

Đánh giá khả năng điều trị bệnh Parkinson của resveratrol trên mô hình ruồi giấm *Drosophila melanogaster*

Đặng Thị Phương Thảo^{1,2,*}, Linh Mỹ Đào^{1,2}, Tươi Văn Phan^{1,2}, Anh Mẫn Huỳnh^{1,2}



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

TÓM TẮT

Parkinson là bệnh thoái hóa thần kinh phổ biến thứ hai trên thế giới (sau Alzheimer), được đặc trưng bởi sự thoái tế bào thần kinh sản sinh dopamine và suy giảm khả năng vận động, từ đó làm suy giảm nghiêm trọng chất lượng cuộc sống của bệnh nhân. Hiện nay, bệnh chưa có liệu pháp điều trị đặc hiệu. Dựa trên cơ sở về mối liên quan giữa stress oxy hóa và cơ chế hình thành, cũng như tiến triển bệnh, các hợp chất kháng oxy hóa đã trở thành các đối tượng tiềm năng trong hỗ trợ điều trị hoặc làm chậm tiến trình bệnh. Resveratrol là chất kháng oxy hóa, kháng viêm, kháng apoptosis mạnh, tồn tại nhiều trong các loại trái cây, đặc biệt là nho, dâu..., và có hoạt tính phụ thuộc vào nồng độ sử dụng. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá hiệu quả điều trị của resveratrol với bệnh Parkinson tại các nồng độ 0,064mg/g, 0,32mg/g, 0,64mg/g trên mô hình ruồi giấm *Drosophila melanogaster* knockdown *dUCH* (*Drosophila ubiquitin carboxyl terminal hydrolase*). Đây là mô hình mô phỏng được các triệu chứng điển hình của bệnh Parkinson, đồng thời đã được chứng minh hiệu quả trong sàng lọc thuốc điều trị bệnh. Kết quả thu nhận được cho thấy, sử dụng resveratrol tại nồng độ 0,32mg/g có hiệu quả trong việc ngăn ngừa suy thoái tế bào thần kinh sinh dopamine và cải thiện khả năng vận động ở ruồi knockdown *dUCH*. Kết quả này đã đóng góp những bằng chứng khoa học về tiềm năng trong việc sử dụng resveratrol cho việc phát triển các sản phẩm chức năng hoặc thuốc hỗ trợ điều trị bệnh.

Từ khóa: Parkinson, hệ thống Ubiquitin proteasome, resveratrol, UCH-L1, tế bào thần kinh sinh dopamine

GIỚI THIỆU

Parkinson là bệnh thoái hóa thần kinh mạn tính phổ biến thứ hai trên thế giới, chỉ sau Alzheimer, ảnh hưởng tới khoảng 1-3% dân số ở sau độ tuổi 60. Năm 2019, ước tính trên thế giới có khoảng 10 triệu người đang chung sống với bệnh¹. Parkinson được đặc trưng bởi sự suy giảm khả năng vận động như run, di chuyển kém linh hoạt, cứng cơ, khó khăn trong việc giữ cân bằng... từ đó làm ảnh hưởng nghiêm trọng tới chất lượng cuộc sống của người bệnh. Các hệ quả trên được gây ra do sự thiếu hụt hợp chất dẫn truyền thần kinh dopamine, mà nguyên nhân sâu xa bắt nguồn từ việc chết các tế bào thần kinh sinh dopamine thuộc vùng chất đen ở não. Các cơ chế chính dẫn tới hiện tượng chết nhóm tế bào này bao gồm: stress oxy hóa tế bào, suy giảm trong hoạt động của hệ thống Ubiquitin proteasome, sai hỏng trong hoạt động của ty thể. Ba cơ chế này có mối liên hệ tác động qua lại lẫn nhau^{2,3}. Tới nay, bệnh Parkinson vẫn chưa có liệu pháp điều trị đặc hiệu, các phương pháp hiện tại chủ yếu tập trung vào việc sử dụng các thuốc nhằm tăng cường hiệu quả tổng hợp dopamine của tế bào. Tuy nhiên các thuốc này chỉ có tác dụng trong thời gian ngắn và thường đi kèm nhiều tác dụng phụ. Ở giai đoạn nặng,

người bệnh có thể được điều trị bằng phương pháp phẫu thuật đặt các vi điện cực, nhưng biện pháp này cần chi phí lớn và tiềm ẩn các nguy cơ khác^{4,5}. Thực tế trên đã đặt ra yêu cầu về việc phát triển các thực phẩm chức năng và thuốc mới nhằm hỗ trợ giảm tác dụng phụ do thuốc gây ra, làm chậm tiến trình bệnh hoặc điều trị bệnh. Trong đó, dựa trên việc cơ chế bệnh có liên quan đến hiện tượng stress oxy hóa, nhiều nhóm nghiên cứu trên thế giới đã tiến hành sàng lọc các cây thuốc, hợp chất kháng oxy hóa như rau sam, lạc tiên, ban đầu, vitamin C, curcumin... nhằm ứng dụng trong hỗ trợ và điều trị bệnh^{5,6}.

Resveratrol (3,5,4' - trihydroxy -trans - stilbene, C₁₄H₁₂O₃) là một hợp chất polyphenolic tự nhiên không chứa flavonoid tồn tại ở hơn 70 loài thực vật khác nhau, trong đó nhiều nhất là ở nho, dâu tằm, đậu phộng, việt quất. Resveratrol có tiềm năng lớn trong ứng dụng hỗ trợ điều trị bệnh Parkinson⁷. Nhiều nghiên cứu trên mô hình chuột tiếp xúc với các chất độc thần kinh như 6-OHDA, MPTP, cho thấy resveratrol có khả năng ngăn chặn các triệu chứng của bệnh Parkinson, bao gồm cả về vận động và nhận thức⁸⁻¹⁰. Hiện tượng này được giải thích thông qua khả năng kháng stress oxy hóa, kháng viêm, ức chế quá trình

¹Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

²Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

Liên hệ

Đặng Thị Phương Thảo, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

Email: thaodp@hcmus.edu.vn

Lịch sử

- Ngày nhận: 15-3-2021
- Ngày chấp nhận: 11-5-2021
- Ngày đăng: 18-5-2021

DOI: 10.32508/stdjns.v5i3.1039



Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



Trích dẫn bài báo này: Thảo D T P, Đào L M, Phan T V, Huỳnh A M. **Đánh giá khả năng điều trị bệnh Parkinson của resveratrol trên mô hình ruồi giấm *Drosophila melanogaster*.** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 5(3):1295-1302.

apoptosis và tăng cường hoạt động autophagy của resveratrol⁸. Tuy nhiên, resveratrol có tính sinh khả dụng thấp, tan kém trong nước, và có tác dụng phụ thuộc vào nồng độ sử dụng¹¹. Các nghiên cứu trên các mô hình tế bào biểu mô và ung thư đại tràng chỉ ra rằng khi sử dụng với liều lượng thấp, resveratrol đóng vai trò là chất kháng apoptosis, tuy nhiên khi sử dụng với liều lượng cao, resveratrol lại hoạt hóa quá trình này¹². Một nghiên cứu lâm sàng cho thấy người mắc bệnh gan nhiễm mỡ (không do rượu), khi sử dụng resveratrol với lượng 2,5g/ngày có biểu hiện một số tác dụng phụ như buồn nôn, nôn, tiêu chảy và rối loạn chức năng gan¹³. Ngoài ra, khi sử dụng với nồng độ cao, resveratrol có thể đóng vai trò là tiền chất gây stress oxy hóa⁷. Các đặc điểm trên đặt ra yêu cầu về việc đánh giá hàm lượng resveratrol phù hợp cho điều trị Parkinson.

Đối với bệnh Parkinson, một mô hình động vật chỉ thể hiện được một vài kiểu hình bệnh mà không bao quát được toàn bộ đặc điểm lâm sàng và bệnh lý bệnh⁶. Vì vậy, việc thử nghiệm hoạt tính của một đối tượng tiềm năng cần được xem xét thực hiện trên nhiều mô hình khác nhau. Trong nghiên cứu này, mô hình ruồi knockdown *dUCH* (gene tương đồng với gene *uch-11* ở người, với mức độ tương đồng về trình tự acid amine khoảng 46%) chuyên biệt tại tế bào thần kinh sinh dopamine được sử dụng để đánh giá hoạt tính của resveratrol. Mô hình này biểu hiện các triệu chứng điển hình của bệnh Parkinson như sự suy thoái tế bào thần kinh sinh dopamine, suy giảm khả năng vận động ở giai đoạn ấu trùng và ruồi trưởng thành^{14,15}. Kết hợp với các ưu điểm khác của mô hình như: chi phí thấp, vòng đời ngắn, tốc độ nhân dòng nhanh giúp thu ngắn thời gian và cho phép nghiên cứu trên cỡ mẫu lớn, mô hình ruồi giảm knockdown *dUCH* phù hợp để sử dụng như một mô hình *in vivo* sơ cấp trong sàng lọc thuốc điều trị bệnh Parkinson. Tới thời điểm hiện tại, mô hình đã được sử dụng để đánh giá khả năng điều trị Parkinson bằng curcumin, vitamin C, cao chiết rau sam¹⁶⁻¹⁸.

Từ những cơ sở trên, chúng tôi tiến hành đánh giá hiệu quả điều trị theo nồng độ của resveratrol đối với bệnh Parkinson trên mô hình ruồi giảm knockdown gene *dUCH* chuyên biệt tại tế bào thần kinh sinh dopamine. Kết quả cho thấy, sử dụng resveratrol tại nồng độ 0,32mg/g có khả năng ngăn cản sự suy thoái tế bào thần kinh sinh dopamine cũng như sự suy giảm vận động ở ấu trùng và ruồi trưởng thành.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Các dòng ruồi sử dụng và môi trường nuôi

Các dòng ruồi bố mẹ được nuôi giữ trên môi trường chứa 0,8% agar, 5% sucrose, 5% nấm men, 3% sữa bột

tại 25°C.

Dòng ruồi RNAi mang trình tự UAS-*dUCH*.IR trên nhiễm sắc thể số 3 (mã v26468, Vienna *Drosophila* Resource Center-VDRC) được sử dụng để knockdown *dUCH* theo cơ chế của RNA can thiệp (RNA interference). Hiệu quả giảm biểu hiện gene *dUCH* của dòng ruồi v26468 đã được chứng minh trong các nghiên cứu trước đó, với hiệu quả knockdown trên đĩa tiến phân sinh mắt ở mức mRNA là 30%, ở mức protein trên mô não là 60%¹⁵.

Dòng ruồi hoang dại Canton S (Bloomington *Drosophila* stock center, BDSC) được sử dụng lai tạo dòng đối chứng. Các dòng ruồi này được định hướng biểu hiện chuyên biệt tại tế bào thần kinh sinh dopamine bằng trình tự TH-GAL4 trên nhiễm sắc thể số 3 (8848, BDSC).

Dòng ruồi knockdown *dUCH* chuyên biệt tại tế bào thần kinh sinh dopamine là F1 của phép lai 8848 và v26468, mang kiểu gene +; +; TH-GAL4/UAS-*dUCH*-IR (viết tắt TH>*dUCH*-IR). Dòng ruồi đối chứng là F1 của phép lai giữa Canton S và 8848, có kiểu gene +; +; TH-GAL4/+ (viết tắt TH>+).

Nhằm đánh giá khả năng điều trị Parkinson của resveratrol, ruồi thí nghiệm được nuôi trên môi trường thường, bổ sung resveratrol (Sigma Aldrich, mã số R5010) để đạt các nồng độ 0,064 mg/g, 0,32 mg/g, 0,64 mg/g (khối lượng resveratrol/ khối lượng môi trường). Ngoài ra, để đảm bảo hoạt động của hệ thống GAL4-UAS, ruồi F1 được nuôi tại 28°C¹⁹. Chỉ ruồi đực F1 từ 6-8 ngày tuổi được sử dụng trong thí nghiệm để giảm thiểu các tác động do quá trình sinh sản.

Đánh giá khả năng vận động của ấu trùng bậc ba

Khả năng vận động của ấu trùng bậc ba được đánh giá thông qua tốc độ bò trườn của ấu trùng theo phương pháp đã công bố trước đó¹⁵. Ấu trùng bậc ba được thu nhận ngẫu nhiên trong quần thể và rửa qua với PBS nhằm loại bỏ thức ăn, tạp chất bám dính trên cơ thể. Ấu trùng sau đó được thấm ráo bằng khăn giấy và chuyển lên đĩa agar 2% (mật độ 3-4 con/đĩa) trong 60s. Quá trình bò của ấu trùng trong đĩa được ghi nhận thông qua camera Olympus E-M10. Video vận động được chuyển từ MP4 sang định dạng MOV bằng phần mềm AVI converter (Pazera Jacenk, Hà Lan) và phân tích vận tốc bò trườn bằng phần mềm ImageJ (NIH, Mỹ) với tùy chọn wrMTrack (phát triển bởi Jesper Sondergaard Pedersen). Số liệu được ghi nhận và xử lý thống kê thông qua phần mềm GraphPad Prism 8.

Đánh giá khả năng vận động của ruồi trưởng thành

Khả năng vận động của ruồi trưởng thành được đánh giá thông qua khả năng bò ngược chiều trọng lực tương tự như công bố trước đó¹⁷. Hai mươi con ruồi đực trưởng thành được thu nhận và chuyển vào ống hình trụ có chiều cao 15 cm và đường kính 2 cm. Các ống được đập theo chiều trọng lực để chuyển toàn bộ ruồi về phía đáy ống. Ruồi sẽ chuyển động ngược lên trên theo tập tính bò ngược chiều trọng lực. Quá trình vận động này được ghi lại trong 30 giây và ghi nhận điểm sau 5 giây đầu sau khi đập. Trong tất cả các thí nghiệm leo trèo, điểm mà mỗi con ruồi leo lên được tính như sau: 0 (dưới 2 cm), 1 (từ 2 đến 4 cm), 2 (từ 4 đến 6 cm), 3 (từ 6 đến 8 cm), 4 (từ 8 đến 10 cm) và 5 (hơn 10 cm). Thử nghiệm leo trèo được thực hiện ở ruồi 1, 5, 10 ngày tuổi.

Nhuộm miễn dịch huỳnh quang

Tế bào thần kinh dopamine được nhuộm với kháng thể kháng tyrosine hydroxylase (Cell Signaling, code #2792S) với tỷ lệ 1:250. Tyrosine hydroxylase là enzyme tham gia vào quá trình sinh tổng hợp dopamine và chuyên biệt cho nhóm tế bào này. Quy trình nhuộm được thực hiện như công bố trước đây của Hiệp và cộng sự¹⁵. Hình ảnh được chụp thông qua kính hiển vi huỳnh quang ECLIPSE NI-U.

Xử lý dữ liệu

Số liệu được thu nhận và xử lý bằng phần mềm Graph-Pad Prism 8. Các kết quả khác được xử lý bằng one-way ANOVA, và so sánh từng cặp bằng Sidak post hoc test. Số liệu được trình bày với giá trị trung bình và độ lệch chuẩn.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Tác động của resveratrol lên khả năng vận động của ấu trùng ruồi giấm knockdown *dUCH* ở tế bào thần kinh sinh dopamine

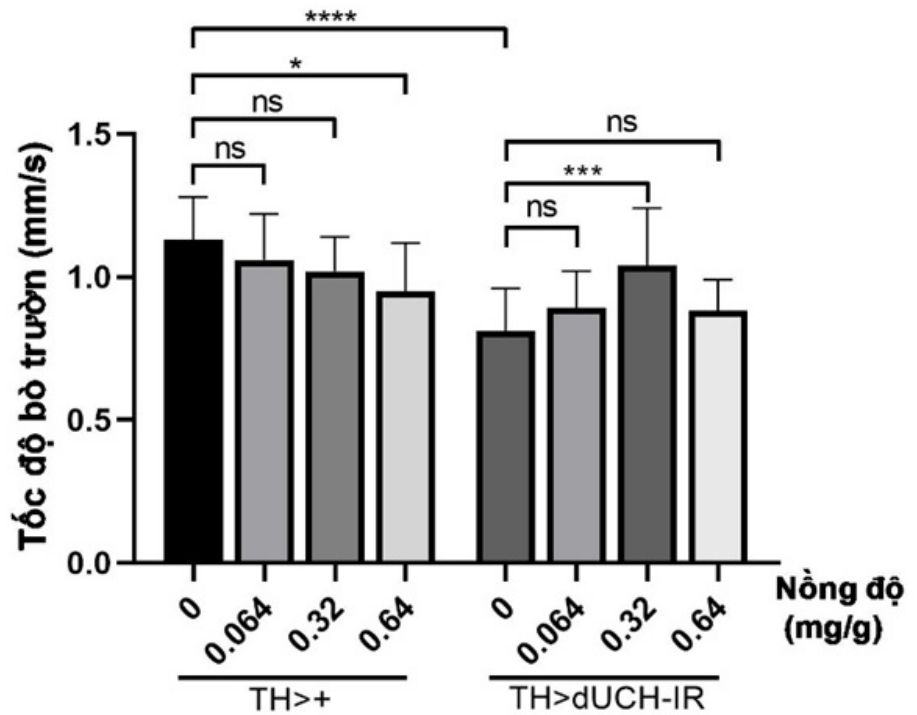
Trong các nghiên cứu về bệnh Parkinson, khả năng vận động là một trong các tiêu chí quan trọng xác định tình trạng bệnh²⁰. Ở giai đoạn ấu trùng bậc ba của ruồi giấm, khả năng vận động được đánh giá thông qua thử nghiệm bò trườn (crawling assay)²¹. Nhằm thử nghiệm tác động của chất kháng oxy hóa resveratrol lên kiểu hình bệnh Parkinson của ruồi giấm knockdown *dUCH*, chúng tôi tiến hành thử nghiệm bò trườn với các ấu trùng bậc 3 được nuôi trên môi trường cơ bản không có resveratrol và môi trường cơ bản có bổ sung resveratrol tại các nồng độ 0,064 mg/g, 0,32 mg/g, 0,64 mg/g. Kết quả cho thấy: Trên môi trường cơ bản, ấu trùng dòng knockdown

(TH>*dUCH*-IR) có vận tốc bò trườn thấp hơn so với dòng đối chứng (TH>+) ($\Delta v = 0,32$ mm/s, One-way ANOVA, $p < 0,0001$) (Hình 1). Điều này, cho thấy knockdown *dUCH* chuyên biệt tại tế bào thần kinh sinh dopamine làm giảm khả năng vận động của ấu trùng, đồng thời phù hợp với các triệu chứng của mô hình đã ghi nhận trước đó¹⁵. Đối với dòng đối chứng, sử dụng môi trường chứa resveratrol tại các nồng độ 0,064 mg/g và 0,32 mg/g không làm thay đổi khả năng vận động của ấu trùng. Tuy nhiên tại nồng độ 0,64mg/g, resveratrol làm giảm khả năng di chuyển của ấu trùng ($\Delta v = 0,18$ mm/s, One-way ANOVA, $p < 0,05$) (Hình 1). Đối với dòng knockdown *dUCH*, sử dụng môi trường bổ sung resveratrol nồng độ thấp (0,064mg/g) và nồng độ cao (0,064 mg/g) không ảnh hưởng đến tốc độ di chuyển của ấu trùng (Hình 1) (One-way ANOVA, $p > 0,05$). Tuy nhiên, tại nồng độ 0,32mg/g, resveratrol làm tăng đáng kể khả năng vận động (Hình 1) ($\Delta v = 0,23$ mm/s, One-way ANOVA, $p < 0,001$).

Kết quả này cho thấy tác động của resveratrol phụ thuộc vào nồng độ sử dụng: Tại nồng độ thấp hoạt tính của resveratrol không đủ để cải thiện vận động của ruồi. Ở nồng độ vừa phải, resveratrol giúp hỗ trợ khả năng vận động ở ấu trùng ruồi giấm. Tuy nhiên ở nồng độ cao resveratrol lại mất khả năng cải thiện. Hiện tượng này kết hợp với sự giảm vận động ở dòng đối chứng tại nồng độ 0,64mg/g, có thể giải thích rằng: ở nồng độ cao, resveratrol có các tác dụng phụ lên các chức năng sinh lý của cơ thể ấu trùng hoặc gây độc tế bào. Điều này cũng phù hợp với một số nghiên cứu trước về hoạt tính của resveratrol khi sử dụng với nồng độ cao⁸.

Tác động của resveratrol lên các tế bào thần kinh sinh dopamine ở giai đoạn ấu trùng bậc ba

Kết quả vận động ở giai đoạn ấu trùng bậc ba cho thấy sử dụng resveratrol với nồng độ 0,32mg/g giúp cải thiện vận động của ruồi knockdown gene *dUCH*, đồng thời không gây các tác dụng phụ lên vận động của ấu trùng ruồi đối chứng. Một số nghiên cứu cho thấy khả năng vận động của ấu trùng phụ thuộc vào lượng tế bào thần kinh sinh dopamine trên não¹⁷. Do đó, chúng tôi tiến hành khảo sát số lượng tế bào thần kinh sinh dopamine ở giai đoạn ấu trùng của các dòng đối chứng và dòng knockdown *dUCH* ở môi trường thức ăn cơ bản và môi trường bổ sung resveratrol 0,32mg/g. Kiểm tra này được tiến hành thông qua nhuộm miễn dịch huỳnh quang trên vùng thùy não (brain lobe) của ấu trùng bậc ba với kháng thể kháng tyrosine hydroxylase (TH), một marker đặc trưng cho các tế bào thần kinh sinh dopamine.



Hình 1: Biểu đồ tác động của resveratrol lên tốc độ bò trườn của ấu trùng bậc 3 của dòng đối chứng và dòng knockdown dUCH tại các tế bào thần kinh sinh dopamine (n=15, one-way ANOVA với * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, **** p<0,0001, cột sai số SD).

Kết quả ghi nhận được cho thấy, trên môi trường cơ bản, ấu trùng knockdown thể hiện sự suy thoái tế bào sinh dopamine khi so sánh với dòng đối chứng ở hai vùng DL1 (Dorsal lateral 1- cụm ở vùng mặt sau 1) (One-way ANOVA, p<0,0001) và DL2 (Dorsal lateral 2- cụm ở vùng mặt sau 2) (One-way ANOVA, p<0,001) (Hình 2. A, B, C). Sự suy thoái tế bào này cũng quan sát được trên tổng tế bào sinh dopamine ở ba cụm DM (Dorsal medial- cụm ở vùng giữa), DL1 và DL2 (One-way ANOVA, p<0,0001, độ chênh lệch tế bào trung bình $\Delta tb \sim 4$ (tb)) (Hình 2. B, C). Kết quả này tương tự như các kết quả về mô hình đã được công bố trước đó^{15,17}.

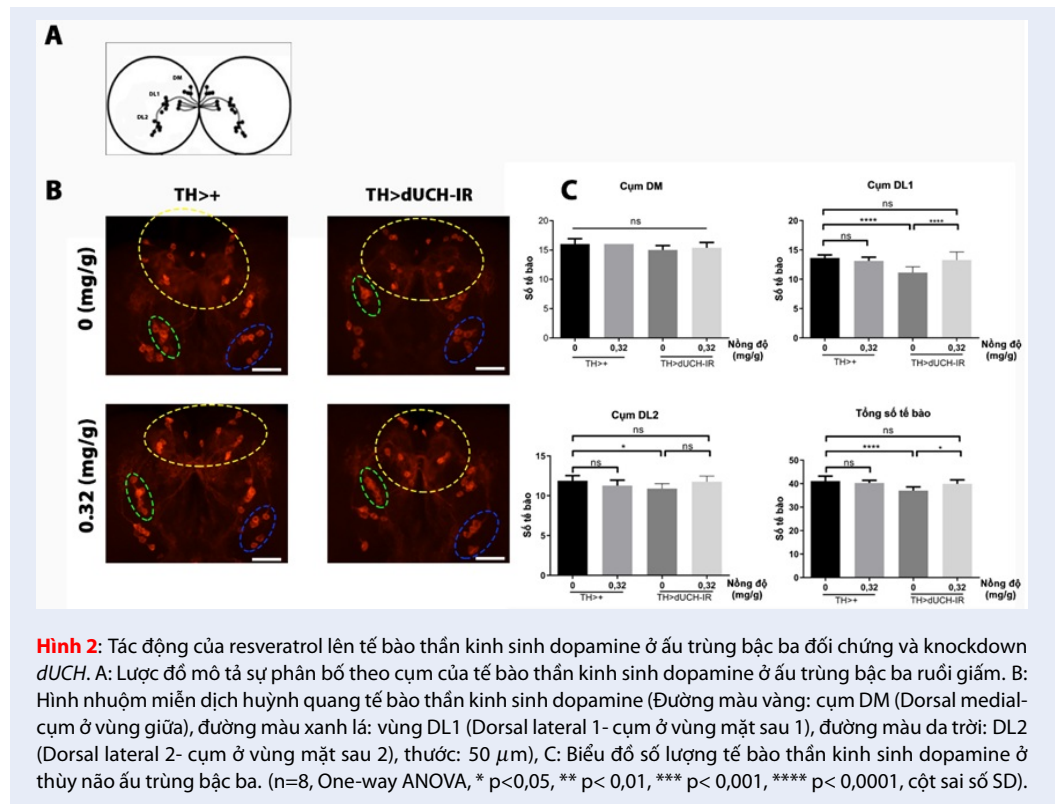
Ngoài ra, số lượng tế bào thần kinh sinh dopamine thuộc cụm DL1 ở ruồi knockdown dUCH nuôi trên môi trường bổ sung resveratrol với nồng độ 0,32 mg/g cao hơn so với ruồi knockdown nuôi trên môi trường thường (One-way ANOVA, p<0,001) (Hình 2. B, C), nhưng không có sự khác biệt ở cụm DL2 (One-way ANOVA, p>0,05) (Hình 2. B, C). Tuy nhiên, khi xét trên tổng số tế bào sinh dopamine ở thùy não ấu trùng, resveratrol khả năng ngăn chặn sự suy thoái (One-way ANOVA, p<0,05) (Hình 2. B, C). Hơn nữa, số lượng tế bào ở các cụm riêng rẽ cũng như trên toàn

thùy não không có sự khác biệt giữa dòng đối chứng, đối chứng sử dụng resveratrol và knockdown sử dụng resveratrol.

Các kết quả trên cho thấy, resveratrol nồng độ 0,32 mg/g có khả năng bảo vệ tế bào sinh dopamine khỏi tác động của knockdown dUCH, đồng thời không ảnh hưởng đến số lượng tế bào trên dòng đối chứng.

Tác động của resveratrol lên khả năng vận động của ruồi giấm knockdown dUCH ở tế bào thần kinh sinh dopamine

Parkinson là bệnh suy thoái thần kinh vận động mạn tính, tiến triển theo thời gian²⁰. Do đó, sau khi thực hiện đánh giá hiệu quả tác động của resveratrol lên vận động ở giai đoạn ấu trùng bậc ba, chúng tôi tiếp tục đánh giá các tác động này trên giai đoạn ruồi trưởng thành thông qua thử nghiệm khả năng leo trèo (climbing assay). Thí nghiệm được tiến hành với các dòng ruồi đối chứng, knockdown dUCH, và đối chứng, knockdown nuôi trên môi trường bổ sung resveratrol tại các nồng độ 0,064 mg/g, 0,32 mg/g và 0,64 mg/g, tại các giai đoạn ruồi 1, 5 và 10 ngày tuổi. Kết quả ghi nhận được cho thấy, knockdown dUCH làm suy giảm khả năng vận động ở ruồi trưởng thành



Hình 2: Tác động của resveratrol lên tế bào thần kinh sinh dopamine ở ấu trùng bậc ba đối chứng và knockdown *dUCH*. A: Lược đồ mô tả sự phân bố theo cụm của tế bào thần kinh sinh dopamine ở ấu trùng bậc ba ruồi giấm. B: Hình nhuộm miễn dịch huỳnh quang tế bào thần kinh sinh dopamine (Đường màu vàng: cụm DM (Dorsal medial-cụm ở vùng giữa), đường màu xanh lá: vùng DL1 (Dorsal lateral 1- cụm ở vùng mặt sau 1), đường màu da trời: DL2 (Dorsal lateral 2- cụm ở vùng mặt sau 2), thước: 50 μ m), C: Biểu đồ số lượng tế bào thần kinh sinh dopamine ở thùy não ấu trùng bậc ba. (n=8, One-way ANOVA, * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, **** p<0,0001, cột sai số SD).

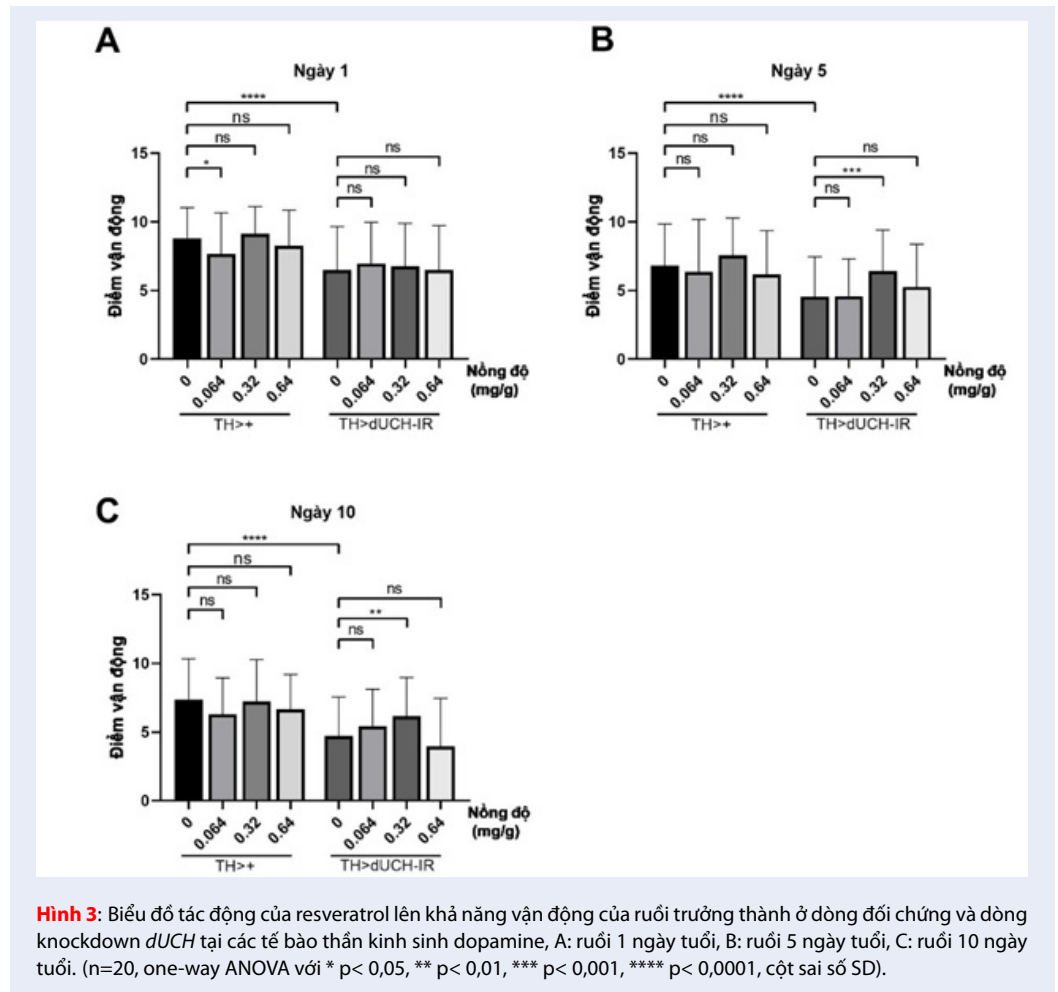
1, 5 và 10 ngày tuổi (Hình 3. A, B, C, **** p<0,0001 one-way ANOVA). Điều này phù hợp với các công bố trước đây về ảnh hưởng của knockdown *dUCH* lên vận động của ruồi trưởng thành. Đối với ruồi đối chứng, sử dụng resveratrol tại các nồng độ 0,32 mg/g và 0,64 mg/g không làm thay đổi khả năng vận động của ruồi qua các ngày tuổi (Hình 3. A, B, C, ns p>0,05, one-way ANOVA). Mặc dù vậy, resveratrol 0,064mg/g làm giảm vận động của ruồi tại ngày 1 (Hình 3. A, * p<0,05, one-way ANOVA) nhưng không ghi nhận ảnh hưởng vào những ngày sau (Hình 3. B, C, ns p>0,05, one-way ANOVA). Với dòng ruồi knockdown, resveratrol tại các nồng độ thấp (0,064 mg/g) và cao (0,64 mg/g) không có tác động lên khả năng vận động của ruồi (Hình 3. A, B, C, * p<0,05, one-way ANOVA). Từ ngày 5 tới ngày 10, sử dụng resveratrol tại nồng độ 0,32 mg/g cho thấy hiệu quả rõ rệt (Hình 3. B, C, *** p<0,001, ** p<0,01, one-way ANOVA).

Các kết quả trên cho thấy, resveratrol có ảnh hưởng khác nhau lên các dòng ruồi khác nhau. Nhìn chung, tác dụng cải thiện triệu chứng bệnh phụ thuộc vào nồng độ và thời gian sử dụng. Sử dụng resveratrol với nồng độ 0,32 mg/g trong thời gian dài cho thấy hiệu quả tốt nhất. Việc nồng độ 0,32 mg/g không cho tác dụng cải thiện ở ruồi knockdown 1 ngày tuổi

có thể vì ở giai đoạn này, ruồi vừa trải qua giai đoạn nhộng, thoát kén dẫn tới sự thiếu hụt về dinh dưỡng, năng lượng hoặc chưa ổn định về mặt sinh lý. Đây cũng có thể là lý do về sự suy giảm vận động ở ruồi đối chứng sử dụng resveratrol 0,064 mg/g 1 ngày tuổi. Hiện tượng không ghi nhận các cải thiện ở nồng độ 0,64mg/g cho thấy sử dụng resveratrol tại nồng độ cao trong thời gian dài có thể đã ảnh hưởng tới các chức năng khác của tế bào, cơ thể, dẫn tới không nhìn thấy được các tác động tích cực. Điều này, một lần nữa, phù hợp với các nghiên cứu trước đây về tác dụng phụ của resveratrol¹².

KẾT LUẬN

Resveratrol có thể hỗ trợ khôi phục các triệu chứng bệnh Parkinson trên mô hình ruồi giấm knockdown *dUCH* tại tế bào thần kinh sinh dopamine, bao gồm các triệu chứng liên quan tới suy thoái vận động và suy thoái tế bào thần kinh sinh dopamine. Tuy nhiên, hiệu quả này phụ thuộc vào nồng độ sử dụng. Tại nồng độ 0,064 mg/g, resveratrol không có tác dụng cải thiện, có thể vì nồng độ sử dụng quá thấp, không đủ để gây ra các tác dụng đáng kể. Tại nồng độ 0,64 mg/g, resveratrol có thể đã gây các tác dụng lên chức năng sinh lý, hoạt động của các tế bào, dẫn tới không quan sát được các hiệu quả điều trị bệnh. Nồng độ 0,32



mg/g cho tác dụng cải thiện trên cả kiểu hình tế bào và kiểu hình vận động ở giai đoạn ấu trùng bậc ba và ruồi trưởng thành. Tuy nhiên ở giai đoạn ruồi trưởng thành cần sử dụng với thời gian dài để có thể nhìn thấy hiệu quả. Ngoài ra, resveratrol tại các nồng độ trên không có tác động đáng kể đến hoạt động của ruồi đối chứng. Kết quả trên cung cấp những bằng chứng khoa học trong việc phát triển resveratrol thành thực phẩm chức năng hoặc thuốc hỗ trợ điều trị Parkinson.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này tài trợ bởi Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM trong khuôn khổ đề tài mã số T2020-11

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

dUCH: Drosophila Ubiquitin carboxyl hydrolase
 ns: not significant (không có ý nghĩa thống kê)
UCH-L1: Ubiquitin carboxyl hydrolase-L1

DM: dorsal medial (mặt giữa)
 DL: dorsal lateral (mặt sau)

XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Các tác giả cam đoan rằng họ không có xung đột lợi ích

ĐÓNG GÓP CỦA CÁC TÁC GIẢ

Nghiên cứu này được thiết kế bởi tác giả Đặng Thị Phương Thảo.

Tác giả Đào Mỹ Linh, Phan Văn Tươi, Huỳnh Mẫn Anh tham gia thu thập số liệu thí nghiệm và xử lý kết quả.

Tác giả Đặng Thị Phương Thảo và Đào Mỹ Linh tham gia viết bản thảo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ball N, Teo WP, Chandra S, Chapman J. Parkinson's disease and the environment. *Frontiers in neurology*. 2019;10:218. PMID: 30941085. Available from: <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00218>.

2. Dickson DW, Braak H, Duda JE, Duyckaerts C, Gasser T, Halliday GM, et al. Neuropathological assessment of Parkinson's disease: refining the diagnostic criteria. *The Lancet Neurology*. 2009;8(12):1150-7; Available from: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70238-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70238-8).
3. Moore DJ, West AB, Dawson VL, Dawson TM. Molecular pathophysiology of Parkinson's disease. *Annu Rev Neurosci*. 2005;28:57-87; PMID: 16022590. Available from: <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.28.061604.135718>.
4. Connolly BS, Lang AE. Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review. *Jama*. 2014;311(16):1670-83; PMID: 24756517. Available from: <https://doi.org/10.1001/jama.2014.3654>.
5. Corona JC. Natural compounds for the management of Parkinson's disease and attention-deficit/hyperactivity disorder. *BioMed research international*. 2018;2018; PMID: 30596091. Available from: <https://doi.org/10.1155/2018/4067597>.
6. De Lazzari F, Sandrelli F, Whitworth AJ, Bisaglia M. Antioxidant Therapy in Parkinson's Disease: Insights from *Drosophila melanogaster*. *Antioxidants*. 2020;9(1):52; PMID: 31936094. Available from: <https://doi.org/10.3390/antiox9010052>.
7. Lastra CA, Villegas I. Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. *Portland Press Ltd.*; 2007; PMID: 17956300. Available from: <https://doi.org/10.1042/BST0351156>.
8. Salehi B, Mishra AP, Nigam M, Sener B, Kilic M, Sharifi-Rad M, et al. Resveratrol: A double-edged sword in health benefits. *Biomedicines*. 2018;6(3):91; PMID: 30205595. Available from: <https://doi.org/10.3390/biomedicines6030091>.
9. Palle S, Neerati P. Improved neuroprotective effect of resveratrol nanoparticles as evinced by abrogation of rotenone-induced behavioral deficits and oxidative and mitochondrial dysfunctions in rat model of Parkinson's disease. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 2018;391(4):445-53; PMID: 29411055. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00210-018-1474-8>.
10. Lindner GDR, Bonfanti SD, Colle D, Gasnhar MEL, Daniel PR, Farina M, et al. Improved neuroprotective effects of resveratrol-loaded polysorbate 80-coated poly (lactide) nanoparticles in MPTP-induced Parkinsonism. *Nanomedicine*. 2015;10(7):1127-38; PMID: 25929569. Available from: <https://doi.org/10.2217/nmm.14.165>.
11. Andrade S, Ramalho MJ, Pereira MdC, Loureiro JA. Resveratrol brain delivery for neurological disorders prevention and treatment. *Frontiers in pharmacology*. 2018;9:1261; PMID: 30524273. Available from: <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01261>.
12. Szende B, Tyihak E, Kiraly-Veghely Z. Dose-dependent effect of resveratrol on proliferation and apoptosis in endothelial and tumor cell cultures. *Experimental & molecular medicine*. 2000;32(2):88-92; PMID: 10926121. Available from: <https://doi.org/10.1038/emmm.2000.16>.
13. Brown VA, Patel KR, Viskaduraki M, Crowell JA, Perloff M, Booth TD, et al. Repeat dose study of the cancer chemopreventive agent resveratrol in healthy volunteers: safety, pharmacokinetics, and effect on the insulin-like growth factor axis. *Cancer research*. 2010;70(22):9003-11; PMID: 20935227. Available from: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-2364>.
14. Suong DNA, Hiep TH, Thanh NT, Thao DTP. Knock-down gene Ubiquitin Carboxy-Terminal Hydrolase (duch) resulted in reducing tyrosine hydroxylase in dopaminergic cells and inducing apoptosis in *Drosophila melanogaster*. *Tap chi sinh hoc*. 2015;37(1se):267-73; Available from: <https://doi.org/10.15625/0866-7160/v37n1se.6121>.
15. Tran HH, Dang SN, Nguyen TT, Huynh AM, Dao LM, Kamei K, et al. *Drosophila* ubiquitin C-terminal hydrolase knockdown model of Parkinson's disease. *Scientific reports*. 2018;8(1):1-14; PMID: 29535397. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22804-w>.
16. Anh MH, Linh DM, Dung MV, Thao DTP. Evaluating dose- and time-dependent effects of vitamin C treatment on a Parkinson's disease fly model. *Parkinson's Disease*. 2019;2019; PMID: 30719278. Available from: <https://doi.org/10.1155/2019/9720546>.
17. Nguyen TT, Vuu MD, Huynh MA, Yamaguchi M, Tran LT, Dang TPT. Curcumin effectively rescued Parkinson's disease-like phenotypes in a novel *Drosophila melanogaster* model with dUCH knockdown. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2018;2018; PMID: 30057672. Available from: <https://doi.org/10.1155/2018/2038267>.
18. Truong HKT, Huynh MA, Vuu MD, Dang TPT. Evaluating the potential of *Portulaca oleracea* L. for Parkinson's disease treatment using a *Drosophila* model with dUCH-knockdown. *Parkinson's Disease*. 2019;2019; PMID: 31143437. Available from: <https://doi.org/10.1155/2019/1818259>.
19. Duffy JB. GAL4 system in *Drosophila*: a fly geneticist's Swiss army knife. *genesis*. 2002;34(1-2):1-15; PMID: 12324939. Available from: <https://doi.org/10.1002/gene.10150>.
20. Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron*. 2003;39(6):889-909; Available from: [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00568-3](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00568-3).
21. Nichols CD, Becnel J, Pandey UB. Methods to assay *Drosophila* behavior. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*. 2012(61):e3795; PMID: 22433384. Available from: <https://doi.org/10.3791/3795>.

Evaluate the efficiency of resveratrol for treating Parkinson disease on *Drosophila melanogaster* model

Dang Thi Phuong Thao^{1,2,*}, Linh My Dao^{1,2}, Tuoi Van Phan^{1,2}, Anh Man Huynh^{1,2}



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

ABSTRACT

Parkinson's is the second most common neurodegenerative disease in the world (after Alzheimer's), characterized by the degeneration of dopaminergic neurons and mobility impairment, which consequently severely reduces patient life quality. Up to now, Parkinson's Disease cannot be completely cured. Base on the relationship between oxidative stress and the formation, the progression of Parkinson's Disease, antioxidant compounds have been studied as potential candidates in rescue or retard disease progression. Resveratrol is a strong antioxidant, anti-inflammatory, anti-apoptosis compound that exists in many fruits, especially grapes, strawberries..., and has activity depends on the used concentration. In this study, we evaluated the potential of resveratrol for treating Parkinson's Disease at concentrations of 0.064 mg/g, 0.32 mg/g, 0.64 mg/g by utilizing the knockdown *dUCH* (*Drosophila ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase*) *Drosophila melanogaster* model. This model can mimic the typical symptoms of Parkinson's Disease and has been proved for the efficiency in screening drugs to treat the disease. Our results showed that the use of resveratrol at a concentration of 0.32 mg/g was effective in preventing the degeneration of dopaminergic neurons and improving mobility in *dUCH* knockdown flies. These results provided scientific evidence for the development of functional products or drugs to support Parkinson's Disease treatment.

Key words: Parkinson, Ubiquitin proteasome system, resveratrol, UCH-L1, dopaminergic neuron

¹University of Science, Vietnam National University, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Vietnam National University, Ho Chi Minh City, Vietnam

Correspondence

Dang Thi Phuong Thao, University of Science, Vietnam National University, Ho Chi Minh City, Vietnam

Vietnam National University, Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: thaodp@hcmus.edu.vn

History

- Received: 15-3-2021
- Accepted: 11-5-2021
- Published: 18-5-2021

DOI : 10.32508/stdjns.v5i3.1039



Copyright

© VNU-HCM Press. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



Cite this article : Thao D T P, Dao L M, Phan T V, Huynh A M. Evaluate the efficiency of resveratrol for treating Parkinson disease on *Drosophila melanogaster* model. *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 5(3):1295-1302.