

NGHIÊN CỨU VAI TRÒ CỦA RAU HÚNG LŨI TRONG ỨC CHẾ SINH TRƯỞNG TẾ BÀO BGC-823

Võ Thanh Sang⁽¹⁾, Trần Minh Khánh⁽¹⁾, Lê Văn Minh⁽²⁾, Ngô Đại Hùng⁽³⁾

(1) Trường Đại học Nguyễn Tất Thành; (2) Trung tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh;

(3) Trường Đại học Thủ Dầu Một

Ngày nhận bài 24/7/2024; Chấp nhận đăng 16/9/2024

Liên hệ email: vtsang@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Ung thư dạ dày trở nên phổ biến và gây ra tỷ lệ tử vong cao trên phạm vi toàn cầu. Nghiên cứu này tiến hành khảo sát ban đầu về khả năng tiêu diệt tế bào ung thư dạ dày của rau húng lũi thông qua mô hình *in vitro*. Cao chiết được thu nhận thông qua phương pháp ngâm kiệt bằng ethanol 98%. Khả năng tiêu diệt tế bào dạ dày của cao chiết được xác định thông qua phương pháp MTT. Mức độ biểu hiện của các phân tử tín hiệu nội bào được xác định thông qua kỹ thuật qRT-PCR. Kết quả khảo sát đã xác định khả năng tiêu diệt tế bào ung thư dạ dày BGC-823 của cao chiết rau húng lũi có giá trị IC_{50} đạt $130,5 \pm 7,2\mu\text{g/ml}$. Hơn nữa, khả năng ức chế sự di chuyển của tế bào ung thư dạ dày cũng được ghi nhận tại nồng độ $65\mu\text{g/ml}$. Đáng chú ý, tế bào được xử lý với cao chiết rau húng lũi tại nồng độ $130\mu\text{g/ml}$ có thể làm tăng mức độ biểu hiện của các phân tử tín hiệu liên quan đến con đường apoptosis như Caspase-3, -8, -9, và Bax. Các kết quả trên cho thấy cao chiết rau húng lũi có tiềm năng tiêu diệt tế bào ung thư dạ dày thông qua hoạt hóa con đường apoptosis và gây ức chế di chuyển, tiêu diệt tế bào ung thư.

Từ khoá: BGC-823, caspase, rau gia vị, rau húng lũi, ung thư dạ dày

Abstract

CYTOTOXIC EFFECT OF MENTHA CRISPA L. AGAINST HUMAN GASTRIC CANCER CELL LINES

Gastric cancer is presently ranked as the most prevalent type of cancer and stands among the top causes of cancer-related mortality globally. In this study, the cytotoxic activity of *Mentha crispa* extract against gastric cancer cells was investigated using an *in vitro* model. The extract was obtained through maceration with 98% ethanol. The cytotoxic ability of the extract was investigated using the MTT assay. The expression levels of intracellular signaling molecules were assessed using qRT-PCR. The result showed that *Mentha crispa* extract can decrease BGC-823 gastric cancer cell proliferation with an IC_{50} value of $130.5 \pm 7.2\mu\text{g/ml}$. Additionally, the inhibitory activity on the migration of gastric cancer cells *in vitro* by *Mentha crispa* extract was also determined at a concentration of $65\mu\text{g/ml}$. Notably, cells treated with *Mentha crispa* extract at a concentration of $130\mu\text{g/ml}$ showed increased expression levels of apoptosis-related signaling molecules such as Caspase-3, -8, -9, and Bax. These results suggest that *Mentha crispa* extract has the potential to suppress gastric cancer cell proliferation through the activation of the apoptosis pathway, thereby inhibiting and eliminating the cells.

1. Giới thiệu

Tỷ lệ mắc bệnh đang có xu hướng gia tăng mạnh tại các quốc gia châu Á và các khu vực có mức thu nhập thấp (Collatuzzo và nnk., 2023). Đây là một căn bệnh phức tạp, yêu cầu phải có sự theo dõi cẩn thận và tiến hành các nghiên cứu liên tục về việc phòng ngừa, chẩn đoán sớm và phát triển các phương pháp điều trị mới. Mặc dù đã có một số phương pháp điều trị, nhưng phần lớn các bệnh nhân không đáp ứng tốt và hiệu quả điều trị vẫn còn rất hạn chế. Do đó, việc tìm kiếm các liệu pháp mới để phòng ngừa và chữa trị ung thư dạ dày đang trở nên cấp thiết. Hiện nay, có nhiều nghiên cứu trên cây thuốc, nhiều bài thuốc từ các hợp chất tự nhiên được xem là phương án thay thế nhằm mang lại hiệu quả an toàn. Vì vậy, một phần ba số thuốc áp dụng trong cộng đồng người tiêu dùng đã được sản xuất từ nguồn tự nhiên và thảo dược, và nó được khuyến khích để sử dụng nhằm phòng và hỗ trợ điều trị bệnh, trong đó có ung thư dạ dày (Mao và nnk., 2020).

Các loài *Mentha* spp. thường được biết đến với vị thơm do tinh dầu tích lũy ở lá, có thể dùng làm rau ăn, trà xanh, phụ gia/gia vị thực phẩm hoặc làm phụ gia tự nhiên trong ngành mỹ phẩm và thực phẩm (Esmaeili và nnk., 2023). Trong y học, một số loài của *Mentha* spp. được sử dụng để điều trị các vấn đề rối loạn tiêu hóa nhờ vào khả năng làm dịu dạ dày và kháng viêm (Esmaeili và nnk., 2023; Teles và nnk., 2011). Theo các nghiên cứu hiện đại, *Mentha* spp. còn có tác dụng tiêu diệt nhiều loại tế bào ung thư như tế bào ung thư máu (U937, THP-1), ung thư đại tràng (COLO-205), ung thư vú (MCF-7), ung thư phổi (NCI-H322) (Esmaeili và nnk., 2023). Mặc dù vai trò của *Mentha* spp. trong việc điều trị các rối loạn về tiêu hoá đã được biết đến, tuy nhiên các nghiên cứu liên quan đến khả năng ngăn chặn ung thư dạ dày chưa được công bố. Các nghiên cứu bước đầu trong khảo sát khả năng tiêu diệt tế bào ung thư dạ dày vẫn còn là một khoảng trống. Vì vậy trong nghiên cứu này, đối tượng rau húng lũi (*Mentha crispata* L.) với vai trò tiêu diệt tế bào ung thư dạ dày đã được đề xuất thực hiện nhằm cung cấp minh chứng sơ bộ về hoạt tính tiêu diệt tế bào ung thư dạ dày của rau húng lũi, làm cơ sở cho các nghiên cứu sâu rộng hơn về vai trò chống ung thư dạ dày của đối tượng này.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu: rau húng lũi được mua ở cửa hàng rau sạch ở quận 7, Thành phố Hồ Chí Minh. Rau được rửa sạch, sấy khô dưới nhiệt độ 60°C, xay nhỏ và bảo quản ở nơi khô thoáng. Một số hóa chất liên quan trong nghiên cứu có nguồn gốc từ Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, Mỹ).

2.2. Phương pháp chiết: mẫu bột được ngâm trong ethanol lạnh với tỷ lệ 1:8 (w/v) trong 24 giờ. Dịch chiết sau đó được tách ra và quy trình chiết được lặp lại tổng cộng 3 lần. Tất cả dịch chiết thu nhận được cô đặc bằng cách quay chân không, sau đó cao chiết được bảo quản trong ngăn mát tủ lạnh cho đến khi sử dụng.

2.3. Khảo sát khả năng tiêu diệt tế bào của cao chiết: phương pháp được thực hiện theo công bố của Mazloum-Ardakani và nnk. (2019). Tế bào BGC-823 được ủ với cao chiết ethanol ở nồng độ từ 10 đến 200µg/ml trong 24 giờ, sau đó phần dịch phía trên được loại bỏ và mỗi giếng được thêm 100µl dung dịch MTT (1mg/ml) ủ trong 4 giờ. Sau đó, 100µl DMSO được thêm vào mỗi giếng. Độ hấp thụ quang học của dịch mẫu trong mỗi giếng được đo ở bước sóng 540nm. Tỷ lệ độc tính được xác định như sau:

$$\text{Độc tính (\%)} = (1 - A_{\text{thử}}/A_{\text{trắng}}) \times 100$$

Trong đó, $A_{\text{thử}}$ là nghiệm thức có xử lý cao chiết, $A_{\text{trắng}}$ là nghiệm thức không xử lý cao chiết.

2.4. Khảo sát sự ức chế di chuyển của tế bào ung thư: tế bào được nuôi trên đĩa 24 giếng đến khi tế bào phủ đều mặt đáy giếng ở mật độ 90%. Đầu tips trắng được sử dụng để cạo thành một khoảng trống kéo dài dưới đáy đĩa. Tế bào sau đó được rửa và xử lý với cao chiết (65µg/ml) ủ trong 48 giờ. Sau đó, khả năng ức chế sự di chuyển của các tế bào ung thư đã xử lý với cao chiết được kiểm tra bằng kính hiển vi đảo ngược ở độ phóng đại 10×.

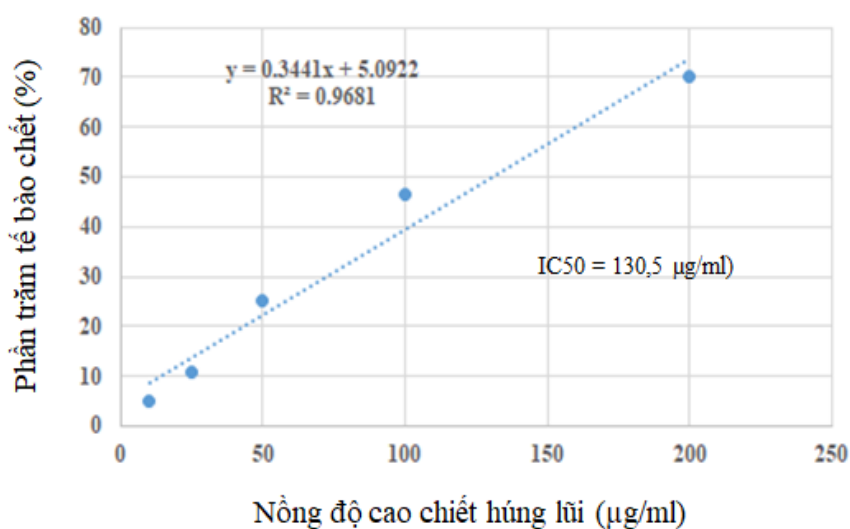
2.5. Đánh giá mức biểu hiện gen của các phân tử tín hiệu bằng qRT-PCR

Tế bào được ủ với mẫu thử (130µg/ml) trong 24 giờ. Sau đó, RNA tổng số thu được từ tế bào, làm nguyên liệu cho phản ứng Realtime-PCR. RNA sau đó được chuyển đổi thành cDNA bằng bộ kit QuantiTect Rev (QIAGEN). Mỗi đặc hiệu phản ứng Realtime PCR như sau: cho caspase-3 (F: TCGCTTTGTGCCATGCTGAA; R: ACTCAAATTCTGTTGCCACC), caspase-8 (F: AATGGAACACACTTGGATGC; R: GCTCTACTGTGCAGTCATCG), caspase-9 (F: TTGAGGACCTTCGACCAGCT; R: TTCACCGAAACAGCATTAGC), Bax (F: CTGACGGCAACTTCAACTGG; R: CCAATGTCCAGCCCATGATG).

3. Kết quả và biện luận

3.1. Hoạt tính tiêu diệt tế bào ung thư dạ dày của rau húng lũi

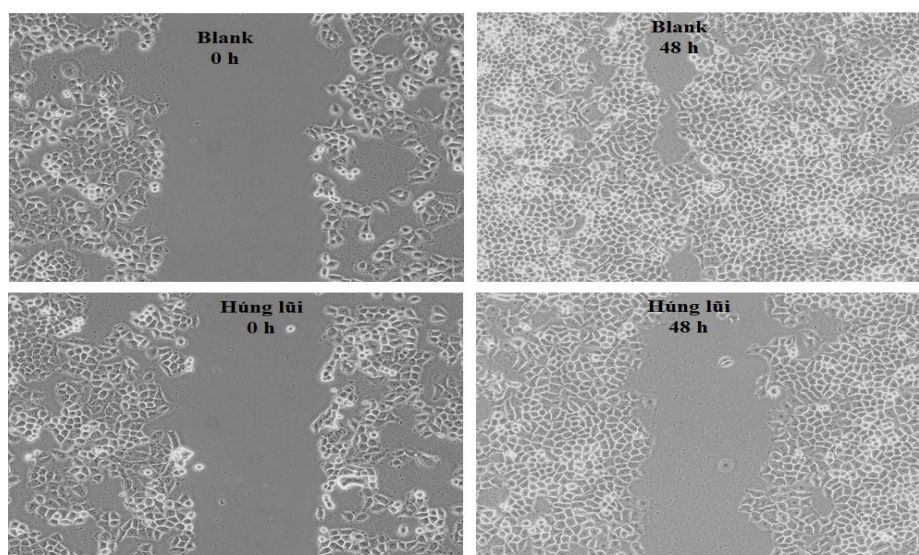
Phương pháp MTT được áp dụng để đánh giá khả năng gây chết tế bào khi xử lý bằng cao chiết ethanol từ rau húng lũi. Khả năng tiêu diệt tế bào ung thư dạ dày của cao chiết được thể hiện ở hình 1. Kết quả cho thấy hoạt tính tiêu diệt tế bào phụ thuộc vào nồng độ, cụ thể là tăng theo nồng độ xử lý. Cao chiết rau húng lũi có thể tiêu diệt tế bào ung thư dạ dày đến 70,1% tại nồng độ 200µg/ml. Khả năng tiêu diệt tế bào được xác định với giá trị IC₅₀ ở mức 130,5µg/ml. Theo thông tin cung cấp từ các nghiên cứu khác cho thấy rằng giá trị IC₅₀ về hoạt tính tiêu diệt tế bào ung thư dạ dày của vỏ quả cà tím và saffron lần lượt là 1,87mg/ml và 2,95mg/ml, trong khi nha đam và gừng có giá trị lớn hơn 5mg/ml. Điều này cho thấy rằng hoạt tính vượt trội của rau húng lũi giúp chúng có tiềm năng lớn trong việc ứng dụng làm nguyên liệu để sản xuất các sản phẩm chức năng phục vụ nhu cầu phòng ngừa sự tiến triển của tế bào ung thư dạ dày.



Hình 1. Khả năng gây độc tế bào của cao chiết rau húng lũi

3.2. Khả năng ngăn chặn sự di chuyển của tế bào

Tế bào khối u có khả năng xâm nhập vào mô lân cận, hệ thống tuần hoàn và di chuyển đến một địa điểm mới nơi chúng sinh sôi, hình thành khối u phụ. Hiện tượng này đang là trọng tâm của nhiều nghiên cứu nhằm mục đích phát hiện các cơ chế tế bào gây ra sự xâm lấn, từ đó phát triển các phương pháp điều trị để kiểm soát sự phát triển của khối u và giảm tỷ lệ tử vong ở bệnh nhân ung thư (Xiangming, 2015). Trong nghiên cứu hiện tại, hiệu quả ức chế sự di chuyển của tế bào ung thư dạ dày bởi cao chiết rau húng lũi được thăm dò bằng cách tạo một khe trống trên đáy đĩa nuôi cấy và theo dõi sự đóng lại của khe này sau 48 giờ nuôi cấy, như mô tả trong hình 2. Ở mẫu không xử lý với cao chiết rau húng lũi, tế bào ung thư dạ dày nhanh chóng chiếm đầy khe cạo trong 48 giờ. Ngược lại, sự hiện diện của cao chiết rau húng lũi làm giảm đáng kể khả năng lấp đầy khe cạo bởi các tế bào ung thư, cho thấy khả năng ngăn ngừa di căn của rau húng lũi. Điều này đánh dấu tiềm năng của rau húng lũi trong việc ức chế sự di chuyển của tế bào ung thư dạ dày, cần thêm các nghiên cứu để làm sáng tỏ cơ chế hoạt động của nó.

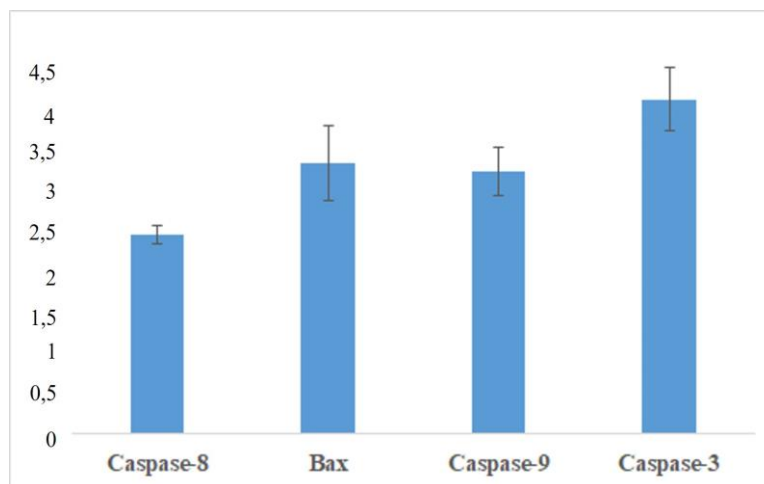


Hình 2. Hoạt tính ức chế di chuyển của tế bào ung thư dạ dày khi được xử lý với cao chiết rau húng lũi

3.3. Hoạt tính kích hoạt con đường apoptosis của cao chiết rau húng lũi

Apoptosis là quá trình chết tế bào có lập trình, một cơ chế tự nhiên giúp loại bỏ các tế bào không cần thiết, già cỗi hoặc bị hư hỏng mà không gây hại cho các tế bào xung quanh. Sự suy giảm khả năng thực hiện apoptosis có thể dẫn đến sự phát triển bất thường của tế bào, từ đó hình thành các khối u và gây ra tình trạng kháng thuốc ở tế bào ung thư (Plati và nnk., 2011). Do đó, điều chỉnh quá trình apoptosis là điều cần thiết trong việc phòng ngừa nhiều bệnh, đặc biệt là ung thư. Các phân tử nội bào như các caspase và Bax đóng một vai trò cần thiết trong việc kiểm soát quá trình apoptosis (Nuñez và nnk., 1998). Trong nghiên cứu này, Real-time PCR được sử dụng để phân tích tác động của rau húng lũi lên sự biểu hiện của các phân tử tín hiệu nội bào như caspase-3, -8, -9, và Bax trong dòng tế bào ung thư dạ dày. Kết quả cho thấy cao chiết từ rau húng lũi đã kích hoạt đáng kể sự biểu hiện của các phân tử này, với mức tăng cao nhất thuộc về caspase-3 (tăng 4,2 lần), tiếp theo là Bax (tăng 3,4 lần), caspase-9 (tăng 3,3 lần), và caspase-8 (tăng 2,5 lần) (hình 3). Những kết quả này gợi ý rằng rau húng lũi có khả năng kích hoạt quá trình apoptosis ở tế bào ung thư dạ dày. Liên hệ một số

ngiên cứu khác cũng cho thấy rằng nhân sâm (*Panax ginseng*), linh chi (*Ganoderma lucidum*) và trà xanh (*Camellia sinensis*) có thể tiêu diệt tế bào ung thư thông qua khả năng hoạt hoá quá trình apoptosis, dẫn đến tăng cường biểu hiện của các caspase và Bax (Hajiaghaalipour và nnk., 2015; Jiao và nnk., 2020). Do đó, rau húng lũi được xác định có tiềm năng trong việc kích hoạt các tín hiệu apoptosis, giúp làm chậm sự phát triển của tế bào và thúc đẩy quá trình chết tế bào theo chương trình.



Hình 3. Hoạt tính của cao chiết rau húng lũi trong việc tăng cường biểu hiện của các phân tử trong con đường apoptosis

4. Kết luận

Kết quả của nghiên cứu này đã phần nào làm sáng tỏ tác dụng của cao chiết rau húng lũi trong việc tiêu diệt tế bào ung thư dạ dày. Không chỉ có khả năng gây chết tế bào, cao chiết rau húng lũi còn cho thấy khả năng ức chế sự di chuyển của tế bào ung thư dạ dày một cách hiệu quả ở nồng độ không gây độc. Các tác dụng này có thể được lý giải bởi sự kích hoạt của con đường apoptosis, qua đó ngăn chặn sự di chuyển và tiêu diệt tế bào ung thư dạ dày. Nhờ những đặc tính này, rau húng lũi được coi là một nguồn dược liệu tiềm năng cho việc kiểm soát sự phát triển và nhân rộng của tế bào ung thư dạ dày. Dù vậy, cần có thêm các nghiên cứu trên mô hình in vivo để xác nhận rõ hơn vai trò chống ung thư dạ dày của loại thảo dược này.

Lời cảm ơn: Quỹ Phát triển KHCN NTTU - Trường Đại học Nguyễn Tất Thành đã tài trợ đề tài mã số: 2020.01.26.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Esmaeili F, Farhadpour M, Abbas-Mohammadi M, et al. (2023). Appraisals on the anticancer properties of Mentha species using bioassays and docking studies. *Industrial Crops and Products*, 203, 117128.
- [2] Collatuzzo G, Santucci C, Malvezzi M, La Vecchia C, Boffetta P, Negri E. (2023). Trends in gastric cancer mortality 1990-2019 in 36 countries worldwide, with predictions to 2025, and incidence, overall and by subtype. *Cancer Medicine*, 12(8), 9912-9925.

- [3] Hajiaghaalipour F, Kanthimathi MS, Sanusi J, Rajarajeswaran J. (2015). White tea (*Camellia sinensis*) inhibits proliferation of the colon cancer cell line, HT-29, activates caspases and protects DNA of normal cells against oxidative damage. *Food Chemistry*, 169, 401-410.
- [4] Jiao C, Chen W, Tan X, Liang H, Li J, Yun H, He C, Chen J, Ma X, Xie Y, Yang BB. (2020). *Ganoderma lucidum* spore oil induces apoptosis of breast cancer cells in vitro and in vivo by activating caspase-3 and caspase-9. *Journal of Ethnopharmacology*, 247, 112256.
- [5] Mao QQ, Xu XY, Shang A, et al. (2020). Phytochemicals for the prevention and treatment of gastric cancer: Effects and mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2), 570.
- [6] Mazloun-Ardakani M, Barazesh B, Moshtaghioun SM, Sheikhha MH. (2019). Designing and optimization of an electrochemical substitute for the MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) cell viability assay. *Scientific Reports*, 9, 14966.
- [7] Nuñez G, Benedict MA, Hu Y, Inohara N. (1998). Caspases: the proteases of the apoptotic pathway. *Oncogene*, 17(25), 3237-3245.
- [8] Plati J, Bucur O, Khosravi-Far R. (2011). Apoptotic cell signaling in cancer progression and therapy. *Integrative Biology (Camb)*, 3(4), 279-296.
- [9] Teles NS, Fechine FV, Viana FA, et al. (2011). Evaluation of the therapeutic efficacy of *Mentha crispera* in the treatment of giardiasis. *Contemporary Clinical Trials*, 32(6), 809-813.
- [10] Xiangming G. (2015). Cancer metastases: challenges and opportunities. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 5(5), 402-418.