghiên cứu thành phần hóa học và tác dụng hạ đường huyết của thân rễ chuối hột (Musa seminifera Lour. Musaceae)*, Luận văn thạc sĩ Dược học, Trường Đại học Dược Hà Nội.
22. Nguyễn Duy Thuần, Phương Thiện Thương, Nguyễn Thu Thảo, Dương Văn Phú, Nghiêm Đức Trọng (2019), *Nghiên cứu đặc điểm thực vật của cây Dân toong quả dài (Gomphonyne bonni Gagnep.)*. *Tạp chí Y Dược cổ truyền Việt Nam*.5,(24). 20 – 24.)
23. Huỳnh Ngọc Thụy (2001). Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan chuột bị nhiễm độc CCL<sub>4</sub> của cây chó đẻ thân xanh. *Tạp chí dược học*, 4, 21-23
24. Nguyễn Trọng Thông (2016). *Dược lý học*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.

25. Phùng Thanh Hương (2010). *Nghiên cứu tác dụng hạ glucose huyết và ảnh hưởng trên chuyển hóa glucose của dịch chiết lá Bằng lăng nước (Lagerstroemia speciosa (L) pers.) ở Việt Nam*. Luận án tiến sĩ, Trường Đại học Y Hà Nội 57-77
26. Tạ Thành Văn (2013). *Hóa sinh lâm sàng*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
27. Trần Thị Chi Mai (2006). *Nghiên cứu tác dụng của polyphenol Chè xanh (Camellia sinensis) trên các chỉ số lipid và trạng thái chống oxy hóa trong máu chuột cống trắng ĐTD thực nghiệm*. Luận án tiến sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội, 50 – 73.
28. Nguyễn Thị Nga, Nguyễn Trọng Thông, Phạm Thị Vân Anh và cộng sự (2011). *Nghiên cứu tác dụng chống oxy hóa và bảo vệ gan của các chế phẩm từ cây dầu giun trên mô hình gây tổn thương gan chuột nhắt trắng bằng paracetamol*. *Tạp chí Dược học*, 425, 52-5
29. Trường đại học Y Hà Nội (2016). *Bài giảng y học cổ truyền*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
30. Nguyễn Khoa Diệu Vân (2012). *Đái tháo đường*. *Bệnh học nội khoa*, Nhà xuất bản y học, Hà Nội, 322-341
31. Lại Thị Vân (2003). *Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan và một số tác dụng dược lý có liên quan của cây nhót đông*, Luận văn thạc sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.

#### **TÀI LIỆU NƯỚC NGOÀI**

32. A. N. Panche, A. D. Diwan, and S. R. Chandra (2016). *Flavonoids: an overview*, *J of Nutr Sci*, 5, 47.
33. Boden R, Shulman GI (2002). *Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin-resistance and-cell dysfunction*, *Eur J Clin Inves*, 32(3), 14-23.
34. Bule M, Abdurahman A, Nikfar S, Abdollahi M, Amini M (2019). *Antidiabetic effect of quercetin: A systematic review and meta-analysis of animal studies*. *Food Chem Toxicol.*, 125, 494-502.
35. Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC (2018). *Chapter 38: pharmacotherapy of Inflammation, fever, pain and Gout*, *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basic of Therapeutics*, 13<sup>th</sup> edition

36. Camillia Kappe, Qimin Zhang, Thomas Nyström, Åke Sjöholm (2014). Effects of high-fat diet and the anti-diabetic drug metformin on circulating GLP-1 and the relative number of intestinal L-cells, *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 6(70)
37. Citlaly Gutiérrez-Rodelo, Adriana Roura-Guiberna, Jesús Alberto Olivares-Reyes (2017). Molecular Mechanisms of Insulin Resistance: An Update, *Gaceta médica de México*, 153, 197-209.
38. Chiu PY et al (2002). In vivo antioxidant action of a ligan-enriched extract of Schisandra fruit and an anthraquinon-containing extract of Polygonum root in comparison with Schisandrin B and emodin, *Planta. Med*, 68(11), 951-6
39. Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S (2005). Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. *Pharmacol Res*; 51(2),117-23.
40. David E.Golan, Ehrin J.Armstrong. April W. Armstrong (2017). Chapter 6: Drugs toxicity, *Principles of Pharmacology*, 14<sup>th</sup> edition 79-81.
41. Eid HM, Haddad (2017). The Antidiabetic Potential of Quercetin: Underlying Mechanisms. *PS Curr Med Chem*; 24(4):355-364.
42. Graham Rena, D.Grahame Hardie, Ewan R.Pearson (2017). The mechanisms of action of metformin. *Diabetologia*. 60(9), 1577-1585
43. Gerhard Vogel H (2007). *Drug discovery and evaluation: Pharmacological assay*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1327-1355.
44. H. P. Rang, J. M. Ritter, R. J. Flower et al (2014). *Rang & Dale's Pharmacology*, 8.
45. Katzung B.G. (2012). Chapter 41: Pancreatic Hormones & Antidiabetic Drugs. *Basic and Clinical Pharmacology*, The McGrawHill company, 743-765
46. Kennon-McGill S, McGill Mr (2018). Extrahepatic toxicity of acetaminophen: critical evaluation of the evidence and proposed mechanisms. *J. Clin transl Res*, 3(3).
47. KyungJun Jang, Sang Hoon Choi and Yung Hyun Choi (2016). Anti-inflammatory potential of total saponins derived from the roots of Panax ginseng in



- lipopolysaccharide-activated RAW 264.7 macrophages, *Exp Ther Med*, 11(3), 1109-1115
48. Kon K, Kim JS, Jaeschke H et al. (2004). Mitochondrial permeability transition in acetaminophen-induced necrosis and apoptosis of cultured mouse hepatocytes. *Hepatology*, 40 (5), 1170-1179
49. Lu, A.M. & Jeffrey, C. (2011). *Cucurbitaceae. Flora of China* 19, 1–56
50. Marin-Penalver JJ, Martin-Timon I, Sevillano-Collantes C, et al (2016). Update on the treatment of type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes*. 7(17), 354- 95.
51. Man Lin, Yu-Rong Wang, Xin Fang Zhai (2019). Protective Effects of Flavonoids From *Gynostemma Pentaphyllum* on Oxidative Damage in LLC-PK1 Cells, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 44(6), 1193- 1200.
52. Norberg, Hoa, N.K., L iepinsh, Van Phan Dao, et al (2004). A novel insulin releasing substance, phanosids from the plant *Gynostemma pentaphyllum*. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(40). 41361-41367
53. C. O. Okoli, I. C. Obidike, A. C. Ezike et al (2011). Studies on the possible mechanisms of antidiabetic activity of extract of aerial parts of *Phyllanthus niruri*. *Pharm Biol*, 49(3), 248-55.
54. Osasenaga Macdonald Ighodaro, Abioka Mohammed Adéoun, Olúeyi Adeboye Akinloye (2017). Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies, *Medicina (Kaunas)*, 53(6), 365-374
55. Pedram Moshai-Nezhad<sup>1</sup> ID , Maryam Iman<sup>1</sup> ID , Firouz Faed Maleki, Ali Khamesipour (2018). Hepatoprotective effect of *Descurainia Sophia* seed extract against paracetamol-induced oxidative stress and hepatic damage in mice. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 7(4).
56. Phielix E, Meex R, Moonen-Kornips E, et al (2010). Exercise training increases mitochondrial content and ex vivo mitochondrial function similarly in patients with type 2 diabetes and in control individuals. *Diabetologia*, 53, 1714–1721
57. Standards of Medical Care in Diabetes-2018: Summary of Revisions (2018). *Diabetes Care*, 41(1), S13-S19.

58. Dong Xu, Meng-Jiao Hu, Yan-Qiu Wang et al (2019). Antioxidant Activities of Quercetin and its complexes for medicinal application, *Molecules*, 24(6), 1123.
59. Reed M, Meszaros K, Entes L, et al (2000). A new rat model of type 2 diabetes: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism*. 49(11), 1390–1394.
60. Middleton E Jr, Kandaswami C, Theoharides (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev.*, 52(4), 673-751.
61. Osama M.A., Ayman M.M., Adel A.M. (2011), Antidiabetic effects of hesperidin and naringin in type 2 diabetic rat, *Diabetologia Croatica*, 41(2), 53 – 67.
62. Parvin Mazraati, Mohsen Minaiyan (2018), Hepatoprotective Effect of metadoxine on Acetaminophen-induced Liver Toxicity in Mice, *Advanced Biomedical Research*, 7(67).
63. Satoko A., Shinichi K., Kazuharu S. (2010), Dietary hesperidin exerts hypoglycemic and hypolipidemic effects in Streptozotocin-induced marginal type 1 diabetic rats, *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 87 – 92.
64. Rivera R.F., Escalona C.N., Garduno S.L. et al (2011), Antiobesity and hypoglycaemic effects of aqueous extract of *Ibervillea sonora* in mice fed a high fat diet with fructose, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*.
65. Sapna D. Desai, Dhruv G. Desai, Harmeet Kaur (2009). Saponins and their Biological Activities, *Pharma Time*, 41(3), 13-16
66. Sharma R., Dave V., Sharma S. et al (2013). Experimental Models on Diabetes: A Comprehensive Review. *International Journal of Advances in Pharmaceutical Sciences*, 4(1).
67. Song-Chow Lin et al (1997). The hepatoprotective and therapeutic effects of Propolis ethanol extract on chronic alcohol-induced liver injuries *Am.J.Chin.Med*, 25 (3-4), 325-32
68. Srinivasan K., Ramarao P. (2007), Animal models in type 2 diabetes researches: An overview, *Indian Journal of Medicine Research* 125, 451-72.
69. Tapan Seal, Kaushik Chaudhuri and Basundhara Pillai (2013). Effect of solvent extraction system on the antioxidant activity of some selected wild edible fruits

of Meghalaya state in India, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(1),276-282

70. Tung-Yuan Lai et al (1999). Ameliorative effect of an urinary preparation on acetaminophen and D-galactosamin induced hepatotoxicity in rats, *Am.J.Chin.Med*, 27(1), 73-81
71. Vinayagam R., Xu B (2015). Antidiabetic properties of dietary flavonoids: A cellular mechanism review. *Nutr. Metab. (Lond.)*,12(60).
72. Vendemiale G, Grattagliano I, Altomare E et al. (1996). Effect of acetaminophen administration on hepatic glutathione compartmentation and mitochondrial energy metabolism in the rat. *Biochemical pharmacology*, 52 (8), 1147-1154.
73. Weber LW, Boll M, Stampfl A (2003). Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Crit Rev Toxicol*, 33(2).105-36.
74. W.J.J.O. de Wilde, B.E.E. duyfjes, R.W.J.M. Van der Ham (2007). *Revision of the genus Gomphogyne (Cucurbitaceae)*, 35, 45-68.
75. Willem J.J.O.de Wilde, Brigitta E.E.duyfjed, Phongsak phonsena, et al (2011). *Miscellaneous South East Asian Cucurbit News IV.*, 39, 1-22
76. World Health Organization (2006). Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia, *Report of a WHO/IDF consultation*, WHO.
77. World Health Organization (2018). Global report on diabetes 2016, WHO.
78. Ye H, Nelson LJ, Gómez Del Moral M, et al (2018). Dissecting the molecular pathophysiology of drug-induced liver injury, *World J. Gastroenterol.* , 4(13), 1373-1385.
79. Yu T, Sungelo MJ, Goldberg IJ, Wang H, et al (2017). Streptozotocin-Treated High Fat Fed Mice: A new type 2 Diabetes Model used to study Canagliflozin-Induced alterations in lipid and lipoproteins, *Horm Metab Res* 49(5), 400-406.

