Nghiên cứu tác dụng huy động gluxit của EMEDYC đối với hoạt động thể lực trên động vật thực nghiệm

TS. Võ Tường Kha

TÓM TẮT:

Chuột nhắt trắng uống chế phẩm EMEDYC với các liều 160, 240 và 480mg/kg/ngày, liên tục 21 ngày trên mô hình chuột bơi Brekmann II có tác dụng: Làm tăng dự trữ glycogen ở gan và cơ (dương tính 80-100% số tiêu bản nhuộm PAS) hơn cả lô uống nhân sâm 40mg/kg/ngày (chỉ chiếm 80%); Làm tăng huy động glucose từ glycogen gan và cơ - tăng nồng độ glucose máu sau bơi kiệt sức lần 2 tại T3 (tăng thấp nhất so với trước bơi lần 1 là 31,7 mg.dL-1 (26,50%), tăng cao nhất là 41,7 mg.dL-1 (39,71%) so với chứng âm (p<0,05), trong khi lô uống nước cất và uống nhân sâm không có tác dụng này.

Từ khóa: *EMEDYC, Positive PAS, Glucose, Glycogen.*

ABSTRACT:

White mice on EMEDYC in doses of 160, 240 and 480mg/kg/day, continuously for 21 days on the Brekmann II swimming mice model: Effectively increases glycogen stores in liver and muscle (80-100 % of positive PAS) compared to 40mg/kg/day of Ginseng (accounting for only 80%); Increasing mobilization of glucose from liver and muscle glycogen- increasing blood glucose level after the second exhausted swim at T3 (the lowest increase compared to the period before the first swim was 31.7 mg.dL-1 (26.50%), the highest increase was 41.7 mg.dL-1 (39.71%) compared to the negative control (p <0.05), while distilled water group and Ginseng G115 group did not have this effect.

Keywords: *EMEDYC, Positive PAS, Glucose, Glycogen.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chế phẩm EMEDYC có tác dụng làm tăng cường sức bền bơi ở chuột nhắt trắng, làm nâng cao năng lực vận động yếm khí và ưa khí trên sinh viên chuyên sâu bóng đá. Rượu trứng kiến gai đen (Polyharchis Dives Smith) có tác dụng nâng cao thể lực ở người có tuổi, cải thiện hoạt động sinh dục ở nam giới có rối loạn cương dương. Một nghiên cứu đã phân tích trứng kiến gai đen có trên 18 loại axit min, nhiều yếu tố vi lượng, một số tiền tố steroit.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tìm hiểu "Tác dụng huy động gluxit của EMEDYC đối với hoạt động thể lực trên động vật thực nghiệm" để góp phần tìm hiểu cơ chế tác dụng tăng cường thể lực, tăng cường sức bền của EMEDYC trên lâm sàng và động vật.

1.1. Dược liệu

- Viên nang trứng kiến gai đen, biệt dược là EMEDYC, đã được kiểm định và cấp giấy phép sản xuất của cục Vệ sinh An toàn thực phẩm - Bộ Y Tế, số1669/2006/YT- CNTC, lô sản xuất: 010406, hạn dùng: 04/2009. Cách dùng: cho động vật uống thuốc dưới dạng dung dịch lỏng theo tỉ lệ bột thuốc: nước cất = 20:1 (1mL dung dịch chứa 20 mg bột EMEDYC).

- Thuốc đối chứng dương: Ginsana G115 viên nang 100mg, do hãng Boehringer Ingelheim sản xuất. Cách dùng: cho động vật uống thuốc dưới dạng dung dịch lỏng theo tỉ lệ bột thuốc: nước cất 1,6:1 (1mL dung dịch chứa 1,6 mg bột Ginsana G115).

- Thuốc đối chứng âm: nước cất ống 5 mL, do Công ty cổ phần dược phẩm Trung ương 1 sản xuất.

1.2. Dụng cụ và hóa chất

- Kính hiển vi quang học của hãng Nikion (Nhật).

- Bình nhựa làm bể bơi hình trụ, kích thước: đường kính: 13 cm, cao: 20 cm.

- Đồng hồ điện tử bấm giây (Trung Quốc).

- Máy xét nghiệm hoá sinh Screen master của hãng Hospitex Diagnostic (Italy).

- Dung dịch xét nghiệm máu ABX Minidil LMG của hãng ABX - Diagnostics (Pháp).

- Thuốc thử Hematoxylin và Eosin của hãng MERCK (Đức) dùng làm tiêu bản vi thể giải phẫu bệnh; thuốc thử Schiff. Acid Periodic, dung dịch cố định Gendre dùng làm tiêu bản vi thể gan định tính glycogen.

- Dung dịch NacCl 0,9%, nước cất.

1.3. Đối tượng nghiên cứu

- Chuột nhắt trắng (Musmusculus) chủng Swiss, 100 con, khoẻ mạnh, 7 tuần tuổi, cả hai giống, trọng lượng nặng 19 ± 1g do trại chăn nuôi Viện Vệ sinh Dịch tễ cung cấp. Chuột được nuôi ổn định 1 tuần trước khi thí nghiệm bằng thức ăn chuẩn, uống nước tự do, tại Bộ môn dược lý-Trường Đại học Y Hà Nội.

Phương pháp nghiên cứu

**** Mô hình thí nghiệm***

Sử dụng mộ hình nghiên cứu tác dụng tăng cường sức bền theo mô hình chuột bơi - Brekkman II test, 1965 [2], [10]. Động vật thí nghiệm được chia thành 5 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (lô trị 1): Lô uống EMEDYC 160mg/kg thể trọng/ngày (~2/3 liều cho người).

- Lô 2 (lô trị 2): Lô uống EMEDYC 240 mg/kg thể trọng/ngày (~liều cho người).

- Lô 3 (lô trị 3): Lô uống EMEDYC 480mg/kg thể trọng/ngày (~gấp đôi liều cho người).

- Lô 4 (lô đối chứng): Lô uống nhân sâm Triều Tiên (Ginsana 115), 40mg/kg thể trọng (~liều cho người).

- Lô 5: uống nước cất với dung tích tương đương.

Quy trình nghiên cứu: chuột được uống thuốc liên tục trong 21 ngày, hàng ngày uống thuốc vào một giờ nhất định 8 giờ sáng.

Tại thời điểm ngày thứ 21, tiến hành chọn 1 chuột ở mỗi lô trị (uống EMEDYC ở các liều khác nhau và uống Ginsana 115) và 1 chuột ở lô chứng (uống nước cất), cho ăn no rồi để nhịn 3 giờ trước thí nghiệm. Đeo gia trọng (bằng chì) 8% trọng lượng chuột vào đuôi, thả chuột vào nước ấm 37oC cho bơi và tính thời gian đến lúc chuột chìm hoàn toàn vào trong nước 8 giây (lúc kiệt sức hoàn toàn- lần bơi thứ 1). Vớt lên, lau khô, ủ ấm và cho uống lại thuốc, sau 1 giờ cho chuột bơi lại đến kiệt sức (lần bơi thứ 2).

**** Các chỉ tiêu theo dõi***

- Định lượng glucose tại thời điểm ngày 21 (tại T3): định lượng glucose (mg.dL-1) từ máu đuôi chuột trước khi bơi lần 1, thực hiện đầy đủ quy trình thí nghiệm trên, định lượng glucose từ máu đuôi chuột (sau lần bơi thứ 2).

- Bán định lượng glycogen trong gan chuột sau lần bơi kiệt sức cuối cùng (sau lần bơi thứ 2 tại T3): sau khi lấy máu định lượng glucose lần thứ 2 tại T3, giết chuột, chọn ngẫu nhiên 5 con ở mỗi lô, mổ bụng, sinh thiết gan, nhuộm tiêu bản đọc cường độ bắt màu PAS (số tế bào có chứa glycogen), phân loại như sau:

- PAS (-): <10% số tế bào có chứa glycogen - không hoặc rất ít tế bào chứa glycogen, không bắt màu.

- PAS (+): từ 10-30% số tế bào có chứa glycogen, bắt màu đỏ nhạt.

- PAS (++): từ >30-60% số tế bào có chứa glycogen, bắt màu đỏ vừa.

- PAS (+++): >60% số tế bào có chứa glycogen, bắt màu đỏ đậm.

**** Phương pháp xử lý số liệu: kết quả nghiên cứu được xử lý theo phương pháp thống kê trong y-sinh học.***

2. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Chúng tôi nghiên cứu biến đổi hàm lượng glucose trong máu chuột tại thời điểm 21 ngày uống thuốc thử liên tục T3 (trước khi uống thuốc thử - trước bơi lần 1 tại thời điểm T3 và sau bơi lần 2 tại thời điểm T3); Mức độ bắt màu PAS của tế bào gan chứa glycogen của các lô nghiên cứu sau lần bơi kiệt sức cuối cùng (bơi lần 2) tại thời điểm T3. Cụ thể như sau:

Sau bơi kiệt sức lần 2 tại thời điểm T3, hàm lượng glucose trong máu tăng cao ở lô chứng uống nước cất và 3 lô dùng EMEDYC, tuy nhiên sự tăng này chỉ có ý nghĩa thống kê với 3 lô dùng EMEDYC ($p < 0,05$). Riêng lô dùng Ginsana 115 có hiện tượng giảm hàm lượng glucose sau lần bơi kiệt sức lần 2 tại thời điểm T3, nhưng không có ý nghĩa thống kê ($p >0,05$). So sánh hiệu hàm lượng glucose sau lần bơi kiệt sức lần 2 với hàm lượng glucose ngay trước khi bơi lần 1 tại thời điểm T3 của các lô thí nghiệm không thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

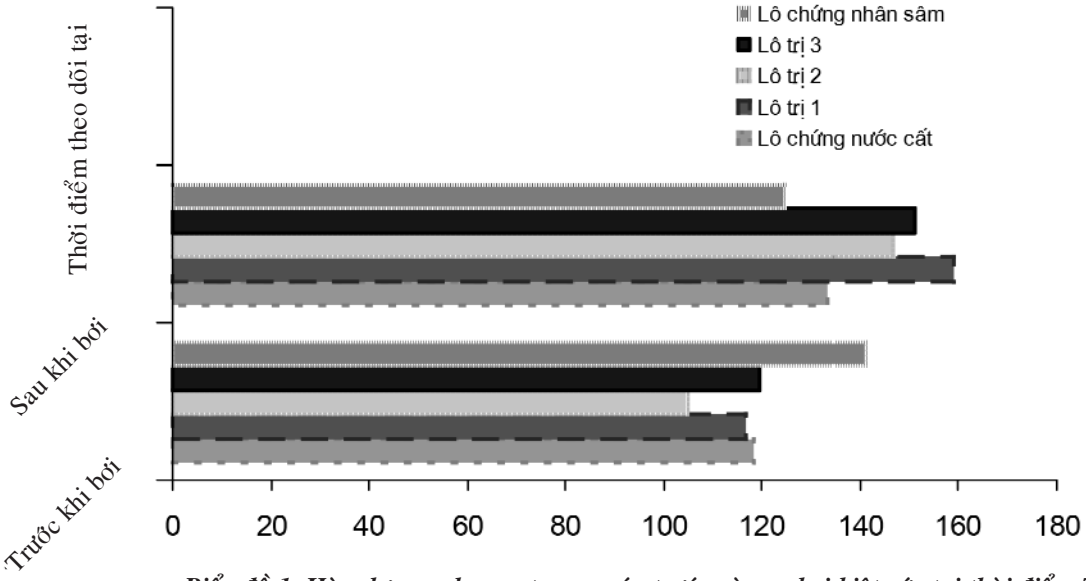
Theo bảng 2, biểu đồ 2, sau khi bơi kiệt sức lần 2 ở thời điểm T3, lượng glycogen vẫn còn dự trữ ở gan đáng kể từ mức độ (+) hoặc (++) hoặc (+++) ở các lô dùng EMEDYC với liều khác nhau (từ 80% đến 100% trường hợp). Trong khi đó, lô chứng âm chỉ có 1/5 (20%) số trường hợp dự trữ glycogen ở mức độ (+); lô uống Ginsana 115 chỉ có 4/5 (60%) còn dự trữ glycogen ở mức độ (+) hoặc (±) hoặc (-)

Glucose là cơ chất đầu tiên tham gia chu trình Krebs sinh năng lượng cho hoạt động sức bền ưa khí trước khi nguồn lipid và nguồn protein được huy động. Trong hoạt động thể lực, nồng độ glucose trong máu là một trong các chỉ số đánh giá cường độ, tần suất và thời gian hoạt động thể lực, đặc biệt là đánh giá năng lực sức bền yếm lactate và sức bền ưa khí. Chúng tôi định lượng nồng độ glucose máu trước (trước bơi lần 1) và sau lần bơi kiệt sức cuối cùng (sau bơi lần 2) để đánh giá khả năng huy động glucose từ glycogen gan và cơ bắp cho hoạt động thể lực.

Kết quả tại bảng 1 cho thấy, ngay trước bơi lần 1 tại thời điểm T3, nồng độ glucose máu chuột ở các lô

Bảng 1. Hàm lượng glucose máu (mg.dL-1) của các lô trước khi bơi lần 1, ngay sau bơi lần 2 tại thời điểm T3

Lô thí nghiệm	Glucose (mg.dL^{-1})	Thời điểm theo dõi tại T_3		
		Trước bơi lần 1(1)	*Sau bơi lần 2 (2)*	*Hiệu (2)-(1)*
Lô nước cất (n=10)	TB ± SD	118.2 ± 22.14	133.5 ± 18.23	15.3 ± 28.96
	$p_{\text{-lần 2-lần 1}}$	p > 0,05		
Lô EMEDYC liều 160mg/kg (n=10)	TB ± SD	116.7 ± 13.98	159.1 ± 47.62	42.4 ± 48.87
	$p_{\text{-lần 2-lần 1}}$	p < 0,05		
Lô EMEDYC liều 240mg/kg (n=10)	TB ± SD	105.0 ± 17.78	146.7 ± 30.60	41.7 ± 37.99
	$p_{\text{-lần 2-lần 1}}$	p < 0,01		
Lô EMEDYC liều 480mg/kg (n=10)	TB ± SD	119.6 ± 29.16	151.3 ± 26.12	31.6 ± 32.98
	$p_{\text{-lần 2-lần 1}}$	p < 0,05		
Lô Ginsana 115 liều 12mg/kg (n=10)	TB ± SD	141.3 ± 40.39	124.6 ± 30.40	-11.7 ± 28.88
	$p_{\text{-lần 2-lần 1}}$	p > 0,05		
$p_{\text{– Glucose các lô so ch ứng}}$	$p_{\text{–lô 1 – chứng}}$	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05
	$p_{\text{–lô 2 – chứng}}$	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05
	$p_{\text{–lô 3 – chứng}}$	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05
	$p_{\text{–lô sâm – chứng}}$	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05



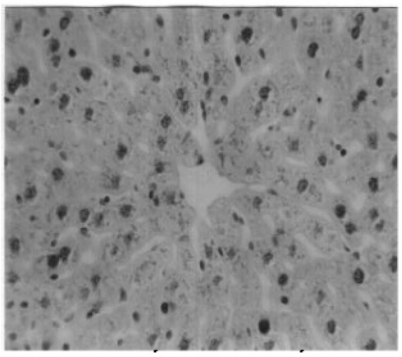
Biểu đồ 1. Hàm lượng glucose trong máu trước và sau bơi kiệt sức tại thời điểm T3

Bảng 2. Mức độ bắt màu PAS của tế bào gan chứa glycogen của các lô nghiên cứu sau lần bơi kiệt sức cuối cùng (bơi lần 2) tại thời điểm T3

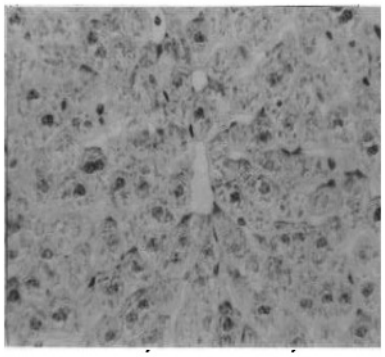
Lô thí nghiệm	Mức độ bắt màu PAS tại thời điểm theo dõi tại T_3					
	1 (+)	*2 (+)*	*3 (+)*	*(±)/(-)*	*∑ chuột*	*∑ chuột (+)*
Lô nước cất (n = 10)	1	0	0	4	5	1
Lô EMEDYC liều 160mg/kg (n = 10)	2	3	0	0	5	8
Lô EMEDYC liều 240mg/kg (n = 10)	0	0	4	1	5	12
Lô EMEDYC liều 480mg/kg (n = 10)	1	1	3	0	5	12
Lô Ginsana 115 liều 12mg/kg (n = 10)	2	0	1	2	5	5

nghiên cứu không có sự khác biệt (p > 0,05), thấp nhất là 105,0 ± 17,78 mg.dL-1 (lô uống EMEDYC 240mg/kg/ngày) và cao nhất là 141,3 ± 40,39 mg.dL-1 (lô uống Ginsana 115 40mg/kg/ngày). Sau khi bơi kiệt sức lần 2 tại thời điểm T3, nồng độ glucose tăng lên so với ngay trước bơi lần 1 ở các nhóm uống EMEDYC (p < 0,05), tăng thấp nhất trung bình là 31,7 mg.dL-1 (lô uống EMEDYC 480mg/kg/ngày) và tăng cao nhất trung bình 41,7 mg.dL-1 (lô uống EMEDYC 240mg/kg/ngày). Trong khi đó, nồng độ glucose của nhóm uống nước cất và nhóm uống Ginsana 115 không có sự khác biệt giữa thời điểm sau khi bơi kiệt sức lần 2 so với trước khi bơi lần 1 tại thời điểm T3 (p > 0,05).

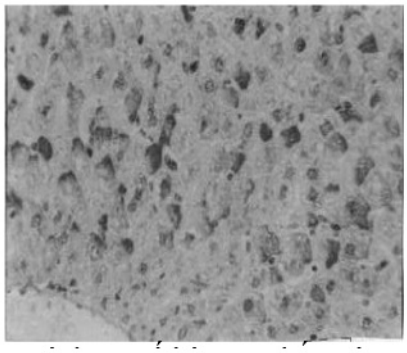
Hoạt động thể lực gắng sức (bơi kiệt sức) là một dạng stressore tác động lên cơ thể, nên cơ thể huy động hệ thống thần kinh - nội tiết - thể dịch để tham gia vào



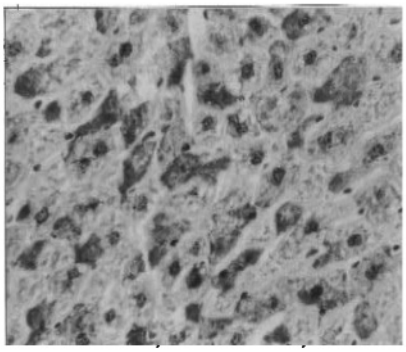
Hình 1. Tế bào gan bắt màu PAS, mức độ (-) (HE x 250) (HE x 250)



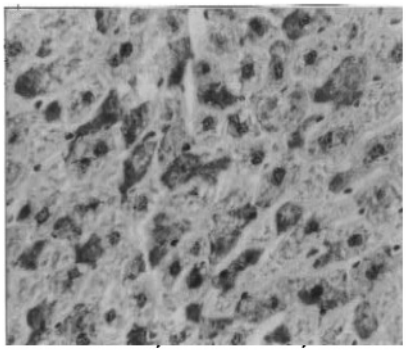
Hình 2. Tế bào gan bắt màu PAS, mức độ (±) (HE x 250) (HE x 250)



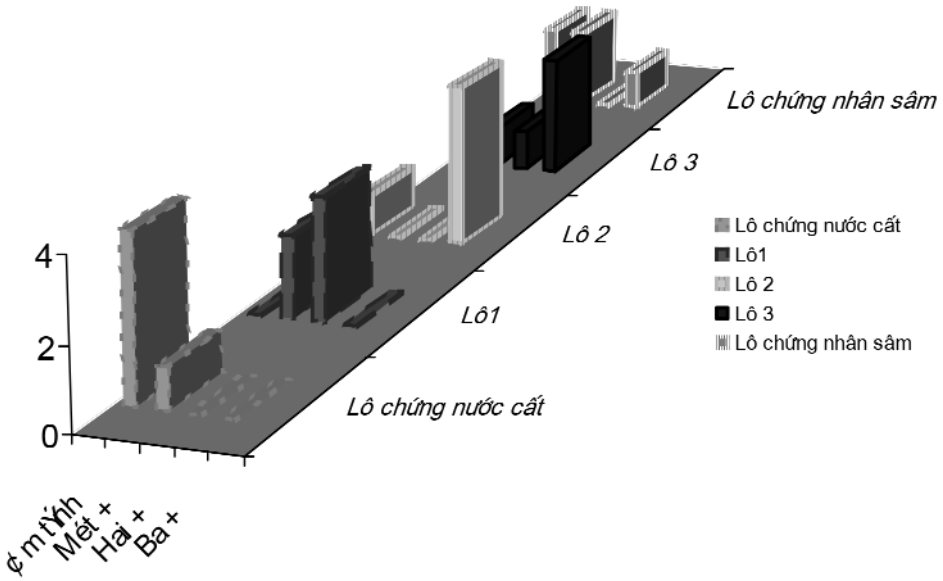
Hình 3. Tế bào gan bắt màu PAS, mức độ (+) (HE x 250) (HE x 250)



Hình 4. Tế bào gan bắt màu PAS, mức độ (++) (HE x 250) (HE x 250)



Hình 5. Tế bào gan bắt màu PAS, mức độ (+++) (HE x 250) (HE x 250



Biểu đồ 2. Mức độ bắt màu PAS của tế bào gan chứa glycogen của các lô nghiên cứu sau bơi kiệt sức lần 2 tại T3

cơ chế thích nghi chung chống lại stress, trong đó có sự tăng tiết cathecolamin làm tăng cường kích thích phân giải glucose từ glycogen. Chính điều này lý giải hàm lượng glucose của các lô nghiên cứu tăng cao ngay sau bơi kiệt sức lần 2 so với trước bơi lần 1. Tuy nhiên, sự thay đổi này chỉ có ý nghĩa thống kê ở các lô uống EMEDYC ($p < 0,05$).

Như vậy, ở các lô uống EMEDYC trong quá trình bơi đã có sự tăng cường huy động glucose từ glycogen của gan và cơ bắp cho hoạt động bơi của chuột. Hiện tượng này vẫn còn tiếp tục ngay cả sau khi chuột có dấu hiệu kiệt sức. Hiện tượng này có lẽ nhờ EMEDYC làm

tăng cường dự trữ glycogen gan và cơ bắp và tăng cường huy động glucose từ glycogen nên mới duy trì được lượng glucose trong máu cao để đáp ứng nhu cầu vận động cường độ cao, lâu dài của cơ thể. Chính nhờ sự duy trì nồng độ glucose luôn ở mức cao mới giúp chuột ở các nhóm uống EMEDYC có sức bền bơi tốt hơn so với chuột ở lô chứng uống nước cất.

Vấn đề đặt ra là, trong thành phần của EMEDYC chủ yếu là các acid amin thì làm sao có thể giúp cơ thể tăng dự trữ glycogen, từ đó giúp tăng huy động glucose máu từ glycogen cho hoạt động thể lực gắng sức? Có thể EMEDYC giúp cải thiện gan trong chức năng chuyển hoá carbohydrat và protein, mà cụ thể là phản ứng chuyển hoá từ protein sang glucose để tổng hợp glycogen theo chu trình Alanin-Glucose. Cũng có thể EMEDYC có ảnh hưởng đến hệ thống nội tiết của cơ thể: một mặt làm tăng tổng hợp, tăng dự trữ glycogen, mặt khác làm tăng ly giải glycogen thành glucose cung cấp cơ chất sinh năng lượng cho hoạt động co cơ.

Giả thiết khác đặt ra là: Thứ nhất có thể EMEDYC đã tăng cường chức năng của hệ thần kinh giao cảm giải phóng ra catecholamin (adrenalin, noradrenalin) giúp tăng cường huy động glucose từ glycogen cơ và gan vào máu khi hoạt động thể lực ở cường độ cực đại, kéo dài (yếu tố stressors). Điều này cần có thêm nghiên cứu sâu hơn để tìm câu trả lời rõ ràng; Thứ hai, uống EMEDYC có tác dụng làm tăng glucose máu ngay sau khi hoạt động kiệt sức, thì liệu EMEDYC có làm tăng cao glucose máu lúc nghỉ ngơi không? Câu trả lời là không. Theo kết quả ở bảng 1 và biểu đồ 1 cho thấy sau 21 ngày uống EMEDYC, nồng độ glucose máu lúc nghỉ ngơi ngay trước lần bơi thứ 1 tại T3 của các lô uống EMEDYC vẫn nằm trong giới hạn bình thường sinh lý của chuột.

Glycogen cho hoạt động cơ bắp được dự trữ chủ yếu ở gan, cơ. Việc định lượng glycogen gan, gián tiếp cho biết dự trữ glycogen của cơ thể nói chung. Để lý giải cho hiện tượng nồng độ glucose máu vẫn còn tăng cao mặc dầu chuột đã bơi kiệt sức, chúng tôi đã lấy gan chuột làm tiêu bản bán định lượng glycogen gan sau khi chuột bơi kiệt sức lần 2 tại T3. Kết quả tại bảng 2 và biểu đồ 2 cho thấy, sau khi bơi kiệt sức lần 2 ở thời điểm T3, lượng glycogen vẫn còn dự trữ ở gan đáng kể từ mức độ (+) hoặc (++) hoặc (+++) ở các lô uống EMEDYC (từ 80% đến 100% trường hợp). Trong khi đó, lô uống nước cất chỉ có 1/5 (20%) số trường hợp dự trữ glycogen ở mức độ (+); lô uống Ginsana 115 chỉ có 4/5 (80%) còn dự trữ glycogen ở mức độ (1+) hoặc (±) hoặc (-). Kết quả này đã phần nào chứng minh được lý do nồng độ glucose máu vẫn tăng cao sau khi bơi kiệt sức lần 2 tại T3, đó là do sự tăng khả năng tổng hợp và tăng tích luỹ trong quá trình huy động glycogen gan và cơ để hoạt động đến kiệt sức.

Câu hỏi đặt ra là cơ chế nào mà EMEDYC có tác dụng tăng tổng hợp và tăng dự trữ glycogen? Điều này cần phải có những nghiên cứu sâu hơn nữa về ảnh hưởng EMEDYC lên chức năng chuyển hoá carbohydrat, lipid và protein của gan, cũng như ảnh hưởng của EMEDYC lên hệ thống nội tiết điều hoà, chuyển hoá carbohydrat.

3. KẾT LUẬN

Chuột nhắt trắng uống chế phẩm EMEDYC với các liều 160, 240 và 480mg/kg/ngày, liên tục 21 ngày trên mô hình chuột bơi Brekmann II có tác dụng: 1) làm tăng dự trữ glycogen ở gan và cơ (dương tính 80-100% số tiêu bản nhuộm PAS) hơn cả lô uống Ginsana 115 40mg/kg/ngày (chỉ chiếm 80%); 2) Làm tăng huy động glucose từ glycogen gan và cơ - tăng nồng độ glucose máu sau bơi kiệt sức lần 2 tại T3 (tăng thấp nhất so với trước bơi lần 1 là 31,7 mg.dL-1 (26,50%), tăng cao nhất là 41,7 mg.dL-1 (39,71%) so với chứng âm ($p < 0,05$), trong khi lô uống nước cất và uống Ginsana 115 không có tác dụng này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đặng Quốc Bảo, Lê Quý Phượng: *Bài giảng sinh lý học TDTT*. Viện khoa học TDTT, 2010.

2. Brekmann II: *Eleutheroccus senticosus, the new medicinal herb of the Araliaceae family*. Pro international pharmacological meeting. Prague, vol. 7, page 97-102, 1965.

3. Nguyễn Ngọc Cơ: *Cơ sở sinh hóa ứng dụng và thể thao thành tích cao*. Viện khoa học Thể dục thể thao, tr. 9-15, 1999.

4. Nguyễn Hưng Củng, Nguyễn Thị Vân Thái, Võ Tường Kha: *Nghiên cứu ứng dụng chế phẩm từ kiến và trứng kiến gai đen làm tăng sức khỏe cho người cao tuổi*. Đề tài cấp Bộ Y tế đã nghiệm thu năm 2006. Bộ Y Tế, 2006.

Nguồn bài báo: Bài báo được trích từ kết quả nghiên cứu của công trình nghiên cứu khoa học Luận án tiến sỹ Y học của Võ Tường Kha, năm 2012.

(Ngày Tòa soạn nhận được bài: 25/4/2020; ngày phản biện đánh giá: 12/5/2020; ngày chấp nhận đăng: 16/6/2020)