

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KIỂM SOÁT ĐƯỜNG HUYẾT CỦA PHẦN CHIẾT GEL LÔ HỘI

Đến toà soạn 16 - 6 - 2015

Đỗ Thị Việt Hương, Nguyễn Thị Huệ, Ngô Thị Hương, Nguyễn Mạnh Dũng

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

Đặng Đức Khanh

Viện Pháp Y Quân đội

SUMMARY

ASSESSMENT OF THE POTENTIAL FOR BLOOD GLUCOSE CONTROL WITH ALOE VERA GEL

N-hexane extract (EH) of Aloe vera gel was evaluated by the potential for blood glucose control using in vitro inhibitory assays and diabetic type II animal model. The α -amylase inhibitory of EH of aloe vera gel were assessed at dose of 50 – 275 $\mu\text{g/ml}$ of EH with percentage inhibition ranging between 21,01 – 33,44%. Their corresponding 50% inhibition concentrations were found to be 447,33 $\mu\text{g/ml}$. The antidiabetic effect of EH in normal and alloxan monohydrate (120 mg/kg body weight) induced diabetics mice. Group 1 and 2 mice were normal and given orally 8 mgEH/day, diabetes was induced in group 3 and 4 mice, treated/or not with EH. The fasting blood glucose level was determined at different time in 22 days treatment. There were no difference of blood glucose levels in group 1, but decreased 6% in group 2 and the body weight in both group increased 1,8g in 22 days. Average increase in fasting blood glucose levels and body weight was observed in groups 3 mice which are diabetic control group, died seven days later but a significant decrease 39% and 8,16%, respectively, was in group 4. These findings suggest that Aloe vera gel have a blood glucose level control effect and would be candidate in functional food for the treatment of type 2 diabetes mellitus.

Keyword(s): Aloe vera gel, type 2 diabetes.,

1. MỞ ĐẦU

Nguyên nhân dẫn tới bệnh tiểu đường là do sự rối loạn chuyển hóa cacbohydrat, lượng đường trong cơ thể không được oxy hóa để

giải phóng năng lượng do sự thiếu hụt hormone insulin của tuyến tụy. Hai dạng tiểu đường các bệnh nhân mắc phải là tiểu đường type I có xu hướng xảy ra ở các bệnh nhân

dưới 30 tuổi, chiếm khoảng 10% trong số các trường hợp mắc bệnh tiểu đường [1] và khoảng 90% là tiểu đường type II, việc điều trị tiểu đường type II khá phức tạp do một vài yếu tố gắn liền với quá trình bệnh, có thể do cơ thể không sản xuất đủ insulin hoặc nếu không đáp ứng với insulin như bình thường [2-4]. Các nhóm thuốc phổ biến được sử dụng trong điều trị và kiểm soát bệnh tiểu đường như nhóm Sulfonylurea có tác dụng kích thích sản xuất insulin; nhóm Bigunamid làm giảm đề kháng insulin ở cơ và gan hay nhóm ức chế men α -glucosidase – Acarbose. Tuy nhiên các tác dụng phụ không mong muốn cho bệnh nhân tiểu đường khi điều trị các nhóm thuốc này biểu hiện rất rõ rệt như Sunfamit làm hạ đường huyết quá thấp, Metfomin gây cảm thấy chán ăn, rối loạn tiêu hóa và nguy hiểm nhất là nhiễm toan acid lactic, Glucobay ảnh hưởng đến gan...[5]. Hầu hết các nhóm thuốc kể trên đều là các thuốc nhập khẩu đắt tiền, để giảm chi phí và quan trọng hơn là để tránh những tác dụng phụ cho người bệnh thì phương pháp điều trị tiểu đường đang rất được quan tâm đó là việc sử dụng đơn lẻ hoặc kết hợp các thực vật có được tính điều trị tiểu đường [6-8]. Rất nhiều nghiên cứu đã tập trung vào hướng này và cho kết quả tích cực, rất nhiều loài thực vật được phát hiện trong đó có lô hội, một loài cây rất phổ biến trong cuộc sống. Trong một khảo sát ngẫu nhiên trên đối tượng tiểu đường béo phì cho thấy căn chiết gel lô hội có tác dụng giảm glucose trong máu và bệnh nhân có dấu hiệu giảm cân trong 8 tuần điều trị [9]. Căn chiết lô hội dùng để điều trị trên chuột gây tiểu đường type II cho kết quả khá bất ngờ, lượng glucose máu giảm rõ rệt đồng thời lượng glycogen gan và insulin tăng rõ rệt [10-12]. Trong nghiên cứu này, khả năng

kiểm soát đường huyết của căn chiết gel lô hội được thử nghiệm trên mô hình chuột tiểu đường gây bệnh bởi alloxan monohydrate cũng như ảnh hưởng của căn chiết này lên enzyme thủy phân cacbohydrat cũng được khảo sát.

2. CHUẨN BỊ VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Chuẩn bị

Căn chiết n-hexan (EH): 30 kg gel lô hội được ngâm và chiết theo phương pháp [13] thu được căn chiết n-hexan (EH) và được bảo quản trong tủ lạnh ở 4°C trong suốt quá trình tiến hành thí nghiệm.

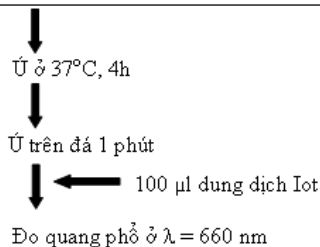
Hoạt độ enzyme α -amylase (Novozymes, Sigma Aldrich, Đức): enzyme được kiểm tra hoạt độ chính xác trước khi tiến hành phản ứng [13].

2.2. Phương pháp thí nghiệm

2.2.1 Khảo sát khả năng ức chế enzyme α -amylase của căn chiết gel lô hội

Khả năng ức chế sự thủy phân tinh bột của enzyme α -amylase bởi căn chiết gel lô hội được thực hiện theo phương pháp của Fennel [13] hiệu chỉnh với tổng thể tích là 500 μ l hỗn hợp phản ứng, căn chiết được khảo sát ở các nồng độ khác nhau với nồng độ căn chiết gốc là 0,5 mg/ml:

Dịch chiết	0-250 μ l
5% tinh bột trong đệm photphat 100mM	100 μ l
10 U/ml α -amylase	25 μ l
NaCl 0,9%	0-300 μ l



Sau khi kết thúc phản ứng, hỗn hợp được đo ở bước sóng 660 nm trên máy quang phổ Biomate 3 (Thermo Scientific).

2.2.2 Khảo sát hàm lượng căn chiết n-hexan trên chuột bình thường

Mỗi nhóm thí nghiệm gồm 2 chuột Swiss khỏe mạnh. Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhịn ăn qua đêm. Liều thử nghiệm tăng dần từ 50 mg/kg đến 450 mg/kg trọng lượng chuột, căn chiết được pha vào 0,2 ml nước và cho uống với lượng hằng định mỗi lần là 0,05 ml/10g cân nặng, uống 2 lần/ngày mỗi lần cách nhau 7 giờ. Theo dõi tình trạng chuột 3 ngày đầu, sau đó nghỉ một ngày và theo dõi chuột đến ngày thứ 7 sau khi uống thuốc [14].

2.2.3 Khảo sát khả năng hạ đường huyết của căn chiết gel lô hội

Động vật: 28 con chuột đực dòng Swiss khỏe mạnh khoảng 8-9 tuần tuổi, có trọng lượng từ 20-22 gram được chia làm 4 nhóm để nghiên cứu: nhóm 1, nhóm đối chứng (chuột bình thường), nhóm 2 (chuột bình thường + uống căn chiết lô hội), nhóm 3 (chuột gây bệnh đái tháo đường bằng cách tiêm dung dịch alloxan monohydrate nồng độ 120 mg/kg trọng lượng chuột vào khoang bụng và được theo dõi trong 7 ngày và không được điều trị bằng căn chiết EH), nhóm 4 (chuột bị gây bệnh tiểu đường như nhóm 3 và được điều trị bằng căn chiết lô hội). Khả năng kiểm soát đường huyết của căn chiết lô hội được khảo sát bằng cách cho chuột bị bệnh uống (400 mg/kg trọng lượng chuột)/không được uống căn chiết lô hội. Chuột bị bệnh uống 0,2 ml/ngày chia làm 2 lần mỗi lần 0,1 ml căn chiết lô hội trong 22 ngày điều trị. Trọng lượng và đường huyết chuột cách 5 ngày được kiểm tra một lần bằng dụng cụ kiểm tra đường huyết cầm tay (ACCU chek performa, Roche, Đức) lúc trước khi cho ăn sáng.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

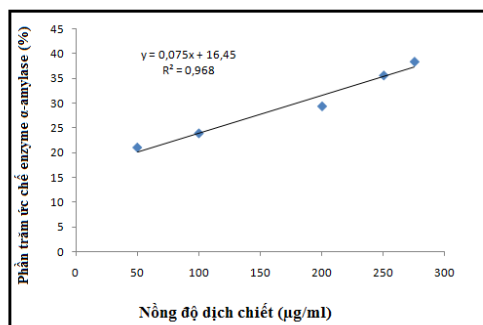
3.1 Khảo sát khả năng ức chế enzyme α -amylase của căn chiết gel lô hội

Khả năng ức chế enzyme α -amylase in vitro của căn chiết EH từ gel lô hội được trình bày ở bảng 1 và hình 1.

Bảng 1: Khả năng ức chế của căn chiết gel lô hội với enzyme α -amylase

Nồng độ căn chiết ($\mu\text{g/ml}$)	Phần trăm ức chế enzyme α -amylase (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
0	0	
50	21,01 $\pm$ 0,91	447,33
100	23,90 $\pm$ 0,65	
200	29,38 $\pm$ 0,16	
250	35,65 $\pm$ 0,48	
275	38,44 $\pm$ 0,43	

Khả năng ức chế enzyme α -amylase của căn chiết EH tuyến tính với nồng độ cao, khi tăng nồng độ căn chiết thì khả năng ức chế enzyme α -amylase tăng. Phần trăm ức chế enzyme của căn chiết EH từ 21-38%. Khoảng cách giữa các nồng độ là tương đối cao (50 -275 $\mu\text{g/ml}$) nhưng sự khác biệt giữa phần trăm ức chế enzyme lại không được thể hiện rõ ràng. N-hexan là một dung môi kém phân cực nên các hợp chất tập hợp trong căn chiết EH hầu hết là các hợp chất không hoặc ít phân cực, có thể thấy rằng các hợp chất này ít gây khả năng ức chế enzyme α -amylase.



Hình 1: Mối tương quan giữa nồng độ căn chiết EH khảo sát với phần trăm ức chế hoạt động của enzyme α -amylase.

Đường tuyến tính dựng được thiết lập biểu diễn tương quan giữa nồng độ cặn chiết và phần trăm ức chế enzyme α -amylase, phương trình tuyến tính đưa ra là $y = 0,075x + 16,45$ ($R^2 = 0,968$). Có thể suy ra giá trị nồng độ có khả năng ức chế 50% là 447,33 $\mu\text{g/ml}$.

3.2 Khảo sát nồng độ cặn chiết n-hexan an toàn trên chuột bình thường

Khi cho chuột uống cặn chiết ở ngày đầu tiên, chuột trong các nhóm ít hoạt động, nhưng không có biểu hiện mệt mỏi. Ngày tiếp theo chuột hoạt động nhanh nhẹn hơn và ăn uống bình thường, chuột ở các nhóm đều đi đại tiện nhưng hơi lỏng, quan sát màu sắc phân có màu xanh đen vì cặn chiết EH có màu xanh. Ngày thứ ba, các nhóm chuột hoạt động ăn uống và bài tiết bình thường. Không có chuột nào chết trong 3 ngày đầu. Trong 7 ngày theo dõi tiếp theo, chuột đều khỏe mạnh ở các nhóm có nồng độ 50, 100, 200, 300 và 400 mg/kg trọng lượng; chuột có biểu hiện lờ đờ, hoạt động kém, ít kêu bắt đầu xuất hiện vào ngày thứ 5 ở nhóm chuột được cung cấp

450 mg/kg trọng lượng nhưng không thấy hiện tượng tử vong ở ngày thứ 7. Như vậy liều lượng cặn dự kiến dùng trên chuột là 400 mg/kg trọng lượng chuột (tương đương với 8 mg cặn chiết/ngày).

3.3 Khảo sát khả năng hạ đường huyết của cặn chiết gel lô hội

Sau 7 ngày tiêm dung dịch alloxan monohydrate, tiến hành kiểm tra trọng lượng và nồng độ đường huyết chuột ở mỗi nhóm, các chỉ số được trình bày trong bảng 2. Kết quả cho thấy nồng độ đường huyết của các nhóm chuột 3 và 4 khi tiêm thuốc alloxan monohydrate có sự khác biệt rõ ràng, từ 7,04 (mmol/L) và 7,09 (mmol/L) lên 25,09 (mmol/L) và 24,71 (mmol/L), tăng gấp 3,5 lần; đồng thời trọng lượng của chuột trong nhóm 3 và 4 cũng tăng nhanh hơn ($>1,4$ g) so với nhóm chuột không gây bệnh là nhóm 1 và 2, nguyên nhân có thể do tác dụng của thuốc tới các tế bào tuyến tụy gây nên rối loạn trong cơ thể chuột dẫn đến sự tăng vọt về trọng lượng chuột.

Bảng 2: Sự thay đổi đường huyết và khối lượng của các nhóm chuột sau khi tiêm/ không tiêm alloxan monohydrate.

Nhóm chuột thí nghiệm		Ngày 0		Ngày 7	
		Nồng độ đường huyết (mmol/L)	Khối lượng chuột (gram)	Nồng độ đường huyết (mmol/L)	Khối lượng chuột (gram)
Không tiêm thuốc	1	7,13 $\pm$ 0,17	21,58 $\pm$ 0,92	7,17 $\pm$ 0,27	21,93 $\pm$ 0,93
	2	7,06 $\pm$ 0,33	21,64 $\pm$ 0,83	7,2 $\pm$ 0,18	22,07 $\pm$ 0,85
Tiêm thuốc	3	7,04 $\pm$ 0,37	21,48 $\pm$ 0,77	25,09 $\pm$ 0,70	22,81 $\pm$ 0,61
	4	7,09 $\pm$ 0,18	21,64 $\pm$ 0,83	24,71 $\pm$ 0,95	23,04 $\pm$ 0,95

Trong 22 ngày điều trị tiếp theo, chỉ số đường huyết của các chuột ở nhóm 1 khá ổn định chỉ dao động từ 7,13 mmol/L đến 7,2 mmol/L, đồng thời trọng lượng chuột tăng

dần trong các lần kiểm tra (1,8 g sau khi kết thúc thí nghiệm), trong khi đó lượng đường huyết của chuột ở nhóm 2 (chuột bình thường và được uống cặn chiết EH) lại có xu

hướng giảm nhẹ 6% (từ 7,2 mmol/L xuống chiết, bảng 3.
còn 6,77 mmol/L) sau hơn 3 tuần dùng căn

Bảng 3: Chỉ số đường huyết và trọng lượng chuột trong 22 ngày thí nghiệm

Nhóm	Chỉ số đường huyết (GL) và khối lượng chuột (BW) ở các ngày theo dõi									
	Ngày 1		Ngày 5		Ngày 10		Ngày 15		Ngày 22	
	GL	BW	GL	BW	GL	BW	GL	BW	GL	BW
1	7,11	21,92	7,1	22,35	7,06	22,84	7,01	23,18	7,17	23,72
	± 0,24	± 0,93	± 0,23	± 0,96	± 0,35	± 0,75	± 0,29	± 0,79	± 0,25	± 0,73
2	7,06	22,07	6,79	22,55	6,74	23,05	6,84	23,56	6,77	23,99
	± 0,28	± 0,85	± 0,5	± 0,78	± 0,49	± 0,77	± 0,51	± 0,76	± 0,32	± 0,7
3	25,06	22,81	26,18	24,55	--	--	--	--	--	--
	± 0,7	± 0,61	± 0,75	± 0,67						
4	24,71	23,04	19,16	22,84	17,57	21,71	18,03	21,48	15,07	21,16
	± 0,95	± 0,82	± 1,13	± 0,85	± 0,97	± 1,06	± 1,49	± 0,71	± 1,43	± 1,07

Chuột ở nhóm 4 là nhóm bị bệnh và được điều trị bằng căn chiết EH; kết quả cho thấy trong quá trình điều trị, chỉ số đường huyết có thay đổi theo chiều hướng tích cực; ngày đầu tiên khi bắt đầu điều trị, chỉ số đường huyết của chuột rất cao 24,71 mmol/L nhưng sau 10 ngày điều trị chỉ số giảm 28,9% còn 17,57 mmol/L nhưng trọng lượng cơ thể giảm được 5,8% so với ngày đầu điều trị, nhưng đến lần kiểm tra tiếp theo mức đường huyết lại có xu hướng tăng lên (18,03 mmol/L) và có dấu hiệu giảm trong những ngày điều trị cuối 15,07 mmol/L, kết quả này cũng trùng hợp với một thí nghiệm trên mô hình chuột tiểu đường đã được nghiên cứu của một số tác giả khác [10-12, 15-16]. Trong khi đó kết quả kiểm tra ở nhóm 3 (chuột bị bệnh và không được điều trị), chỉ số đường huyết tăng và không có dấu hiệu suy giảm trong 5 ngày đầu điều trị đồng thời trọng lượng chuột cũng tăng đáng kể 22,81 g trong những ngày đầu và 24,55 g ở ngày đo thứ 5, đồng thời xuất hiện chuột tử vong ở

ngày thứ 7 và đến ngày thứ 10 thì không còn chuột nào sống sót ở nhóm kiểm chứng này. Trong cả quá trình điều trị 22 ngày, cho thấy khả năng hạ đường huyết của căn chiết n-hexan từ gel lô hội đạt được 39% đồng thời trọng lượng cơ thể chuột cũng giảm 8,16% so với thời điểm gây bệnh tiểu đường ban đầu, đây là một số liệu tuy không cao nhưng cũng cho thấy gel lô hội của Việt Nam cũng có khả năng làm giảm lượng glucose trong máu của chuột và hi vọng thực vật này cũng cho kết quả tốt trên các bệnh nhân đang ở giai đoạn 2 tiểu đường. Trong những năm gần đây, có rất nhiều công trình nghiên cứu công bố các thực vật có khả năng kiểm soát đường huyết như quả cây nhàu, các bộ phận của cây ổi, hạt nho... đều có hiệu lực trên 50% [17-20], chúng đều là những thực vật gần gũi với con người và lô hội cũng vậy, đây là một hướng đi mới nhằm thay thế dần các thuốc tiểu đường tổng hợp gây tác dụng phụ mạnh cho bệnh nhân.

Lời cảm ơn: Xin cảm ơn Trung tâm Hỗ trợ Nghiên cứu Châu Á đã hỗ trợ cho đề tài này được hoàn thành.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Shalev A. (1999) Hope for insulin mimetic oral antidiabetic drugs. Eur. J. Endocrinol, 141(6), 561-562.
2. Ralph A. D, Roy E., Muhammad A. G. (1997) Pathogenesis of type 2 diabetes: metabolic and molecular implication for identifying diabetes genes. Diabetes Care, 5(3), 177—267.
3. Polonsky K.S., Sturis J., Bell G.I. (1996) Non-insulin dependent diabetes mellitus-a genetically programme failure of the beta-cell compensate for insulin resistance. N. Engl. J. Med., 334(12), 777-783.
4. Groop L.C., Bonadonna R.C., DelPrato S., Ratheiser K., Zyck K., Ferrannini E., DeFronzo R.A. (1998) Glucose and free fatty acid metabolism in non-insulin dependent diabetes mellitus. Evidences for multiple sites of insulin resistance. J. Clin Invest, 84(1), 205- 213 (1989).
5. David M.D., John B.B., Mayer B.D., Robert J.J., Rury R.H., Sherwin R., Bernard Z. (2006) Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes: A Consensus Algorithm for the Initiation and Adjustment of Therapy. Diabetes Care, 29(8), 1963-1972 (2006).
6. Anturlaikaar.S.D., Gopumadhavan S., Chauhan B.L., Mitra S.K. (1995) Effect of D-400, a Herbal Formulation, on Blood Sugar of Normal and Alloxan-induced Diabetic Rats. Ind. J. Phys. Pharm., 39(2), 95-100.
7. Manisha M., Priyanjali Dixit, Jayant L., Saroj G., Thomas P.A.D. (2007) Indian Herbs and Herbal Drugs Used for the Treatment of Diabetes. J. Clin. Biochem. Nutr., 40(3), 163-173.
8. Grover J.K., Yadav S., Vats V. (2002) Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. J. Ethnopharmacol, 81(1), 81-100.
9. Ho C.C., Seok J.K., Ki Y.S., Bum J.O., Be l.C. (2013) Metabolic effects of aloe vera gel complex in obese prediabetes and early non-treated diabetic patients: Randomized controlled trial. Nutrition, 29(9), 1110-1114.
10. Okyar A., Can A., Akev N., Baktir G., Suthepinar N. (2001) Effect of Aloe vera leaves on blood glucose level in Type I and Type II diabetic rat models. Phytother. Res., 15 (2), 157 – 161.
11. Motala A. A., Omar M.A.K., Pirie F.J. (2000) Type I diabetes mellitus in Africa: epidemiology and pathogenesis. Diabetes Int. J., (10), 33 – 64.
12. Eman G.E.H., Mohamad H.A.H., Ashraf M. M., Anwaar A. K. (2003) Effect of Aloe vera extract on some physiological parameters in diabetic albino rats. The Egypt. J. of Hospital Med, 12, 53-61.
13. Ferrucci M. (1954) The Fennel method of determination of amylase activity in the blood in normal individuals. Arcisp S. A. F., 7(1), 71-77.
14. Dam D.T. Pernicious toxic method. Med. Pub. House (1996).
15. Kim K., Kim H., Kwon J., Lee S., Kong H., Im S., Le Y. H., Lee Y. R., Oh S.T., Jo T. H., Park Y. I., Lee C. K., Kim K. (2009) Hypoglycemic and hypolipidemic effects of processed *Aloe vera* gel in a mouse model of non-insulin-dependent diabetes mellitus. Phytomedicine, 16 (9), 856-863.

(xem tiếp tr. 296)