

Ảnh hưởng của cao ethanol rễ cây Nhàu (*Morinda citrifolia* L.) đến sự thay đổi mô bệnh học của tụy tạng chuột bệnh đái tháo đường

• **Đái Thị Xuân Trang**

Trường Đại học Cần Thơ

(Bài nhận ngày 09 tháng 08 năm 2015, nhận đăng ngày 28 tháng 03 năm 2016)

TÓM TẮT

Bệnh đái tháo đường (ĐTĐ) là một trong những căn bệnh nguy hiểm liên quan trực tiếp đến hoạt động của tụy tạng. Sự thay đổi cấu trúc mô bệnh học tụy tạng của chuột bệnh ĐTĐ được điều trị bằng cao ethanol rễ Nhàu nhằm đánh giá hiệu quả điều trị bệnh ĐTĐ bằng cao chiết từ rễ cây Nhàu. Kết quả thí nghiệm chứng minh cao ethanol từ rễ của cây Nhàu có tác dụng làm giảm glucose huyết trên chuột bệnh

ĐTĐ sau 20 ngày điều trị. Tiêu bản hiển vi lát cắt ngang tụy tạng chuột cho thấy cấu trúc chung, tụy ngoại tiết và ống bài xuất có sự khác biệt về mô bệnh học giữa tụy chuột bình thường, chuột bệnh ĐTĐ và chuột đã điều trị khỏi bệnh bằng cao rễ Nhàu. Cao ethanol rễ Nhàu không có hiệu quả cải thiện tình trạng tổn thương của tụy nội tiết sau 20 ngày điều trị.

Từ khóa: đái tháo đường, hạ glucose huyết, mô bệnh học, cây Nhàu, tụy tạng

MỞ ĐẦU

Bệnh đái tháo đường (ĐTĐ) là sự rối loạn chuyển hóa được xác định bởi sự tăng glucose huyết. Nguyên nhân của tình trạng này là do tế bào β của tụy tạng không có khả năng tiết insulin hoặc tiết không đủ insulin [1]. Bệnh ĐTĐ không phụ thuộc insulin hoặc bệnh ĐTĐ type II là dạng phổ biến nhất của bệnh, nguyên nhân của dạng bệnh này là do sự kháng insulin hoặc tế bào β của tuyến tụy bị mất chức năng [2]. Số lượng tế bào β của tuyến tụy giảm ở bệnh ĐTĐ type II [3] nên sự tiết insulin không đủ lượng cần thiết. Cao ethanol rễ cây Nhàu (sau đây được gọi là rễ Nhàu) được chứng minh có nhiều hoạt tính sinh học và có khả năng hạ glucose huyết cũng như có khả năng kháng oxy hóa trên chuột bệnh ĐTĐ [4]. Ngoài ra, cao rễ Nhàu cũng có khả năng điều trị bệnh ĐTĐ theo cơ chế ức chế hoạt động của enzyme glucose 6-

phosphatase [5] hoặc ức chế sự hoạt động của enzyme α -glucosidase [6]. Sự thay đổi cấu trúc mô bệnh học ở tụy tạng của chuột bệnh ĐTĐ được điều trị bằng cao ethanol rễ Nhàu được khảo sát trong nghiên cứu này cung cấp thông tin khoa học về hiệu quả điều trị bệnh ĐTĐ của cây Nhàu.

VẬT LIỆU - PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Hóa chất gây bệnh ĐTĐ Alloxan monohydrate (AM) (SIGMA, United Kingdom), hematoxylin và eosin (Merk).

Rễ cây Nhàu được thu hái tại tỉnh Kiên Giang.

Chuột bạch (*Mus musculus*) khỏe mạnh do Viện Pasteur thành phố Hồ Chí Minh cung cấp.

Phương pháp nghiên cứu

Điều chế cao rễ Nhàu

Rễ Nhàu sau khi phơi khô, nghiền nhuyễn và được trích bằng dung môi ethanol tuyệt đối (99,5 %). Sau khi cô quay loại bỏ dung môi, cao ethanol thu được trữ ở nhiệt độ 4 °C để sử dụng cho các thí nghiệm sau.

Khảo sát tính an toàn của cao ethanol rễ Nhàu trên chuột bình thường

Thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của cao rễ Nhàu đối với chuột được thực hiện ở nồng độ cao rễ Nhàu 400 mg/kg trọng lượng chuột, sử dụng 0,1 mL/ lần $\times$ 2 lần/ ngày trong 7 ngày. Glucose huyết của chuột được đo vào các ngày 1, 2, 4 và 7 sau khi chuột uống cao Nhàu. Mỗi nhóm chuột thí nghiệm gồm 5 con, chuột bình thường không được uống cao chiết được sử dụng như nhóm đối chứng.

Khảo sát khả năng hạ glucose huyết của cao ethanol rễ Nhàu

Chuột bạch khỏe mạnh có nồng độ glucose huyết trung bình từ $116,3 \pm 20,1$ đến $133,3 \pm 10,8$ mg/dl được tiêm dung dịch AM ở nồng độ 135 mg/kg trọng lượng chuột để gây bệnh ĐTĐ [4, 5], chuột được xem là bệnh khi nồng độ glucose huyết ≥ 250 mg/dL [7]. Sau khi chuột bệnh ĐTĐ ổn định 7 ngày, chuột được uống cao ethanol rễ Nhàu với liều lượng 400 mg/kg

trọng lượng chuột/ lần $\times$ 2 lần/ ngày) hoặc uống thuốc điều trị bệnh ĐTĐ thương mại là gliclazide (10 mg/kg trọng lượng chuột). Sau 20 ngày chuột điều trị bệnh, hàm lượng glucose huyết được xác định bằng cách lấy máu ở tĩnh mạch đuôi của chuột, và được đo bằng máy đo glucose huyết ACCU-CHEK® Active.

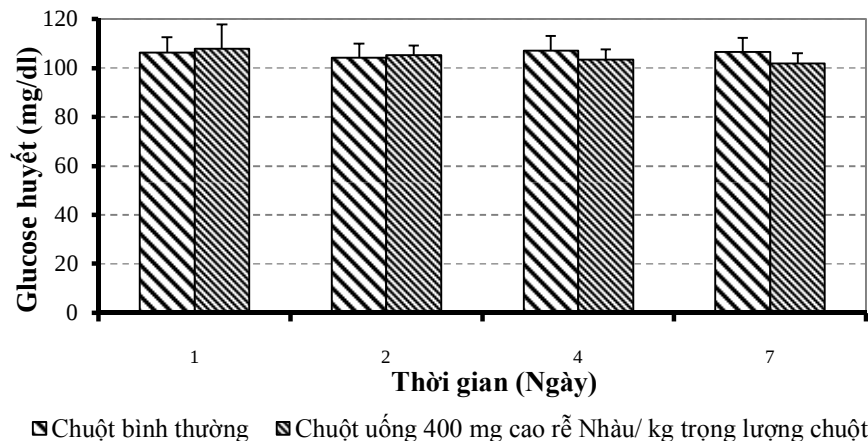
Phương pháp thực hiện tiêu bản mô bệnh học của tụy tạng chuột

Sau khi kết thúc thí nghiệm, chuột được giải phẫu, tụy tạng được thực hiện tiêu bản mô bệnh học. Mẫu tụy tạng được cố định trong dung dịch formaldehyde 4 % trong thời gian 24 giờ ở nhiệt độ 4 °C. Mẫu tụy tạng sau khi cố định được tắm paraffin và cắt mẫu có chiều dày 3 μ m. Sau đó, mẫu được nhuộm bằng hematoxylin và eosin (H&E). Cuối cùng, mẫu được quan sát dưới kính hiển vi quang học.

KẾT QUẢ - THẢO LUẬN

Khảo sát tính an toàn của cao rễ Nhàu trên chuột bình thường

Để đánh giá ảnh hưởng của cao ethanol rễ Nhàu trên glucose huyết của chuột bình thường, chuột nhắt trắng được cho uống cao ethanol ở nồng độ 400 mg/kg trọng lượng. Kết quả về sự ổn định glucose huyết của chuột được trình bày trong Hình 1.



Hình 1. Nồng độ glucose huyết của chuột khi uống cao chiết ở nồng độ 400 mg/kg

Kết quả (Hình 1) cho thấy, sự thay đổi glucose huyết của các nhóm chuột thí nghiệm sau thời gian 7 ngày uống cao ethanol rễ Nhàu ở nồng độ khảo sát khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức không uống cao rễ Nhàu. Mặt khác, trọng lượng chuột sau thời gian 7 ngày uống cao chiết rễ Nhàu cũng không thay đổi khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng (kết quả không trình bày). Ngoài ra, qua 7 ngày uống cao chiết ở nồng độ 400 mg/kg trọng lượng, chuột có biểu hiện bình thường, không có các biểu hiện như sốc thuốc, co ro, di chuyển chậm chạp, lông bị vón hay xù, rụng lông nhiều, chuột bị gầy, tử vong do uống cao chiết... Từ tất cả các kết quả trình bày trên cho thấy cao ethanol của rễ Nhàu không gây độc tính trên chuột bình thường ở nồng độ 400 mg/ml trong thời gian 7 ngày.

Hiệu quả hạ glucose huyết của cao rễ Nhàu trên chuột bệnh đái tháo đường

Kết quả về hàm lượng glucose huyết của chuột bệnh ĐTĐ sau 20 ngày điều trị được trình bày trong Bảng 1. Sau khi tiêm alloxan monohydrate 3 ngày chuột bệnh ĐTĐ có hàm lượng glucose huyết trong khoảng từ $532,6 \pm 43,4$ đến $574,4 \pm 51,6$ mg/dl. Nhóm chuột bình thường có glucose huyết $124,3 \pm 5,1$. Chuột bệnh ĐTĐ được chọn vào thử nghiệm đều có tình trạng bệnh đồng nhất, mức glucose huyết giữa các nhóm sau khi tiêm alloxan monohydrate không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Kết quả cho thấy, đối với nhóm chuột bình thường, glucose huyết gần như ổn định trong suốt quá trình thí nghiệm. Ở nhóm chuột bệnh ĐTĐ không được điều trị, nồng độ

glucose huyết cao liên tục trong quá trình thí nghiệm và xuất hiện chuột chết rải rác vào ngày thứ 9 và đến ngày thứ 20 của quá trình thí nghiệm chuột chết 3 con trong tổng số 5 chuột thí nghiệm.

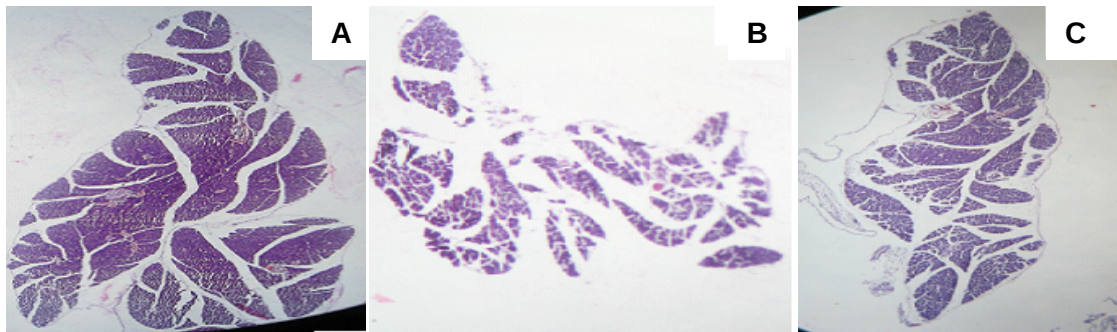
Nhóm chuột bệnh ĐTĐ được điều trị bằng thuốc gliclazide hoặc cao chiết, nồng độ glucose huyết giảm một cách có ý nghĩa thống kê (Bảng 1). Đối với các nhóm chuột bệnh ĐTĐ được điều trị bằng thuốc gliclazide, kết quả cho thấy sau 20 ngày uống thuốc nồng độ glucose huyết giảm từ $532,6 \pm 43,4$ mg/dl xuống còn $119,8 \pm 24,7$ mg/dl, tương đương giảm 77,5 % và gần với nồng độ glucose huyết bình thường ($121,5 \pm 7,8$ mg/dl).

Ở nhóm chuột bị bệnh ĐTĐ được điều trị bằng cao chiết rễ Nhàu, kết quả cho thấy sau 20 ngày uống cao rễ Nhàu nồng độ glucose huyết giảm từ $574,4 \pm 51,6$ mg/dl xuống còn $163,2 \pm 9,8$ mg/dl tương đương giảm 71,62% và gần bằng với glucose huyết của nhóm chuột bình thường ($121,5 \pm 7,8$ mg/dl). Theo kết quả nghiên cứu của Rajesh *et al.* (2010) [8] khi cho chuột bệnh ĐTĐ sử dụng cao chiết nước trái Nhàu nồng độ 300 mg/kg trọng lượng thì glucose huyết chuột giảm sau 120 phút. Tuy nhiên, cao chiết trong nghiên cứu của chúng tôi không phải từ trái mà từ rễ Nhàu. Thành phần hóa học có trong rễ Nhàu giúp hạ glucose huyết ở chuột cũng đã được nghiên cứu bởi Kamiya *et al.* (2008) [9] cho thấy cao chiết butanol của rễ Nhàu có chứa nhiều hợp chất có thể giúp hạ glucose huyết ở chuột sau 5 giờ tiêm cao chiết.

Bảng 1. Nồng độ glucose huyết của chuột bệnh ĐTĐ được điều trị bằng cao ethanol rễ Nhàu

Nồng độ glucose huyết (mg/dl)		
Nghiệm thức	Trước điều trị	Sau 20 ngày điều trị
Chuột bình thường	$124,3 \pm 5,1$	$121,5 \pm 7,8$
Bệnh ĐTĐ không điều trị	$548,4 \pm 57,3$	$545,7 \pm 63,4$
Bệnh ĐTĐ uống Gliclazide	$532,6 \pm 43,4$	$119,8^* \pm 24,7$
Bệnh ĐTĐ uống cao rễ Nhàu	$574,4 \pm 51,6$	$163,2^* \pm 9,8$

Ghi chú: số chuột trong mỗi nghiệm thức 5, * là khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5 % giữa trước và sau khi chuột bệnh ĐTĐ được điều trị.

Khảo sát sự thay đổi cấu trúc mô bệnh học của chuột bệnh ĐTĐ được điều trị bằng cao ethanol rễ Nhàu*Cấu trúc chung của tụy tạng***Hình 2.** Cấu trúc tổng quan lát cắt ngang tụy tạng chuột ($\times 40$)

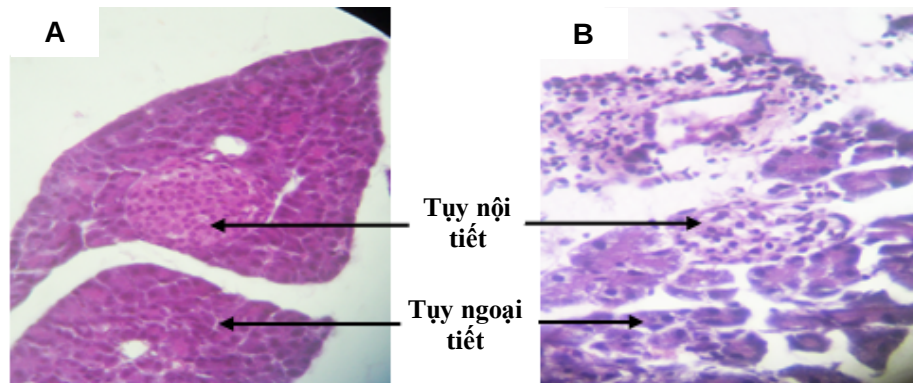
(A): Tụy chuột bình thường; (B): Tụy chuột bệnh ĐTĐ

(C): Tụy chuột bệnh ĐTĐ sau khi điều trị glucose huyết từ 564 mg/dl giảm còn 175 mg/dl

Cấu trúc vi thể của tụy tạng được quan sát ở kính hiển vi quang học được phóng đại 40 lần ($\times 40$) của chuột bệnh ĐTĐ khác với chuột bình thường (Hình 2). Cấu trúc tụy ngoại tiết của chuột bệnh ĐTĐ không điều trị (Hình 2B) liên kết ít chặt như tụy chuột bình thường (Hình 2A) và tụy tạng của chuột được điều trị (Hình 2C).

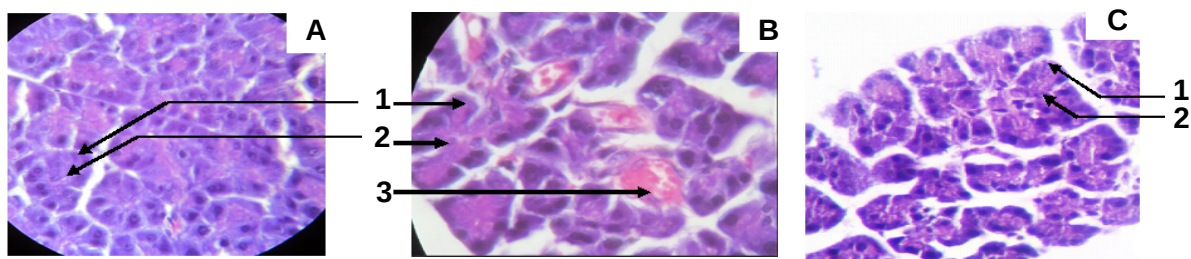
Cấu trúc hiển vi của tụy tạng quan sát dưới kính hiển vi gồm tụy ngoại tiết (các nang tuyến, hệ thống ống tụy), tụy nội tiết hay tiểu đảo Langerhans, và các mạch máu trong tụy có thể được phân biệt rõ ràng.

Hình 3 cho thấy, có thể phân biệt tụy ngoại tiết và nội tiết của chuột bình thường và chuột bị bệnh. Tuy nhiên, có sự khác biệt rõ ràng về cấu trúc tụy nội tiết của chuột bình thường và chuột bị bệnh. Tụy nội tiết của chuột bình thường có cấu trúc gồm các tế bào nội tiết xen kẽ là những mạch máu nhỏ nằm khắp các tiểu đảo còn tụy nội tiết của chuột bệnh xuất hiện thêm các tế bào trắng tròn nhỏ nằm thưa thớt trong tiểu đảo. Các tế bào trắng nằm trong tiểu đảo tụy được biết là các tế bào T, các tế bào này tấn công lên tế bào beta sản xuất insulin ở tụy nội tiết.

**Hình 3.** Cấu trúc chung của tụy chuột ($\times 400$)

(A): Lát cắt tụy chuột bình thường; (B): Lát cắt tụy chuột bệnh ĐTĐ

Cấu trúc của tụy ngoại tiết



Hình 4. Tụy ngoại tiết ($\times 1000$)

(A): Tụy chuột bình thường; (B): Tụy chuột bệnh ĐTĐ được điều trị bằng cao rễ Nhàu; (C): Tụy chuột bệnh ĐTĐ không điều trị (1): Tế bào nang tuyến; (2): Tế bào trung tâm nang tuyến; (3): Mô mỡ

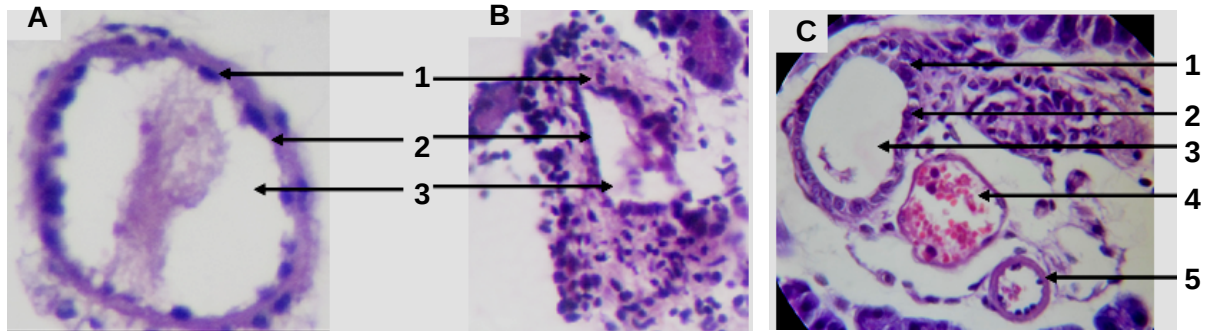
Cấu trúc tổng quan của tụy ngoại tiết ở chuột bình thường, chuột bệnh ĐTĐ và chuột bệnh ĐTĐ được điều trị bằng cao rễ Nhàu có cấu tạo chung là kiểu chùm nho, gồm 2 phần bao gồm các nang tuyến và ống bài xuất. Lát cắt ngang tuyến tụy (Hình 4) quan sát được là nang tuyến hình túi bao gồm tế bào nang tuyến (1) và tế bào trung tâm nang tuyến (2). Những nang điển hình có hình túi, ngoài ra có thể quan sát được các nang tuyến hình tam giác, hình bầu dục,... tùy thuộc vào vị trí lát cắt. Ở lát cắt ngang nang tuyến gồm khoảng 7 đến 13 tế bào nang tuyến và một hoặc vài tế bào trung tâm.

Khi so sánh tụy tạng của chuột bình thường (Hình 4A) và tụy tạng chuột bệnh ĐTĐ không được điều trị (Hình 4C) với tụy tạng chuột bệnh ĐTĐ được điều trị khỏi bệnh (Hình 4B) có sự khác biệt về mô bệnh học. Tụy tạng chuột được điều trị khỏi bệnh xuất hiện các mô mỡ li ti nằm xen kẽ trong hệ thống tụy ngoại tiết, trong khi ở tụy ngoại tiết của chuột bình thường và chuột bệnh thì không thấy sự xuất hiện của các mô mỡ. Điều này có thể được giải thích do các chất trong cao rễ Nhàu hoạt hóa sự hoạt động của mô tuyến sinh ra nhiều mô mỡ.

Cấu trúc của ống bài xuất

Ống bài xuất của tụy tạng (ống tụy) được lọc bằng các tế bào biểu mô khối vuông hay trụ vuông. Thành ống cấu tạo hai thành phần chính gồm tế bào biểu mô và màng liên kết bao quanh. Ống bài xuất của tụy có cấu tạo khác với mạch máu, nhờ cấu trúc mô học khác nhau có thể phân biệt được mạch máu và ống bài xuất vì mạch máu được lọc bằng biểu mô lát đơn rất mỏng và đẹp (Hình 5).

Các ống bài xuất ở tụy tạng của chuột bệnh ĐTĐ và chuột đã điều trị khỏi bệnh bằng cao rễ Nhàu nhìn tổng quan đều có cấu tạo chung gồm thành ống được cấu tạo bởi tế bào biểu mô và màng liên kết bao quanh. Tế bào biểu mô có thành ống lọc bằng biểu mô trụ đơn gồm hai loại tế bào là tế bào mầm khía có nhân hình bầu dục và tế bào dài có nhân dẹt, tế bào chất gần nhân ưa base. Tế bào dịch nhầy bắt màu hematoxylin đậm. Nhân của hai loại tế bào này đều bắt màu tím đậm, khó phân biệt chất nhân và nhân con. Màng liên kết bao quanh lớp tế bào thành ống gọi là màng đáy, bên ngoài màng đáy là các sợi cơ trơn có tính chất hướng vòng. Xoang (lumen) ống bài xuất của tụy tạng chuột bình thường có rộng hơn so với ống bài xuất tụy chuột ĐTĐ (Hình 5).



Hình 5. Ống bài xuất của chuột sau khi điều trị khỏi bệnh ($\times 400$)

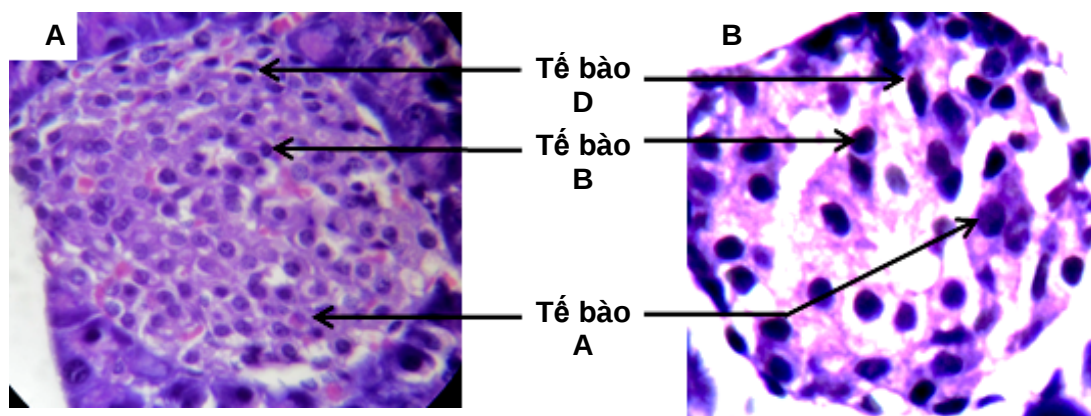
(A): Ống bài xuất tụy chuột bình thường; (B): Ống bài xuất tụy chuột ĐTĐ; (C): Ống bài xuất chuột bệnh ĐTĐ sau khi điều trị bằng rễ Nhàu 1: Tế bào biểu mô; 2: Màng liên kết; 3: Lòng ống bài xuất; 4: Mô mỡ; 5: Mạch máu

Cấu trúc tụy nội tiết (Tiểu đảo Langerhans)

Tụy nội tiết nằm giữa các nang tuyến của tụy tạng. Tiểu đảo có hình cầu, có bao liên kết mỏng, bắt màu nhạt hơn so với nang tuyến nên rất dễ nhận dạng. Dựa vào màu sắc của tiêu bản nhuộm hematoxylin và eosin cho thấy, tụy nội tiết được phân biệt có 3 loại tế bào chủ yếu dựa vào sự bắt màu của nhân và tế bào chất đó là: (1) Tế bào A chứa các hạt alfa, tế bào có nhân to nhất, định vị chủ yếu ở vùng rìa của tiểu đảo chiếm khoảng 25 % trong tiểu đảo. Nhân ít chất nhuộm sắc, bắt màu sáng, màu xanh tím nhạt, tế bào chất bắt màu hồng đậm của eosin Y do tế bào chất có các hạt chế tiết chứa glucagon. (2) Tế bào B chứa các hạt beta, kích thước tương đương tế bào A. Nhân bắt màu đậm hơn so với tế bào A, chiếm phần lớn trong tiểu đảo, tập trung nhiều ở trung tâm của tiểu đảo. Tế bào chất có hạt chế tiết chứa insulin. (2) Tế bào D rất ít trong tiểu đảo, chứa các hạt delta, thường phân bố rải rác trong tiểu đảo. Loại tế bào này có dạng hình sao hoặc hình quả lê, nhân hình bầu dục bắt màu nhạt hematoxylin, tế bào chất có nhiều hạt chế tiết chứa somatostatin bắt màu eosin Y đậm.

Tụy nội tiết chuột bình thường và chuột bệnh ĐTĐ cho thấy có sự khác biệt. Số lượng tế bào B ở

tụy chuột bệnh thừa và ít hơn so với tụy chuột bình thường (Hình 5), do khi chuột bị gây bệnh ĐTĐ bằng alloxan monohydrate làm phá hủy các tế bào B của tiểu đảo Langerhans nằm ở tụy tạng dẫn đến sự thiếu hụt insulin thứ phát. Sự thiếu hụt insulin sẽ làm rối loạn chuyển hóa glucose, tăng phân hủy lipid dẫn tới tăng glucose huyết và acid béo [10]. Kết quả mô học của tụy nội tiết ở chuột bệnh ĐTĐ còn cho thấy tỉ lệ tế bào trắng bao lấy tế bào B xuất hiện trong đảo tụy làm các tế bào B giảm tiết insulin. Theo Hoàng Thị Bích Ngọc (2001) [11] vào thời điểm bệnh xuất hiện, các tế bào B trong tụy tạng bị tổn thương. Quá trình tế bào B tụy tạng bị tổn thương thực chất là một quá trình tự miễn dịch. Ngoài ra, sự biến đổi trên bề mặt tế bào B làm cho các tế bào miễn dịch đã nhận dạng từ cái của mình thành cái không của mình dẫn đến các kháng thể của tế bào phát triển và hoạt động phối hợp với cơ chế miễn dịch trung gian tế bào. Kết quả là các tế bào B bị phá hủy và xuất hiện bệnh, phù hợp với kết quả mô học đã quan sát được của lát cắt ngang tụy chuột bệnh ĐTĐ. Tuyến nội tiết của tụy tạng chuột bệnh ĐTĐ được điều trị bằng cao ethanol rễ Nhàu không có sự khác biệt so với chuột bệnh ĐTĐ không được điều trị (kết quả không trình bày).



Hình 5. Tụy nội tiết của chuột bạch ($\times 1000$)
(A): Tụy chuột bình thường; (B): Tụy chuột bệnh ĐTĐ

KẾT LUẬN

Cao ethanol rễ Nhàu ở liều lượng 400 mg/kg trọng lượng chuột có khả năng hạ glucose huyết trên chuột bệnh ĐTĐ tương đương thuốc thương mại Gliclazide.

Tiêu bản hiển vi lát cắt ngang tụy tạng chuột cho thấy có sự khác biệt về mô học giữa tụy chuột bình thường, chuột bệnh đái tháo đường và chuột đã điều trị khỏi bệnh bằng cao ethanol rễ Nhàu.

Cấu trúc chung, tụy ngoại tiết và ống bài xuất của chuột bình thường, chuột bệnh ĐTĐ và chuột được

điều trị khỏi bệnh bằng cao ethanol rễ Nhàu có sự khác biệt.

Tụy nội tiết của chuột bình thường, chuột bệnh ĐTĐ có sự khác biệt, tuy nhiên sau khi được điều trị bằng cao ethanol rễ Nhàu trong thời gian 20 ngày, tụy nội tiết của chuột bệnh ĐTĐ được điều trị không khác biệt so với chuột bệnh ĐTĐ không được điều trị.

Lời cảm ơn: Tác giả xin chân thành cảm ơn sinh viên Nguyễn Thị Thùy Trang, lớp Sinh học khóa 34, Trường Đại học Cần Thơ đã hỗ trợ thực hiện tiêu bản mô bệnh học.

Effects of the ethanolic extract of *Morinda citrifolia* L. roots on pancreatic histopathological changes of diabetic mice

• Dai Thi Xuan Trang
Can Tho University

ABSTRACT

Diabetes (diabetes mellitus), one of the dangerous diseases, is directly related to the activity of the pancreas. The histopathological structure of the pancreas in diabetic mice provide the basic

information of the histology of pancreas from diabetic mice. The anti-diabetic potential of ethanolic extract of roots of Morinda citrifolia was evaluated. The results demonstrated that the ethanolic extract of

Morinda citrifolia roots could reduce the high blood glucose in diabetic mice after 20 days of treatment. The microscopic structure of pancreatic general histology and pancreatic exocrine of the normal, diabetic mice and mice treated with the root extract

were different. Pancreatic endocrine structure changed in diabetic mice induced with alloxan monohydrate comparing to normal mice. However, extract of *Morinda citrifolia* root could not improve pancreatic endocrine structure of diabetic mice.

Keywords: Diabetes, histopathology, hypoglycemia, pancreas, *Morinda citrifolia* L.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. L. Li, Z. Yi, M. Seno, I. Kojima, Activin A and betacellulin: effect on regeneration of pancreatic beta-cells in neonatal streptozotocin-treated rats, *Diabetes*, 53, 608-615 (2004).
- [2]. J. Rahier, Y. Guiot, R.M. Goebbels, C. Sempoux, J.C. Henquin, Pancreatic β -cell mass in European subjects with type 2 diabetes, *Diabetes Obes Metab*, 432-42 (2008).
- [3]. O. Leonardi, G. Mints, M.A. Hussain, Beta-cell apoptosis in the pathogenesis of human type 2 diabetes mellitus, *Eur J Endocrinol*, 149, 99-102 (2003).
- [4]. Đ.T.X. Trang, N.T.M. Phương, V.T.N. Diễm, Q.T. Huê, Khảo sát hiệu quả hạ glucose huyết và chống oxy hóa của cao chiết cây nhàu (*Morinda citrifolia* L.) ở chuột bệnh tiểu đường, *Tạp chí khoa học Đại học Cần Thơ*, 23b, 115-124 (2012).
- [5]. Đ.T.X. Trang, N.T.M. Phương, V.T.N. Diễm, Q.T. Huê, Khảo sát ảnh hưởng của cao chiết cây nhàu (*Morinda citrifolia* L.) đến hoạt động của enzyme glucose-6-phosphatase ở chuột bệnh tiểu đường, *Tạp chí khoa học Đại học Cần Thơ*, 25, 50-57 (2013).
- [6]. N.T. Bay, Bệnh học và điều trị nội khoa, NXB Y học, Hà Nội (2007)
- [7]. H.T.B. Ngọc, Hóa sinh bệnh đái tháo đường, NXB Y học, Hà Nội (2011).
- [8]. P. Rajesh, K. Manish, D. Harmendra, K. Singh, C. Mahesh, V. Deepmala. Antidiabetic effect of *Morinda citrifolia* and *Coccinia indica* in alloxan induced diabetic rats. *Advances in bioresearch*, 1, 1, 75-77 (2010).
- [9]. K. Kamiya, W. Hamabe, S. Harada, R. Murakami, S. Totuyama, T. Satuke. Chemical constituents of *Morinda citrifolia* roots exhibit hypoglycemic effects in streptozotocin-induced diabetic mice. *Biol Pharm Bull*, 31, 5, 935-8 (2008).
- [10]. Đ.T.X. Trang, N.T.L. Phương, Khả năng ức chế enzyme α -glucosidase của cao chiết cây Nhàu (*Morinda citrifolia* L.), *Tạp chí Y học Thực hành*, 944, 77-80 (2014).
- [11]. N.T.H. Diễm, V.P. Nguyễn, N.T. Bay, Tác động hạ glucose huyết của hai bài thuốc khổ qua và lục vị tri bá trên chuột nhắt đái tháo đường, *Y học TP. Hồ Chí Minh*, 12, 4, 196-198 (2008).