BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO **VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT

ĐỚI DUY CƯỜNG

NGHIÊN CỨU TẠO CHẾ PHẨM TỪ DƯỢC LIỆU HỖ TRỢ ĐIỀU TRỊ BỆNH ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TYPE 2 TRÊN CHUỘT

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC

Hà Nội – 2014

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu - ĐHTN http://www.lrc-tnu.edu.vn/

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành đề tài luận văn này tôi xin được gửi lời biết ơn trân trọng nhất tới người Thầy của tôi, GS.VS.TSKH. Đái Duy Ban, người đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ và ủng hộ tôi trong suốt thời gian qua.

Tôi xin chân thành cảm ơn phòng đào tạo Sau Đại học - Viện sinh thái và tài nguyên sinh vật thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và công nghệ Việt Nam, các thầy cô của Viện đã giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi cho tôi học tập và hoàn thành luận văn .

Tôi xin chân thành cảm ơn đề tài số: 111/LHHVN -Trung tâm công nghệ hóa sinh ứng dụng đã tạo điều kiện về vật chất, thiết bị và kinh phí cho tôi thực hiện nghiên cứu để hoàn thành luận văn này.

Tôi cũng xin được gửi lời cảm ơn gia đình, bạn bè những người thân yêu đã động viên và tạo mọi điều kiện cho tôi thực hiện tốt mọi công việc.

Xin chân thành cảm ơn!

Học viên

Đới Duy Cường

TỪ VIẾT TẮT

Ký hiệu	Tên viết tắt
IGF	Epidermal growth factor (yếu tố tăng trưởng biểu mô)
STZ	Streptozotocin
TLPT	Trọng lượng phân tử
IAA	Auto antibody to insulin (kháng thể kháng insulin)
WHO	World Health Organization (tổ chức y tế thế giới)
ATP	Andenosin triphosphate
GOT	Glutamate oxalacetat transaminase
GPT	Glutamate pyruvate transaminase
HbA1c	Glycated Hemoglobin (hemoglobin gắn glucose)
LD_{50}	Lethal dose 50% (liều gây chết 50% động vật thí nghiệm)
mg	Miligam
ml	Milinit
g	Gam
Kg	Kilogram
LD_0	Lethal dose, 0% (liều dưới chết)
IDF	International Diabetes Federation (liên đoàn đái tháo đường quốc tế)
µg	Microgam
ĐTĐ	Đái tháo đường
TPCN	Thực phẩm chức năng
GAD	Glutamic Acid Decarboxylase
HDL	High Density Lipoportein (lipoprotein tỷ trọng cao)
RIA	Radio Immuno Assay (Miễn dịch phóng xạ)
ELISA	Enzym Linked Immuno sorbet Assay (Phản ứng hấp thụ miễn dịch liên kết enzym)
ADA	American Diabetes Asociation (hiệp hội đái tháo đường Hoa Kỳ)

MỞ ĐẦU

Bệnh đái tháo đường (ĐTĐ) type 2 là một bệnh mạn tính không lây nhiễm, liên quan đến dinh dưỡng, lối sống, có tốc độ phát triển rất nhanh ở nhiều nước trên thế giới. Đái tháo đường cũng là một nhóm các bệnh chuyển hóa đặc trưng bởi tăng glucose máu mạn tính do hậu quả của sự thiếu hụt hoặc giảm hoạt động của insulin hoặc kết hợp cả hai. Tăng glucose máu mạn tính trong đái tháo đường làm tổn thương, rối loạn và suy yếu chức năng nhiều cơ quan khác nhau đặc biệt là tổn thương mắt, thận, thần kinh, tim mạch [2,7]

Từ những năm 90 của thế kỷ 20, các chuyên gia y tế đã dự báo *"Thế kỷ 21 là thế kỷ của các bệnh rối loạn chuyển hóa"*. Năm 2010 theo ước tính, trên thế giới có khoảng 285 triệu bị bệnh ĐTĐ. ĐTĐ đã trở thành vấn nạn của thế giới và đã trở thành một trong những nguyên nhân chính của nhiều bệnh hiểm nghèo như bệnh tim mạch, tai biến mạch máu não, mù mắt, suy thận, liệt dương, cắt cụt chi v.v... Phần lớn bệnh nhân mắc đái tháo đường type 2 chiếm khoảng 90-95 % trong tổng số bệnh nhân đái tháo. Riêng trong năm 2012 có 4,8 triệu người chết vì đái tháo đường và hơn 471 tỷ USD đã được sử dụng cho việc chăm sóc sức khỏe cho các bệnh nhân đái tháo đường. Ước tính mỗi năm thế giới phải chi khoảng 251-375 tỷ USD để chữa căn bệnh này.

Việt Nam là một quốc gia đang phát triển nhanh chóng về kinh tế, xã hội cùng với sự thay đổi lối sống, đã góp phần làm gia tăng tỷ lệ mắc bệnh ĐTĐ type 2 chung của các nước trên thế giới. Ở nước ta theo kết quả điều tra năm 2012 do Bệnh viện Nội tiết Trung ương tiến hành, tỷ lệ mắc bệnh trên toàn quốc ở người trưởng thành là 5,42% tỷ lệ đái tháo đường chưa được chẩn đoán trong cộng đồng là 63,6%. Các chuyên gia cũng đã chỉ ra rằng cứ 10 bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh có 6 người đã có biến chứng của bệnh đái tháo đường. Mục tiêu vàng trong điều trị bệnh đái tháo đường là phải kiểm soát, duy trì nồng độ glucose máu ở mức bình thường, trong đó có việc hạn chế tăng glucose máu sau ăn, kiểm soát nồng độ glucose máu lúc đói, HbA1c và insulin. Việc kiểm soát

tốt glucose máu sau ăn trên bệnh nhân đái tháo đường sẽ góp phần làm giảm rối loạn chuyển hóa đường đồng thời giảm các biến chứng mạch máu lớn và mạch máu nhỏ do tăng glucose máu gây ra.

Để kiểm soát glucose máu sau ăn ở bệnh nhân đái tháo đường type 2, ngoài các biện pháp giảm cân, luyện tập và thay đổi chế độ ăn, người ta còn phối hợp với việc sử dụng các thuốc điều trị, trong đó có thuốc ức chế enzym α-glucosidase. Ức chế α- glucosidase làm chậm tiêu hóa các đường đôi, dẫn đến giảm hấp thu glucose, do đó làm chậm sự gia tăng glucose máu sau ăn.

Ngày nay y học hiện đại cho ra nhiều loạn tân dược điều trị bệnh đái tháo đường như các loại sulfonylurea, các biguanid, các glybomet, acarbose,… song hầu hết các thuốc này đều có nguồn gốc hóa học phải sử dụng thường xuyên trong suốt cuộc đời nên gây nhiều tác dụng phụ. Trước tình hình đó Tổ chức y tế thế giới (WHO) đã khuyến nghị nên sử dụng các thuốc có nguồn gốc thảo dược sẵn có, giá thành rẻ, ít độc, đồng thời tác dụng của thuốc có hiệu quả tác dụng kéo dài và làm giảm các biến chứng của bệnh. Việc nghiên cứu khảo sát thành phần hóa học và tác dụng dược lý của một số loài thảo dược trên thế giới nói chung và Việt Nam nói riêng đã và đang phát triển mang một tầm quan trọng đặc biệt.

Trên cơ sở đó đề tài luận văn Thạc sĩ của chúng tôi hoàn thành là ***"Nghiên cứu tạo chế phẩm từ dược liệu hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường type 2 trên chuột"*** với 2 mục tiêu chính là:

1. Điều tra chọn lọc một số loài thực vật có vai trò hạ đường huyết.

2. Tạo chế phẩm từ dược liệu có khả năng hỗ trợ điều hòa lượng đường huyết trong máu của chuột bị đái tháo đường type 2.

Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. ĐỊNH NGHĨA, PHÂN LOẠI VÀ NGUYÊN NHÂN BỆNH ĐÁI THÁO ĐƯỜNG

1.1.1. Định nghĩa

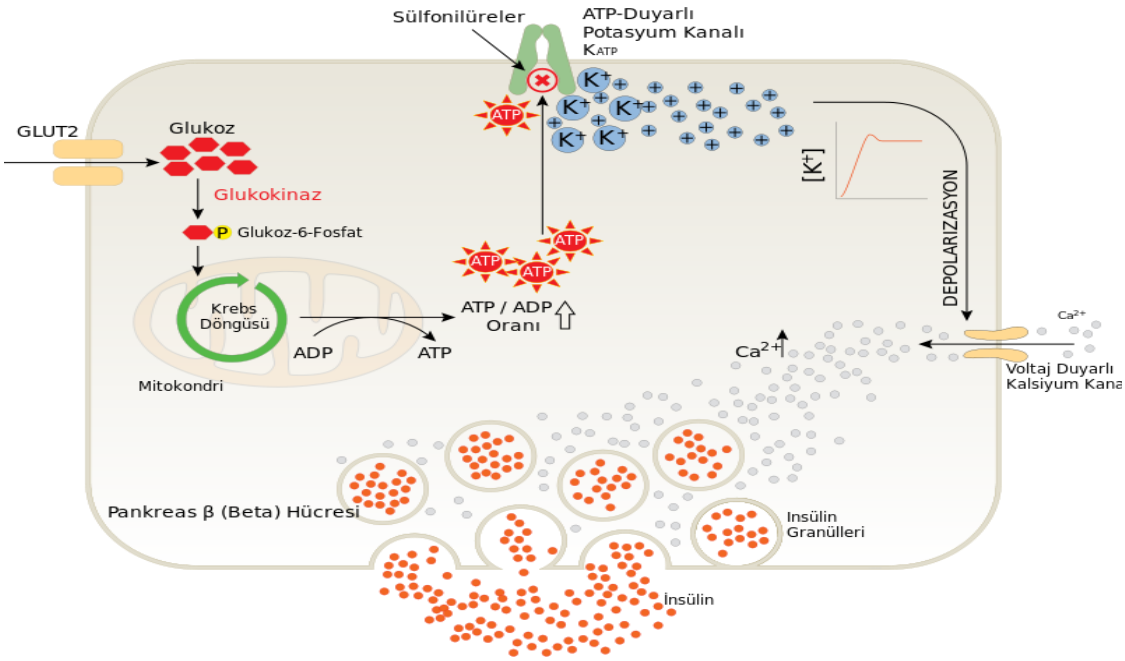
Theo tổ chức y tế thế giới năm 2002: "Đái tháo đường là một bệnh mạn tính gây ra do thiếu sản xuất insulin của tụy hoặc tác dụng insulin không hiệu quả do nguyên nhân mắc phải và/hoặc do di truyền với hậu quả tăng glucose máu. Tăng glucose máu gây tổn thương nhiều hệ thống trong cơ thể, đặc biệt mạch máu và thần kinh".

Theo Hội đái tháo đường Hoa Kỳ năm 2004: "Đái tháo đường là một nhóm các bệnh lý chuyển hóa đặc trưng bởi tăng glucose máu do khiếm khuyết tiết insulin, khiếm khuyết hoạt động insulin, hoặc cả hai. Tăng glucose máu mạn tính trong đái tháo đường sẽ gây tổn thương, rối loạn chức năng hay suy nhiều cơ quan, đặc biệt là mắt, thận, thần kinh, tim và mạch máu".

Bệnh đái tháo đường (Diabetes mellitus) xảy ra khi cơ thể không sản xuất đủ insulin hoặc khi insulin do cơ thể sản xuất ra không làm việc hiệu quả. Tên của bệnh xuất phát từ tiếng Hy Lạp cổ từ "Diabetes" có nghĩa là "vòi nước" hoặc "chảy qua" (chỉ việc thải một lượng lớn nước tiểu) và từ "mellitus" có nghĩa là "giống như mật ong" (Chỉ nước tiểu có vị ngọt do chứa quá nhiều đường – do các nhân viên y tế thời cổ đại tìm hiểu).

Theo y học hiện đại bệnh đái tháo đường điểm nổi bật chung là tăng nồng độ đường huyết (glucose huyết) ≥ 2g/L (11 mmol/L) ở một thời điểm bất kỳ, và đường huyết lúc đói là ≥ 1,26g/L (7 mmol/L). Có hai hiện tượng xảy ra song song là vừa có sự tăng sản xuất đường ở gan thì có sự giảm đường ở mô ngoại vi. Thực chất là có sự rối loạn chuyển hóa glucid, lipid, protid mà nguyên nhân là ảnh hưởng sự hoạt động insulin tuyến tụy. Insulin có tác dụng không những chỉ đối với quá trình chuyển hóa glucose, mà còn thúc đẩy đồng hóa protid bằng

cách đưa các acid amin dễ dàng nhập vào tế bào để tổng hợp protein, đồng thời insulin cũng có vai trò như các yếu tố phát triển IGF1, IGF2, EGF (Epidermal growth factor) làm tăng trưởng các mô. Insulin có tác dụng tới glucose nhưng đồng thời glucose tăng trong máu cũng ảnh hưởng đến việc tiết insulin. Khi nồng độ glucose trong máu cao insulin kết hợp với thụ thể tạo ra kênh GLUT2 chuyển glucose vào trong tế bào. Glucose bị phosphoryl hóa bởi men glucokinase (trong chu trình Krebs) sẽ làm tăng tạo ATP nội bào, dẫn đến đóng kênh K+ (Phụ thuộc ATP và tế bào bị khử cực). Sự khử cực này làm kênh Ca2+ mở ra. Luồng Ca2+ từ ngoài tế bào ùa vào, làm hoạt hóa men phospholipase C, dẫn đến giải phóng Ca2+ từ lưới nội bào. Nồng độ Ca2+ trong bào tương tăng lên sẽ dẫn đến giải phóng các hạt insulin dự trữ trong tế bào vào máu. Như vậy, rõ ràng rằng glucose tăng cao trong máu kích thích việc tiết insulin.



Hình 3. Cơ chế phân tử giải phóng insulin

1.1.2. Phân loại

Theo WHO người ta chia đái tháo đường có 2 thể chính và một số thể hiếm gặp khác.

Đái tháo đường type 1: Đái tháo đường phụ thuộc insulin (IDDM) là loại đái tháo đường chủ yếu hay gặp ở trẻ em và thanh thiếu niên, do tụy mất khả năng sản xuất insulin. Bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường type 1 cần điều trị bằng insulin thì mới có cơ hội sống.

Đái tháo đường type 2: Đái tháo đường không phụ thuộc insulin (NIDDM) thường gặp ở người lớn tuổi và thường gắn liền với tình trạng thừa cân, rối loạn chuyển hóa nội tiết, thần kinh như: suy giảm tuyến giáp, tuyến sinh dục và liên quan tới vùng dưới đồi tuyến yên. Trong nhiều trường hợp nguyên nhân lại do chính thiếu số lượng thụ thể insulin (loại thụ thể có bản chất là glucoprotein) vận chuyển glucose trên màng bề mặt tế bào. Nó không những chủ yếu có ở các tế bào của tổ chức mô đích như gan, cơ, mô mỡ, mà còn ở nhiều những mô khác như tế bào máu, tế bào não. Vì thế cho nên người ta gợi ý điều trị loại này bằng đông trùng hạ thảo chứa nhiều thành phần glucoprotein.

Bệnh nhân đái tháo đường type 2 có lượng insulin ban đầu được sản sinh ra hoàn toàn bình thường, nhưng các tế bào đã không hoặc kém nhạy cảm với sự có mặt của insulin. Đó là hiện tượng kháng insulin. Lượng đường trong máu do không được chuyển hóa thành năng lượng nên giữ ở mức cao, cơ thể bệnh nhân phản ứng bằng cách tăng sản xuất insulin, gây nên quá tải cho tuyến tụy và lượng insulin được tiết ra dần dần giảm.

Ngoài sự thiếu, nguyên nhân còn có thể do chất lượng của thụ thể đó hoạt động giảm sút. Tình trạng béo làm lượng mỡ phân bố và tích lũy trên màng tế bào của các tổ chức làm giảm tế bào nhạy cảm với insulin nên glucose không vào được tế bào. Những người này có khả năng sản xuất một lượng nhỏ insulin nhưng insulin hoạt động không hiệu quả. Có thể kiểm soát đái tháo đường type 2 bằng cách thay đổi chế độ ăn và khống chế cân nặng, nhưng cũng có thể cần dùng đến thuốc hạ đường huyết, hoặc tiêm insulin. Tóm lại đái tháo đường type 2 chủ yếu là do kháng insulin hoặc thiếu insulin, hoặc kết hợp vừa thiếu, vừa kháng.

Các thể khác của bệnh đái tháo đường hiếm gặp hơn và thường đi kèm với các trạng thái bệnh lý khác gọi là đái tháo đường thứ cấp như tổn thương tuyến tụy, rối loạn hormon, các thuốc, suy dinh dưỡng. Đái tháo đường thai nghén cũng thuộc loại này do mất nhạy cảm với insulin ở khung chậu, thể hiện sự không dung nạp glucose trong thời kỳ mang thai.

Gần đây người ta mới phát hiện ra một dạng khác của bệnh đái tháo đường sau khi khám phá não bộ thấy nó cũng có khả năng sản xuất insulin tương tự như tuyến tụy, người ta gọi đó đái tháo đường type 3. Khi não không sản xuất được insulin bình thường. Điều này có liên quan đến bệnh sa sút trí tuệ (Anzheimer). Từ lâu các nhà khoa học đã biết được rằng những người bị mắc bệnh đái tháo đường có nguy cơ mất trí nhớ cao hơn người bình thường tới 65%. Trong tuyến tụy của người bị bệnh đái tháo đường type 2 và trong mô não của người mắc bệnh Anzheimer các nhà khoa học đã tìm thấy cùng một loại chất lắng protein.

Rối loạn dung nạp glucose: Chỉ được kết luận sau khi đã tiến hành làm nghiệm pháp đường huyết bằng đường uống theo tiêu chuẩn của WHO là: đường huyết lúc đói 5,6mmol/L - 6,7mmol/L, hay đường huyết sau 2 giờ uống 75g glucose là > 7,8mmol/L - 11,1mmol/L. Những trường hợp được chẩn đoán rối loạn dung nạp glucose thường có nguy cơ cao về bệnh lý tim mạch như tăng huyết áp, rối loạn mỡ máu, tăng cân… Người ta có theo dõi rối loạn dung nạp glucose dẫn đến đái tháo đường thực chất chỉ có 33%. Như vậy sau khi chẩn đoán rối loạn dung nạp glucose chúng ta có thể can thiệp tích cực bằng chế độ ăn, luyện tập thể dục, giảm cân khi béo, và theo dõi đường huyết định kỳ để ngăn cản sự xuất hiện của đái tháo đường thực sự.

Cơ chế của đái tháo đường phụ thuộc insulin: là do sự phá hủy hoàn toàn các tế bào β của tụy vì vậy bệnh nhân cần insulin suốt đời để điều khiển mức đường máu. Khoảng 10% tổng số bệnh nhân đái tháo đường là ở type 1. Hiện

nay người ta cho rằng tổn thương tế bào β của tuyến tụy là do các kháng thể chống tế bào β được sinh ra.

Cơ chế đái tháo đường không phụ thuộc insulin: đái tháo đường này chiếm khoảng 90% số bệnh nhân đái tháo đường nói chung. Đái tháo đường này do tế bào mất nhạy cảm với insulin. Trong đó béo phì là yếu tố chính tham gia vào sự mất nhạy cảm này. Đái tháo đường loại này mặc dù can thiệp bằng dinh dưỡng là cao nhưng các bác sĩ vẫn thường sử dụng thuốc và insulin.

Theo sự phân loại WHO: phân chia đái tháo đường type 1 và type 2 thường mang ý nghĩa điều trị hơn ý nghĩa bệnh sinh của bệnh. Đái tháo đường type 1 gồm các thể đái tháo đường nguyên phát do tổn thương thực thể tế bào β và sự tổn thương chức năng tế bào β của tụy. Đái tháo đường type 2 gồm nguyên nhân kháng insuslin và bài tiết không đủ insulin của tế bào β tụy vì vậy theo hiệp hội đái tháo đường Hoa Kỳ phân loại chi tiết lại như sau:

a. Đái tháo đường type 1

Do tổn thương hoặc suy giảm chức năng tế bào β nguyên phát.

Do tự miễn:

+ Đái tháo đường do cơ chế tự miễn dịch trung gian (thể thường gặp).

+ Đái tháo đường do cơ chế tự miễn dịch trung gian (thể ít gặp): Hội chứng tự miễn với insulin (kháng thể kháng insulin). Hội chứng Stiff Man điều trị bằng α interferon.

Không tự miễn:

+ Khuyết tật về gen của tế bào β: bệnh lý của insulin đó là bất thường về proinsulin. Đột biến 1 nhánh của insulin.

+ Khuyết tật của ty lạp thể, liên quan đến bệnh điếc. MODY (Maturity Onset Diabetes of Youth) nhiễm sắc thể 7 (Glukinase), nhiễm sắc thể 20, nhiễm sắc thể 12.

Hội chứng Wolfram.