

KHẢ NĂNG BẢO VỆ TẾ BÀO TUY NỘI TIẾT MIN6 CỦA DỊCH CHIẾT RỄ ME KEO (*Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth.)

Nguyễn Thị Ái Lan¹, Đái Thị Xuân Trang^{1,*}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Khảo sát khả năng bảo vệ tế bào β của tụy nội tiết khỏi sự chết của dịch chiết rễ Me keo (RMK) (*Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. **Phương pháp:** thực hiện *in vitro* trên tế bào tụy nội tiết MIN6. Tế bào MIN6 bị gây chết bằng tunicamycin ở nồng độ 2,5 - 5 $\mu\text{g/mL}$ ở các thời điểm 2, 24 và 48 giờ. Hiệu quả bảo vệ tế bào MIN6 của dịch chiết RMK được khảo sát ở nồng độ từ 50 đến 500 $\mu\text{g/mL}$. **Kết quả:** nồng độ tunicamycin (tm) và thời gian gây chết tế bào MIN6 tụy nội tiết cao nhất là 5 $\mu\text{g/mL}$ sau 24 đến 48 giờ nuôi cấy. Dịch chiết RMK không gây độc tế bào MIN6 trong 48 giờ ở tất cả nồng độ khảo sát. Khả năng bảo vệ tế bào MIN6 khỏi sự chết do tác động của tunicamycin của RMK là 50 $\mu\text{g/mL}$ và 100 $\mu\text{g/mL}$ khi khảo sát lần lượt ở thời gian 24 và 48 giờ. **Kết luận:** dịch chiết RMK có khả năng bảo vệ tế bào β của tụy nội tiết khỏi sự chết, có thể hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường.

Từ khóa: Bệnh đái tháo đường, Me keo, *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth., tế bào beta tụy nội tiết MIN6, tunicamycin

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh đái tháo đường (ĐTĐ) biểu hiện bởi sự tăng glucose huyết cao hơn bình thường, nguyên nhân là do thiếu insulin hoặc insulin kém tác dụng ở cơ quan đích gọi là sự kháng insulin. Nguyên nhân của sự thiếu hoặc kháng insulin là do sự chết của tế bào tụy nội tiết [2], [10]. Sự tiết insulin của các tế bào β tụy nội tiết để đáp ứng với sự gia tăng nồng độ glucose huyết đóng vai trò quan trọng trong việc kiểm soát glucose huyết [9]. Khi tế bào tụy nội tiết bị phá hủy hoặc chết là nguyên nhân gây ra các bệnh rối loạn chuyển hóa như béo phì và bệnh ĐTĐ type 2 [13]. Bảo vệ tế bào tụy nội tiết tránh khỏi các tổn thương dẫn đến sự chết tế bào là một trong các mục tiêu hướng tới điều trị bệnh ĐTĐ được các nhà khoa học quan tâm.

Cây Me keo (*Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth) có một số hoạt tính sinh học được chứng minh như khả năng bảo vệ tế bào gan khỏi tổn thương bởi carbon tetrachloride

(CCl₄) [6], [8]. Trong dân gian, dịch chiết từ Me keo được sử dụng trong điều trị bệnh ĐTĐ. Để nghiên cứu một cách khoa học về hiệu quả sử dụng trong dược liệu của cây Me keo Việt Nam, nghiên cứu này khảo sát khả năng bảo vệ tế bào beta tụy nội tiết MIN6 khỏi sự chết do tunicamycin của dịch chiết RMK nhằm làm tiền đề cho các nghiên cứu ứng dụng RMK trong hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu là rễ cây Me keo (*Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth.) được thu hái tại tỉnh Trà Vinh. Cây Me keo được định danh dựa vào hình thái của Phạm Hoàng Hộ (2003) [1] và giải trình tự nucleotide vùng ITS (Internal Transcribed Spacer) bằng đoạn mồi ITS 1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3' và ITS 4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' [13].

Dịch chiết RMK được điều chế như sau: mẫu vật được rửa sạch, cắt nhỏ và sấy khô ở nhiệt độ 50°C. Mẫu sau khi khô được ngâm dầm 24 giờ trong methanol. Sau đó, dịch chiết được lọc 3 lần để loại bỏ cặn. Dịch chiết được cô quay loại bỏ dung môi và là dung dịch được dùng trong thử nghiệm.

¹Khoa Khoa học Tự nhiên, Đại học Cần Thơ

* Tác giả chịu trách nhiệm chính:

Đái Thị Xuân Trang

Email: dtxttrang@ctu.edu.vn

Ngày nhận bài: 9/5/2018

Ngày phản biện: 10/5/2018

Ngày chấp nhận đăng: 10/6/2018

Tunicamycin (Sigma, Nhật Bản) được sử dụng là chất gây chết tế bào tụy nội tiết MIN6. Cơ chế gây chết tế bào: ức chế N-acetylglucosamine-1-phosphate transferase, ngăn cản quá trình tổng hợp glycoprotein ở những giai đoạn đầu. Do đó tunicamycin làm tăng nồng độ glycoprotein chưa xoắn cuộn trong hệ thống lưới nội bào, gây stress hệ thống này dẫn đến tình trạng chết tế bào [9].

2.2 Đối tượng nghiên cứu

Trong nghiên cứu này, dòng tế bào MIN6 phân lập từ tụy nội tiết chuột được cung cấp bởi viện Công nghệ Kyoto, Nhật Bản. Chúng tôi lựa chọn tế bào tụy dòng MIN6 vì đây là tế bào tổng hợp enzyme glucokinase và protein vận chuyển Glut2 (glucose transporter 2), đóng vai trò vận chuyển glucose từ máu vào trong tế bào. Tế bào MIN6 tụy nội tiết được nuôi trong môi trường DMEM (Dulbecco's Modification of Eagle's Medium): 25 mM glucose, 15% FCS (fetal calf serum), 1% sodium pyruvate, 83 μ M β -mercaptoethanol, được ủ trong tủ ẩm đảm bảo điều kiện 37°C và 5% CO₂, 24/24 giờ [5].

2.3 Phương pháp nghiên cứu

2.3.1 Khảo sát khả năng gây độc tế bào của tunicamycin

Tế bào MIN6 được gieo 100 μ L vào đĩa 96 giếng với mật số 10⁴ tế bào/ mL, được nuôi cấy trong môi trường DMEM. Sau đó, thêm 5ml dung dịch tunicamycin có nồng độ 2,5 - 5 μ g/mL [6]. Dung dịch nuôi cấy được loại bỏ ở 2 thời điểm 24 giờ và 48 giờ. Sau lần loại bỏ thứ 2, chúng tôi thêm 110 μ L môi trường DMEM:WST_8 (10:1) và tiếp tục ủ trong 2 giờ. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.3.2 Khảo sát khả năng bảo vệ tế bào của dịch chiết RMK

Chúng tôi khảo sát ở hai lô: lô khảo sát tác dụng độc với tế bào của dịch chiết RMK và lô khảo sát tác dụng bảo vệ của dịch chiết RMK.

Ở lô khảo sát tác dụng độc của dịch chiết RMK, chúng tôi thực hiện nuôi cấy tế bào MIN6 như trên. Ngoài ra, dịch chiết RMK được thêm vào ở nồng độ từ 50, 100, 200, 300, 400 và 500 μ g/mL. Ủ tế bào trong điều kiện như trên ở 2 thời điểm 24h và 48h, quan

sát tỷ lệ tế bào sống sót.

Ở lô khảo sát tác dụng bảo vệ sự sống tế bào của dịch chiết RMK, tế bào MIN6 được nuôi cấy trong môi trường DMEM với dung dịch, mật độ và thời gian như trên. Sau đó sử dụng kết quả của lần thí nghiệm trước, thêm dung dịch tunamycacin với nồng độ gây chết mong muốn (tỷ lệ chết tế bào >50% tổng số lượng tế bào): 50ml dung dịch có nồng độ 5 μ g/mL. Tiếp đến thêm dịch chiết RMK ở các nồng độ 50, 100, 200, 300, 400 và 500 μ g/mL hoặc không có bổ sung dịch chiết RMK, ủ trong 2 khoảng thời gian là 24h và 48 giờ, quan sát tỷ lệ tế bào sống sót.

2.3.3. Phương pháp xác định tế bào sống

Để xác định tình trạng sống của tế bào, chúng tôi tiến hành đo bằng máy đo quang phổ ở bước sóng λ = 450 nm. Những tế bào còn sống sẽ tiết ra enzyme dehydrogenase chuyển một phần tử hidro từ NADPH kết hợp với dung dịch muối tetrazolium WST_8 (water soluble tetrazolium salt, WST_8), làm thay đổi màu của dung dịch WST_8 từ vàng nhạt sang màu cam [4] (Hình 3.2.1 và Hình 3.2.2). Đánh giá đậm độ màu của dung dịch sau thí nghiệm, tính ra tỷ lệ tế bào sống/chết.

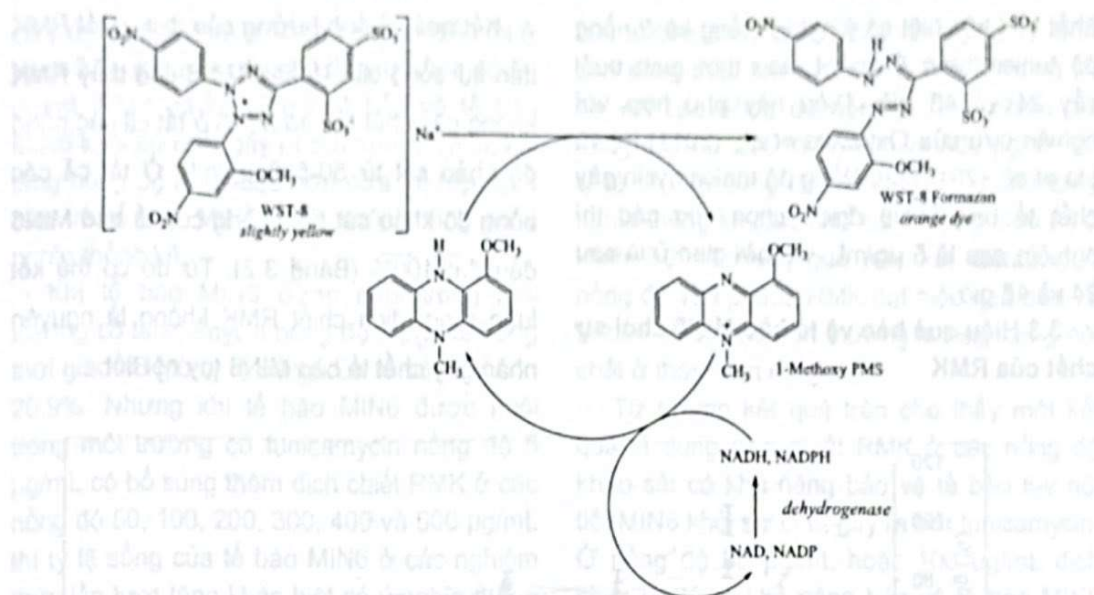
2.4 Thống kê phân tích số liệu

Số liệu được trình bày bằng MEAN $\pm$ SEM. Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 và phần mềm Minitab 16.0 bằng phương pháp phân tích ANOVA và phép kiểm định T-test.

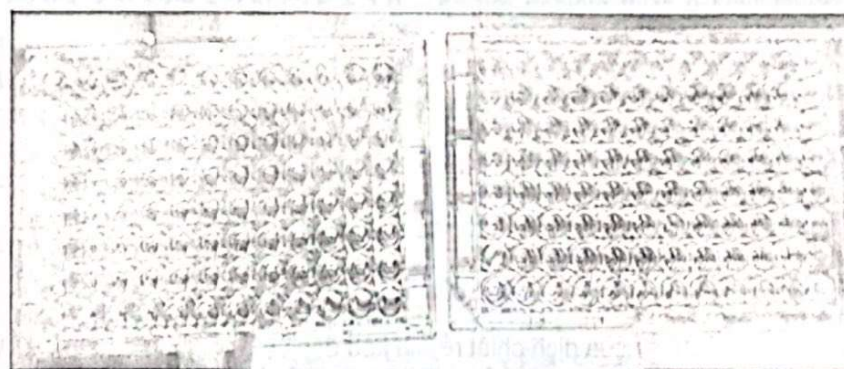
3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1 Định danh mẫu Me keo bằng phương pháp giải trình tự vùng ITS

Theo kết quả BlastN trên NCBI (National Center for Biotechnology Information), sự tương đồng của trình tự các nucleotid vùng ITS giữa mẫu thực vật trong thí nghiệm khảo sát và cây Me keo *Pithecellobium dulce* là 97-98% (Bảng 3.1). Từ những kết quả trên chứng minh rằng, mẫu thực vật được sử dụng trong nghiên cứu này có tên thường gọi là Me keo, Găng tây, Keo tây hay Me nước và có tên khoa học ở cấp độ loài là *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth.



Hình 3.2.1. Sơ đồ biểu hiện sự bắt đầu của WST_8 với tế bào sống



A. Trước khi thêm WST_8

B. Sau khi thêm WST_8

Hình 3.2.2. Sự đổi màu sau khi môi trường nuôi cấy tế bào được cho thêm vào WST_8

Môi trường nuôi cấy tế bào MIN6 có sự thay đổi màu từ màu hồng (Hình 3.2A) sang màu cam (Hình 3.2B) sau 2 giờ khi ủ với dung dịch WST_8.

Bảng 3.1. Kết quả Blast trình tự các nucleotid vùng ITS của mẫu vật và cây Me keo trong NCBI

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
JX856483.1	None	1088	1088	95%	0.0	98%
EF638207.1	None	1014	1014	88%	0.0	98%
EF638206.1	None	976	976	88%	0.0	97%

3.2 Khả năng gây chết tế bào MIN6 của tunicamycin *in vitro*

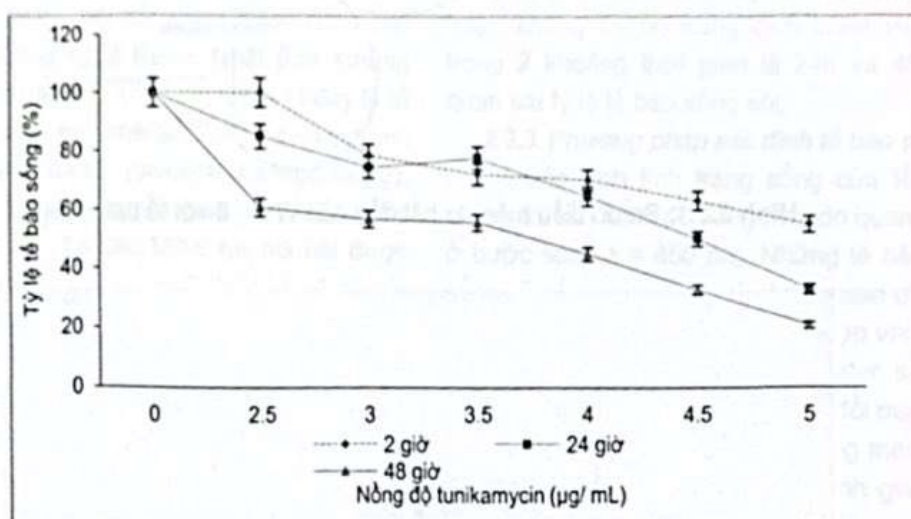
Nồng độ tunicamycin và thời gian gây chết tế bào MIN6 được khảo sát và kết quả được trình bày trong Hình 3.1. Kết quả được trình bày trong hình 3.1 chứng minh rằng, tỷ lệ tế

bào MIN6 sống tỷ lệ nghịch với nồng độ tunicamycin và thời gian ủ. Ở nồng độ 5 $\mu\text{g/mL}$, tỷ lệ tế bào sống giảm nhiều nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các nồng độ khảo sát khác ở thời điểm sau 2, 24 và 48 giờ. Khả năng gây chết tế bào nhiều

nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê ở nồng độ tunicamycin 5 $\mu\text{g/mL}$ sau thời gian nuôi cấy 24 và 48 giờ. Điều này phù hợp với nghiên cứu của Osowski *et al.*, (2011) [6] và Liu *et al.*, (2015) [3]. Nồng độ tunicamycin gây chết tế bào MIN6 được chọn cho các thí nghiệm sau là 5 $\mu\text{g/mL}$, và thời gian ủ là sau 24 và 48 giờ.

3.3 Hiệu quả bảo vệ tế bào MIN6 khỏi sự chết của RMK

Kết quả về ảnh hưởng của dịch chiết RMK đến sự sống của tế bào MIN6 cho thấy RMK không gây chết tế bào MIN6 ở tất cả các nồng độ khảo sát từ 50-500 $\mu\text{g/mL}$. Ở tất cả các nồng độ khảo sát tỷ lệ sống của tế bào MIN6 đều đạt 100% (Bảng 3.2). Từ đó có thể kết luận rằng, dịch chiết RMK không là nguyên nhân gây chết tế bào MIN6 tuy nội tiết.



Hình 3.1. Tỷ lệ sống của tế bào MIN6 ủ với tunicamycin

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của dịch chiết rễ Me keo đến sự phát triển của tế bào MIN6

Nồng độ dịch chiết ($\mu\text{g/mL}$)	Tỷ lệ tế bào sống (%)
0	100,0 $\pm$ 0,0
50	100,1 $\pm$ 3,4
100	101,8 $\pm$ 6,1
200	102,6 $\pm$ 4,4
300	103,5 $\pm$ 4,9
400	103,3 $\pm$ 9,3
500	105,1 $\pm$ 13,5

Khả năng bảo vệ tế bào MIN6 khỏi sự chết của RMK được quan sát khi tế bào MIN6 được ủ với tunicamycin ở nồng độ 5 $\mu\text{g/mL}$ và bổ sung dịch chiết RMK ở nồng độ khảo sát từ 50-500 $\mu\text{g/mL}$. Kết quả thí nghiệm được trình bày ở Hình 3.2 cho thấy, khi tế bào MIN6 được nuôi trong môi trường có tunicamycin và dịch chiết RMK trong thời gian 24 giờ thì tỷ lệ sống của tế bào cao khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức tế bào chỉ được

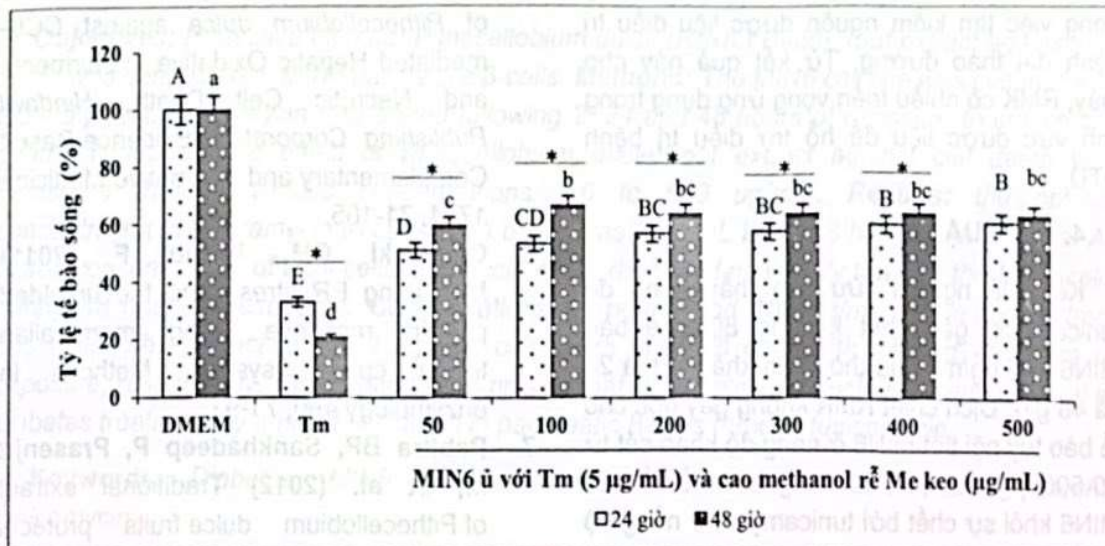
nuôi trong môi trường có tunicamycin (33,2%). Tỷ lệ sống của tế bào MIN6 ở các nghiệm thức tăng tỷ lệ thuận với nồng độ RMK khảo sát, ở nồng độ 50 $\mu\text{g/mL}$ là 51,3 $\pm$ 1,5%; tỷ lệ sống của tế bào tăng dần khi tăng nồng độ dịch chiết RMK và cao nhất ở nồng độ 500 $\mu\text{g/mL}$ là 60,4 $\pm$ 6,2%. Tuy nhiên, nếu xét cùng thời điểm khảo sát 24 giờ thì tỷ lệ tế bào sống giữa các nồng độ khảo sát 50, 100, 200, 300, 400 và 500 $\mu\text{g/mL}$ khác biệt không

có ý nghĩa thống kê (các chữ in hoa biểu thị ở Hình 3.2). Kết quả này cho thấy ở nồng độ 50 $\mu\text{g/mL}$ RMK đã có hiệu quả bảo vệ tế bào MIN6 khỏi sự chết gây ra bởi tunicamycin, khi tăng nồng độ RMK cao hơn nữa thì hiệu quả bảo vệ tế bào MIN6 cũng không tăng có ý nghĩa thống kê.

Khi tế bào MIN6 được nuôi trong môi trường có tunicamycin nồng độ 5 $\mu\text{g/mL}$ trong thời gian 48 giờ tỷ lệ sống của tế bào chỉ còn 20,9%. Nhưng khi tế bào MIN6 được nuôi trong môi trường có tunicamycin nồng độ 5 $\mu\text{g/mL}$ có bổ sung thêm dịch chiết RMK ở các nồng độ 50, 100, 200, 300, 400 và 500 $\mu\text{g/mL}$ thì tỷ lệ sống của tế bào MIN6 ở các nghiệm thức lần lượt tăng khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức chỉ nuôi trong môi trường có tunicamycin lần lượt là: $59,9 \pm 5,2$; $66,8 \pm 1,2$; $63,9 \pm 3,1$; $63,8 \pm 2,5$; $63,6 \pm 1,0$ và $63,0 \pm 4,8$ (%). Khi xét ở cùng thời điểm khảo sát 48 giờ thì kết quả cho thấy tỷ lệ sống

của tế bào ở nồng độ RMK 50 $\mu\text{g/mL}$ tỷ lệ tế bào sống thấp khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nồng độ còn lại. Tuy nhiên, từ nồng độ 100, 200, 300, 400 và 500 $\mu\text{g/mL}$ thì tỷ lệ tế bào sống tăng khác biệt không có ý nghĩa thống kê (các chữ cái thường biểu thị ở Hình 3.2). Từ kết quả này kết luận rằng ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$ RMK đạt hiệu quả bảo vệ tế bào MIN6 khỏi tổn thương stress mạng nội chất ở thời điểm 48 giờ.

Từ những kết quả trên cho thấy một kết quả là dung dịch chiết RMK ở các nồng độ khảo sát có khả năng bảo vệ tế bào tụy nội tiết MIN6 khỏi sự chết gây ra bởi tunicamycin. Ở nồng độ 50 $\mu\text{g/mL}$ hoặc 100 $\mu\text{g/mL}$ dịch chiết RMK có khả năng bảo vệ tế bào MIN6 khỏi sự chết do tunicamycin gây ra. Tỷ lệ tế bào sống ở các thời điểm khảo sát cao hơn so với nghiệm thức ủ tunicamycin là 1,8 và 3,0 lần lần lượt ở các thời điểm khảo sát 24 và 48 giờ.



Hình 3.2. Khả năng bảo vệ tế bào MIN6 tụy nội tiết khỏi quá trình chết của RMK

Ghi chú: DMEM: tế bào MIN 6 được nuôi trong môi trường DMEM; tm: tế bào MIN6 được nuôi trong môi trường DMEM có bổ sung tm ($\mu\text{g/mL}$), từ 50-500: Tế bào MIN6 được nuôi trong môi trường DEME bổ sung tm (5 $\mu\text{g/mL}$) và dịch chiết RMK ở các nồng độ từ 50-500 $\mu\text{g/mL}$. (*): khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% khi so sánh giữa thời gian khảo sát 24 giờ và 48 giờ ở cùng nồng độ dịch chiết RMK. Các chữ cái khác nhau chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%, chữ in hoa và chữ in thường so sánh các nồng độ khảo sát lần lượt ở thời điểm 24 và 48 giờ.

Các tế bào trong cơ thể có khả năng tự điều chỉnh để thích nghi với chức năng của nó và tự bảo vệ trước các tác nhân gây tổn

thương. Tế bào có khuynh hướng duy trì các thông số sinh lý môi trường nội môi. Khi rơi vào trạng thái stress sinh lý hay stress do

nhân tố kích thích bệnh lý, tế bào có thể thích nghi để duy trì sự sống hoặc chết. Tế bào tụy nội tiết bị phá hủy là nguyên nhân chính gây ra bệnh đái tháo đường type 2 và có mối quan hệ chặt chẽ với bệnh béo phì [13]. Vì vậy, thực vật có khả năng bảo vệ tế bào tụy nội tiết khỏi stress mạng nội chất đóng vai trò quan trọng trong việc tìm kiếm nguồn dược liệu điều trị bệnh đái tháo đường. Ở nồng độ 400 $\mu\text{g/mL}$, sau 24 giờ ủ, dịch chiết trái dâu tằm (mulberry) đã được chứng minh có khả năng bảo vệ tế bào tụy nội tiết MIN6 khỏi sự chết là 1,33 lần so với nghiệm thức đối chứng [3]. Trong khảo sát này đã chứng minh được khả năng bảo vệ tế bào tụy nội tiết MIN6 của rễ Me keo cao hơn so với dịch chiết trái dâu tằm.

Tế bào tụy nội tiết bị phá hủy là nguyên nhân chính gây ra bệnh đái tháo đường type 2 và có mối quan hệ chặt chẽ với bệnh béo phì [13]. Vì vậy, thực vật có khả năng bảo vệ tế bào tụy nội tiết đóng vai trò quan trọng trong việc tìm kiếm nguồn dược liệu điều trị bệnh đái tháo đường. Từ kết quả này cho thấy, RMK có nhiều triển vọng ứng dụng trong lĩnh vực dược liệu để hỗ trợ điều trị bệnh ĐTD.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ tunicamycin gây chết khoảng 80% tế bào MIN6 là 5 $\mu\text{g/mL}$ sau thời gian khảo sát là 24 và 48 giờ. Dịch chiết RMK không gây độc cho tế bào tụy nội tiết MIN6 ở nồng độ khảo sát từ 50-500 $\mu\text{g/mL}$; có khả năng bảo vệ tế bào MIN6 khỏi sự chết bởi tunicamycin ở nồng độ từ 50 $\mu\text{g/mL}$ và 100 $\mu\text{g/mL}$ sau thời gian 24 và 48 giờ khảo sát.

Đề xuất: rễ Me keo được đề nghị như một nguồn dược liệu tiềm năng hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường. Nên được tiếp tục nghiên cứu sâu hơn để chứng minh toàn diện trên các thí nghiệm *in vivo*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hoàng Hộ (2003) Cây cỏ Việt Nam, tập I, NXB Trẻ, tr. 832.
2. Farsi E, Ahmad M, Hor SY, et al. (2014)

Standardized extract of *Ficus deltoidea* stimulates insulin secretion and blocks hepatic glucose production by regulating the expression of glucose-metabolic genes in streptozotocin-induced diabetic rat, BMC Complementary and Alternative Medicine 14, 220.

3. Lee JS, Kim YR, Park JM, et al., (2014) Baek and E.K Hong, Mulberry Fruit Extract Protects Pancreatic β -Cells against Hydrogen Peroxide-Induced Apoptosis via Antioxidative Activity, Molecules 19, 8904-8915.
4. Liu CL, Zhong W, He YY, et al. (2016) Genome-wide analysis of tunicamycin-induced endoplasmic reticulum stress response and the protective effect of endoplasmic reticulum inhibitors in neonatal rat cardiomyocytes, Molecular and Cellular Biochemistry 413, 57-67.
5. Manna P, Bhattacharyya S, Das J, et al. (2011) Parames, Phytochemical Role of *Pithecellobium dulce* against CCl_4 -mediated Hepatic Oxidative Impairments and Necrotic Cell Death, Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 17, 4, 71-105.
6. Osowski CM, Urano F (2011) Measuring ER stress and the unfolded protein response using mammalian tissue culture system, Methods in enzymology 490, 71-91.
7. Pabitra BP, Sankhadeep P, Prasenjit M, et al. (2012) Traditional extract of *Pithecellobium dulce* fruits protects mice against CCl_4 induced renal oxidative impairments and necrotic cell death. Pathophysiology 19, 101-114.
8. Rojas R, Segovia C, Trombert AN, et al., (2014) The Effect of Tunicamycin on the Glucose Uptake, Growth, and Cellular Adhesion in the Protozoan Parasite *Crithidia fasciculata*, Current Microbiology, 69:541-548.
9. Sano R, Reed JC (2013) ER stress-induced cell death mechanisms, Biochimica et Biophysica Acta 1833, 3460-3470.

10. Skelin M, Rupnik M, Cencic A (2010) Pancreatic Beta Cell Lines and their Applications in Diabetes Mellitus Research. ALTEX 27:105-13.
11. Suzuki K, Sato Y, Kai S, et al. (2015) Volatile anesthetics suppress glucose-stimulated insulin secretion in MIN6 cells by inhibiting glucose-induced activation of hypoxia-inducible factor 1. Peer J 3: e1498.
12. White TJ, Bruns T, Lee S, et al. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, editor. PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. New York: Academic Press Inc; pp. 315-322.
13. Zhao YF, Feng DD, Hernandez M, et al., (2006) 3T3-L1 adipocytes induce dysfunction of MIN6 insulin-secreting cells via multiple pathways mediated by secretory factors in a co-culture system, Endocrine reviews 31, 52-60.

SUMMARY

PROTECTIVE EFFECT OF *Pithecellobium ducle* (roxb.) Benth. ROOT EXTRACT AGAINST TUNICAMYCIN-INDUCED CELL DEATH IN MIN6 PANCREATIC β -CELLS

Nguyen Thi Ai Lan, Dai Thi Xuan Trang

Can Tho university

Objectives: Protective effect of *Pithecellobium ducle* (Roxb.) Benth. root extract against cell death was conducted in MIN6 pancreatic β -cells. **Methods:** The MIN6 cell line was cultured with 2.5 - 5 $\mu\text{g/mL}$ tunicamycin (tm) added following 2, 24 and 48 hours of exposure to induce cell death. The protective effect of *Pithecellobium ducle* root extract against cell death was measured through various concentrations (50 to 500 $\mu\text{g/mL}$). **Results:** the optimal concentration of tunicamycin to cause cell death was 5 $\mu\text{g/mL}$ in 24-48 hours of incubation. All tested concentrations of *Pithecellobium ducle* root extract had no toxicity towards the MIN6 cells during 48 hours of exposure. Concentrations 50 $\mu\text{g/mL}$ and 100 $\mu\text{g/mL}$ of the root extract possessed the protective effect against cell death in MIN6 cells with 24 and 48 hours of exposure, respectively. **Conclusion:** It is proved that *Pithecellobium ducle* root has potential in diabetes treatment by against cell death in pancreatic β -cells through tunicamycin.

Keywords: Diabetes, MIN6 pancreatic cell, *Pithecellobium ducle* (Roxb.) Benth., tunicamycin