

DOI:10.22144/ctu.jsi.2020.111

## ẢNH HƯỞNG CỦA CAO CHIẾT LÁ XOÀI NON (*Mangifera indica* L.) ĐẾN HOẠT ĐỘNG ENZYME GLUCOSE-6-PHOSPHATASE VÀ GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE

Nguyễn Thị Ái Lan và Đái Thị Xuân Trang\*

Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Đái Thị Xuân Trang (email: dtxtrang@ctu.edu.vn)

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 04/03/2020

Ngày nhận bài sửa: 23/03/2020

Ngày duyệt đăng: 29/06/2020

### Title:

Effect of mango (*Mangifera indica* L.) leaf extract in enzyme activities of glucose-6-phosphatase and glucose-6-phosphate dehydrogenase

### Từ khóa:

Alloxan monohydrate, glucose-6-phosphatase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, *Mangifera indica*, xoài

### Keywords:

Alloxan monohydrate, glucose-6-phosphatase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, *Mangifera indica*

### ABSTRACT

A previous study proved that leaf extract of mango (*Mangifera indica* L.) has the anti-hyperglycemia, anti-dyslipidemia, and anti-atherogenicity in alloxan-induced diabetic mice. In this study, the abilities of mango leaf extract in regulating glucose-6-phosphatase (G6Pase) and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) were tested. The results showed that the leaf extract of mango at the concentration of 100 and 125  $\mu\text{g/mL}$  were able to inhibit G6Pase and G6PDH activities in vitro, respectively 90% and 80%. In addition, at a dose of 450 mg/kg body weight, the activities of key carbohydrate metabolising enzyme comprising G6Pase and G6PDH in alloxan monohydrate-induced toxic mice were recovered close to the normal levels. Observation of the microscopic cross section of liver tissues revealed that mice treated with mango leaf extract had significantly improvement in liver tissues compared to those of the non-treated control group. The results of this study demonstrated the efficacy of mango leaf extract in regulating enzyme activities on carbohydrate metabolism. Therefore, mango leaves can be a promising candidate for hypoglycemic drug in the future.

### TÓM TẮT

Cao chiết lá xoài (*Mangifera indica* L.) đã được chứng minh có khả năng hạ glucose huyết, điều hòa lipid huyết và chống huyết khối trên chuột bệnh đái tháo đường (ĐTĐ). Trong nghiên cứu này, cao chiết lá xoài tiếp tục được đánh giá khả năng ảnh hưởng đến các enzyme là nguyên nhân gây nên tình trạng tăng glucose huyết hoặc stress oxy hóa. Hai enzyme được đề cập trong nghiên cứu là glucose-6-phosphatase (G6Pase) và glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH). Kết quả cho thấy, cao chiết lá xoài non (LXN) có khả năng ức chế hoạt động của enzyme G6Pase và G6PDH in vitro đạt lần lượt 90% và 80% ở nồng độ cao chiết là 100 và 125  $\mu\text{g/mL}$ . Kết quả nghiên cứu in vivo trên mô hình chuột gây độc bằng alloxan monohydrate (AM), cao chiết LXN có khả năng điều hòa hoạt động của hai enzyme này trở về xu hướng bình thường ở nồng độ cao chiết LXN là 450 mg/kg khối lượng chuột. Cao chiết LXN cũng được chứng minh có khả năng phục hồi cấu trúc mô bệnh học của chuột bị gây độc bởi AM trở về trạng thái bình thường. Vì vậy, LXN là nguồn nguyên liệu tiềm năng ức chế enzyme chuyển hóa glucose và trở thành dược liệu điều trị bệnh ĐTĐ và các biến chứng của bệnh ĐTĐ.

Trích dẫn: Nguyễn Thị Ái Lan và Đái Thị Xuân Trang, 2020. Ảnh hưởng của cao chiết lá xoài non (*Mangifera indica* L.) đến hoạt động enzyme glucose-6-phosphatase và glucose-6-phosphate dehydrogenase. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(Số chuyên đề: Khoa học tự nhiên)(2): 48-56.

## 1 GIỚI THIỆU

Alloxan monohydrate (AM) là hóa chất được sử dụng để gây ĐTĐ trong các nghiên cứu thực nghiệm trên động vật, khoảng 30% các nghiên cứu về bệnh ĐTĐ trên động vật sử dụng mô hình gây bệnh bằng alloxan (Ighodaro *et al.*, 2017). Khi chuột bị gây độc bởi AM thường có sự hoạt động không bình thường của các enzyme chuyển hóa glucose, một trong những enzyme chìa khóa liên quan đến sự chuyển hóa glucose là glucose-6-phosphatase (G6Pase). Nhiều nghiên cứu chứng minh rằng khi chuột bị gây độc bởi AM thì hoạt động của enzyme G6Pase tăng ở gan (Ramu *et al.*, 2016a; Negres *et al.*, 2016).

Mặt khác, alloxan có thể tạo ra các gốc oxy hoạt động (reactive oxygen species, ROS) như các superoxide ( $O_2^{\bullet-}$ ) và gốc hydroxyl ( $\bullet OH$ ) thông qua sự tự oxy hóa sản phẩm của phản ứng khử alloxan thành dialuric acid (Munday, 1988). Sự gia tăng ROS là nguyên nhân tăng tình trạng stress oxy hóa ở chuột gây bệnh ĐTĐ bởi alloxan, gây nên sự tổn thương tế bào và cơ quan, dẫn đến biến chứng của bệnh ĐTĐ (Ceriello, 2010). Enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH), là enzyme chìa khóa của lộ trình pentose phosphate, xúc tác sự biến đổi glucose-6-phosphate (G6P) thành 6-phosphogluconolactone và tạo thành NADPH từ  $NADP^+$ . Con đường pentose phosphate là quá trình chính cung cấp NADPH để sử dụng như cofactor của enzyme glutathione reductase. Glutathione reductase xúc tác sự biến đổi glutathione dạng oxy hóa (GSSG) thành glutathione dạng khử (GSH) được xem là chất chống oxy hóa nội sinh của cơ thể (Lenzen, 2008). Hoạt động của G6PDH được chứng minh giảm ở gan chuột được gây bệnh ĐTĐ bằng AM (Ramu *et al.*, 2016b), hoặc ở tụy (Sushko *et al.*, 2018) là nguyên nhân dẫn đến stress oxy hóa, gây nên các biến chứng của bệnh.

Xoài (*Mangifera indica* L.) là cây ăn quả được trồng nhiều vùng ở Việt Nam. Cao chiết lá và vỏ thân cây xoài có khả năng chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng nấm, chống co thắt, điều hòa miễn dịch, kháng viêm, bảo vệ gan, kháng hoạt động của ký sinh trùng và điều trị bệnh ĐTĐ (Garrido *et al.*, 2001; Rodeiro *et al.*, 2007; Shah *et al.*, 2010). Trong nghiên cứu trước, cao chiết lá xoài đã được chứng minh hoàn toàn không gây độc trên chuột ở liều 5000 mg/kg khối lượng chuột; cao chiết lá xoài cũng có khả năng hạ glucose huyết, điều hòa lipid huyết và chống huyết khối trên chuột được gây bệnh ĐTĐ bằng alloxan monohydrate (Nguyễn Thị Ái Lan và Đái Thị Xuân Trang, 2018). Để làm sáng tỏ hơn ảnh hưởng của cao chiết lá xoài non (LXN) trên các khía

khác liên quan đến bệnh ĐTĐ. Trong nghiên cứu này, cao chiết lá xoài non được chứng minh có khả năng giảm hoạt động của enzyme G6Pase và G6PDH in vitro. Cao chiết LXN cũng có khả năng ức chế hoạt động của enzyme G6Pase, hoạt hóa hoạt động của enzyme G6PDH in vivo trên chuột được gây độc bằng AM.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Phương tiện

Lá xoài non giống Cát Hòa Lộc được thu hái ở huyện Cầu Kè, tỉnh Trà Vinh vào lúc 7 đến 9 giờ ở những vườn không phun thuốc hóa học. Lá được thu có vị trí từ số 1 đến 15 của đỉnh sinh trưởng cành. Theo Ramirez *et al.*, 2016, lá xoài non được miêu tả có màu nâu đỏ và xanh nhạt; những lá có màu xanh đậm hơn được xem là lá già (Ramirez *et al.*, 2016).

Chuột nhắt trắng (*Mus musculus* L.) đực, khỏe mạnh, sạch bệnh được cung cấp bởi viện Pasteur, Thành phố Hồ Chí Minh. Chuột thí nghiệm được nuôi trong điều kiện chiếu sáng 12 giờ sáng/ 12 giờ tối và cho ăn lúc 8 giờ và 17 giờ hàng ngày.

Thiết bị: máy ly tâm lạnh (Mikro 12-24, Hettich, Đức), cân phân tích (AB104-S, Mettler Toledo, Thụy Sĩ), tủ sấy (BE 200, Memmert, Đức), bể ủ (Memmert, Đức), máy vortex (ZX3, Velp, Ý), micropipette 100  $\mu L$ , 500  $\mu L$ , 1000  $\mu L$  (Thermo Lab systems), máy đo quang phổ (Thermo Scientific Multiskan GO, Phần Lan), máy cô quay chân không (Heidolph, Đức), chuồng nuôi chuột và các dụng cụ cho uống.

Hóa chất: Alloxan monohydrate (Sigma-Aldrich), glucose-6-phosphatase (Japan), glucose-6-phosphate dehydrogenase (Japan), glucose-6-phosphate (Japan), Glucophage 500 mg, ethanol (Chemsol), Sucrose (China), Ethylenediaminetetraacetic acid (Merck), Trichloroacetic acid (Merck), ammonium molybdate (Merck), sodium citrate (Merck) và một số hóa chất khác.

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 *Khảo sát ảnh hưởng của cao chiết lá xoài non đến hoạt động của enzyme glucose-6-phosphatase và enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase in vitro*

a. *Khảo sát hoạt động của enzyme glucose-6-phosphatase in vitro*

Hoạt động của enzyme G6Pase được thực hiện theo quy trình của Punitha *et al.* (2005) có hiệu chỉnh để phù hợp với điều kiện thực tế phòng thí

nghiệm. Hỗn hợp phản ứng gồm 100  $\mu\text{L}$  dung dịch sucrose/EDTA (0,1 M; pH 6,5) và 200  $\mu\text{L}$  glucose-6-phosphate (G6P) 0,1 M được pha trong 100  $\mu\text{L}$  dung dịch đệm citrate 0,1 M pH 6,5. Sau đó hỗn hợp phản ứng được thêm vào 100  $\mu\text{L}$  enzyme G6Pase (75 U/L). Hỗn hợp phản ứng được lắc mạnh sau đó đem ủ ở 37°C trong 30 phút. Phản ứng được kết thúc bằng 1  $\mu\text{L}$  TCA/ascorbate (10%/2%, w/v) và tiếp tục được ly tâm với tốc độ 3000 vòng/phút trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. Tiếp theo, lấy 500  $\mu\text{L}$  vừa ly tâm được cho vào eppendorf 2 mL có sẵn 250  $\mu\text{L}$  ammonium molybdate (1%,w/v). Cuối cùng, hoạt động của enzyme G6Pase được khảo sát gián tiếp thông qua lượng phosphate vô cơ được tạo ra do sự chuyển hóa G6P thành glucose và phosphate vô cơ. Nồng độ phosphate vô cơ tạo ra trong gan chuột thí nghiệm được tính toán dựa trên đường chuẩn nồng độ phosphate vô cơ.

*b. Khảo sát hoạt động của enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) in vitro*

Hoạt động của enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase được thực hiện theo quy trình của Govindappa *et al.* (2015) và Negres *et al.* (2016). Hỗn hợp phản ứng gồm 0,2 mL enzyme G6PDH (200 mU/mL) cho vào 0,6 mL nước khử khoáng và 0,4 mL dung dịch đệm Tris buffer pH 7,5 (0,5 mol/L) có chứa NADP<sup>+</sup> (3,8 mmol/L), MgCl<sub>2</sub> (0,63 mol/L) và glucose-6-phosphate (33 mol/L). Kết thúc phản ứng, hỗn hợp được đo ở bước sóng  $\lambda = 340 \text{ nm}$ . Hoạt động của enzyme G6PDH được tính dựa theo hàm lượng NADPH được tạo ra dựa vào phương trình đường chuẩn NADPH.

*2.2.2 Gây tổn thương chuột nhắt trắng bằng alloxan monohydrate (AM)*

Chuột nhắt trắng thí nghiệm được chia thành 5 nhóm, mỗi nhóm gồm 6 con đực khỏe mạnh, khoảng 8 tuần tuổi, được cung cấp bởi viện Pasteur thành phố Hồ Chí Minh. Thời gian thí nghiệm được tiến hành cùng lúc, kéo dài 28 ngày, trong cùng điều kiện chăm sóc. Chuột được cho uống thuốc bằng kim đầu tù, qua đường uống với thể tích 0,2 mL. Các nhóm thí nghiệm được bố trí gồm: nhóm đối chứng sinh lý (chuột bình thường uống nước cất), nhóm đối chứng bệnh lý (chuột tổn thương bởi AM không điều trị), chuột tổn thương bởi AM uống thuốc biệt dược glucophage (850 mg) liều 170 mg/kg khối lượng/lần  $\times$  2 lần/ ngày, chuột tiêm AM uống cao chiết LXN liều 150 mg/kg/ lần  $\times$  2 lần/ ngày, chuột tiêm AM uống cao chiết LXN liều 450 mg/kg/ lần  $\times$  2 lần/ ngày. Thời gian chuột bị tổn thương AM được điều trị bằng glucophage hoặc cao chiết LXN là 28 ngày.

Chuột nhắt trắng bị nhịn đói trong 12 giờ. Sau đó, tiến hành tiêm alloxan monohydrate (AM) vào phúc mạc mỗi ngày một lần trong 3 ngày để gây tổn thương chuột. Nồng độ AM được pha riêng trong dung dịch nước muối sinh lý 0,9% cho từng đối tượng thí nghiệm với nồng độ 135 mg/kg khối lượng. Sau 7 ngày ủ bệnh, chuột thí nghiệm được kiểm tra glucose huyết lúc đói. Chỉ số glucose huyết đạt chỉ tiêu khoảng  $\geq 200 \text{ mg/dL}$  (Zhao *et al.*, 2013) được xem như AM có hiệu quả gây tổn thương trên chuột.

Sau 28 ngày thí nghiệm, chuột được giải phẫu lấy gan. Gan được làm sạch và giữ lạnh trong dung dịch nước muối sinh lý 0,9% (1 g/3 mL) trong suốt thời gian thực hiện thí nghiệm. Gan được nghiền trong dung dịch buffer phosphate (pH 7,4) và được ly tâm trong 20 phút với tốc độ 12000 vòng/ phút ở 4°C. Phần dịch nổi thu được sau ly tâm được sử dụng cho các thí nghiệm khảo sát hoạt động của enzyme G6Pase và G6PDH (Negres *et al.*, 2016).

*2.2.3 Khảo sát hoạt động của enzyme glucose-6-phosphatase và glucose-6-phosphate dehydrogenase ly trích từ gan chuột thí nghiệm*

Chuột nhắt trắng sau khi kết thúc thí nghiệm được giải phẫu lấy gan. Sau đó, gan (500 mg) được nghiền trong 1 mL dung dịch đệm sucrose lạnh 0,25 M pH 6,5. Chất đồng nhất được đem ly tâm ở 4°C với tốc độ 3000 vòng/phút trong 10 phút. Phần dịch nổi được sử dụng để khảo sát hoạt động của các enzyme G6Pase và hoạt động của enzyme G6PDH.

Hoạt động của enzyme G6Pase và G6PDH được thực hiện như thí nghiệm *in vitro* ở trên (mục 2.2.1.1 và 2.2.1.2) nhưng enzyme G6Pase và G6PDH được thay bằng dịch đồng thể gan của các nhóm chuột thí nghiệm.

*2.2.4 Phương pháp thực hiện tiêu bản mô bệnh học của gan chuột*

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

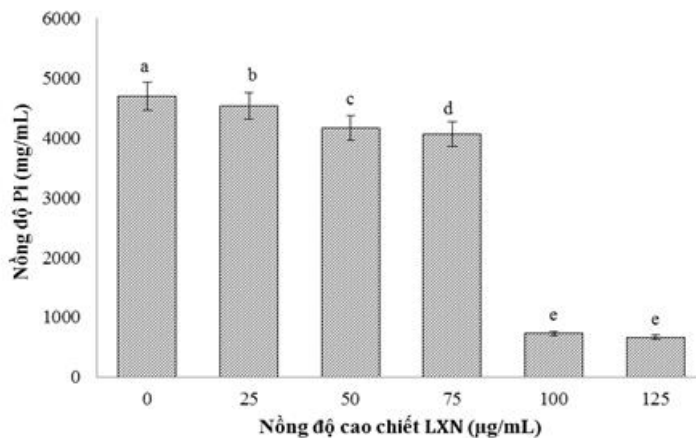
**3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1 Khả năng ức chế hoạt động enzyme glucose-6-phosphatase *in vitro* của lá xoài non**

Hoạt động của enzyme G6Pase được khảo sát gián tiếp thông qua lượng phosphate vô cơ tạo ra sau

phản ứng. Kết quả khảo sát khả năng ức chế hoạt động enzyme G6Pase của cao chiết LXN được tính toán dựa vào đường chuẩn phosphate vô cơ  $y = 0.00003 - 0.5x + 0.019$  ( $R^2 = 0.9601$ ). Kết quả trình bày ở Hình 1. Kết quả cho thấy, LXN có khả năng ức chế hoạt động của G6Pase tăng tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết và khác biệt có ý nghĩa thống kê ở các nồng độ khảo sát ( $p < 0,05$ ). Ở nồng độ cao chiết là 100  $\mu\text{g/mL}$  LXN có khả năng ức chế hơn 90% lượng enzyme G6Pase. Trong sự phân giải glycogen thành glucose trong cơ thể, enzyme G6Pase là enzyme cuối cùng của lộ trình, trực tiếp

biến đổi glucose-6-phosphate thành glucose và đưa vào máu. Ở người bình thường, G6Pase hoạt động để ổn định glucose huyết khi ở trạng thái đói. Ở người bệnh ĐTĐ, G6Pase hoạt động quá mức để tạo glucose đưa vào máu cung cấp cho các mô ngoại vi như cơ, não. Nhưng các mô cơ, não không thu nhận được glucose do thiếu insulin hoặc kháng insulin là nguyên nhân làm cho glucose huyết ngày càng tăng cao. Nên ức chế hoạt động của G6Pase là một trong những đích tác động trong điều trị bệnh ĐTĐ đang được các nhà khoa học quan tâm (Negres *et al.*, 2016, Ramu *et al.*, 2016a)



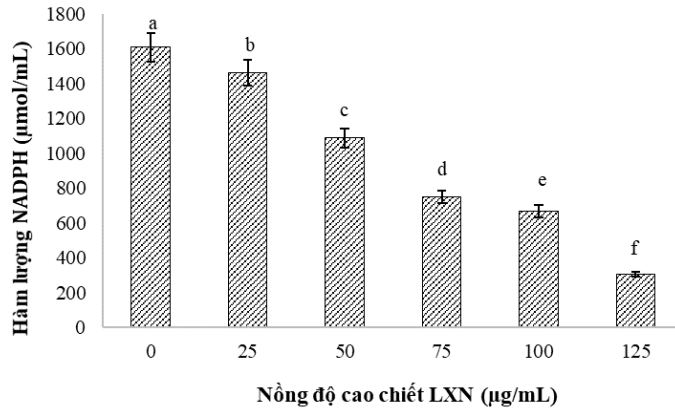
**Hình 1: Hiệu quả ức chế hoạt động enzyme glucose-6-phosphatase của cao chiết lá xoài non in vitro**

Ghi chú: Các giá trị có mẫu tự trong đồ thị khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

### 3.2 Khả năng ức chế hoạt động enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase *in vitro* của cao chiết lá xoài non

Hoạt động của enzyme G6PDH được khảo sát gián tiếp thông qua lượng NADPH sau phản ứng. Kết quả khảo sát khả năng ức chế hoạt động enzyme G6PDH của cao chiết LXN được tính toán dựa vào đường chuẩn NADPH  $y = 0,0021x + 0,0196$  ( $R^2 = 0.9935$ ). Kết quả trình bày ở Hình 2 cho thấy, LXN có khả năng ức chế hoạt động của enzyme G6PDH tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết và khác biệt có ý nghĩa thống kê ở tất cả các nồng độ khảo sát ( $p < 0,05$ ). Ở nồng độ 25  $\mu\text{g/mL}$  cao chiết LXN chưa ức chế được hoạt động của enzyme G6PDH. Ở nồng độ 125  $\mu\text{g/mL}$  cao chiết, khoảng 80% enzyme G6PDH bị ức chế. Enzyme G6PDH là enzyme đầu tiên xác định tỷ lệ của lộ trình pentose phosphate, xúc tác sự biến đổi glucose thành 6-phosphogluconolactone và tạo thành NADPH. NADPH là chất khử sinh học quan trọng cho nhiều quá trình sinh tổng hợp acid béo, cholesterol và glutathione dạng khử (GSH) (Salati *et al.*, 2001). Dehydroepiandrosterone là chất ức chế G6PDH

chuyên biệt ở động vật hữu nhũ được chứng minh có khả năng làm giảm khối lượng cơ thể ở chuột (Yen *et al.*, 1997). Nên chất ức chế enzyme G6PDH được xem như liệu pháp trong điều trị bệnh béo phì. Mặt khác, G6PDH còn là enzyme quan trọng liên quan mật thiết với bệnh lý ung thư. Nhiều dòng tế bào ung thư được chứng minh có sự gia tăng G6PDH một cách bất thường (Hughes, 1976; Dutu *et al.*, 1980; Zampella *et al.*, 1982; Dessi *et al.*, 1988) để cung cấp lượng lớn năng lượng và nucleotide cho sự tăng trưởng nhanh của các dòng tế bào ung thư này. Kuo *et al.*, (2000) chứng minh chuột biểu hiện quá mức enzyme G6PDH sẽ bị ung thư. Ngược lại, khi các dòng tế bào ung thư bị knock down G6PDH thường tăng trưởng chậm và chết theo chương trình (apoptosis) (Li *et al.*, 2009). Chất ức chế G6PDH hứa hẹn tiềm năng ứng dụng trong kiểm soát béo phì và dẫn đến các bệnh rối loạn chuyển hóa, cũng như trong hỗ trợ điều trị ung thư. Trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, LXN có chứa các hợp chất tiềm năng có thể ứng dụng hỗ trợ trong điều trị các bệnh với đích tác động là ức chế hoạt động của G6PDH.



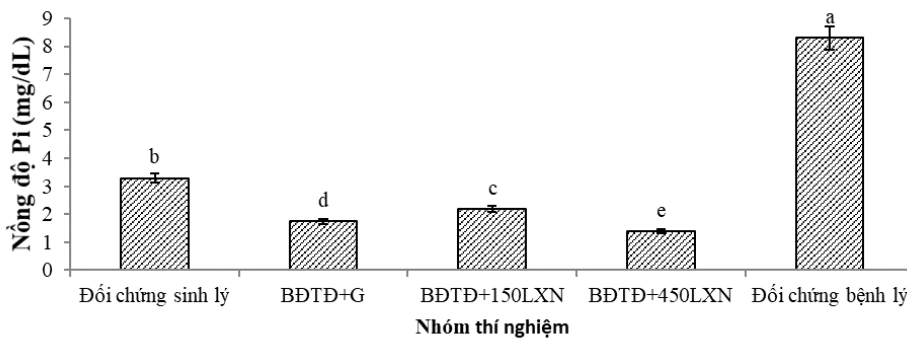
**Hình 2: Hiệu quả ức chế hoạt động enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase của cao chiết lá xoài non in vitro**

Ghi chú: Các giá trị có mẫu tự trong đồ thị khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

### 3.3 Ảnh hưởng của cao chiết lá xoài non đến enzyme glucose-6-phosphatase ở gan chuột bị gây độc bởi alloxan monohydrate

Sau khi chuột được tiêm AM 7 ngày, tiến hành đo glucose huyết trung bình  $588,1 \pm 26,8$  mg/dL (kết quả chi tiết về glucose huyết của các nhóm thí nghiệm không trình bày ở đây) được chọn đưa vào các nhóm thí nghiệm. Sau 28 ngày chuột được cho uống cao chiết LXN, kết quả về hoạt động của enzyme G6Pase được trình bày trong Hình 3. Kết quả cho thấy, hoạt động của G6Pase ở nhóm chuột tiêm AM (đối chứng bệnh lý) tăng một cách khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với nhóm chuột bình thường (đối chứng sinh lý). Khi chuột bị gây độc bởi AM được uống thuốc thương mại glucophage (liều 170 mg/kg), LXN liều 150 và 450

mg/kg hoạt động của G6Pase giảm khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với nhóm đối chứng bệnh lý. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với nhiều nghiên cứu trước (Zhao *et al.*, 2011; Negres *et al.*, 2016; Ramu *et al.*, 2016a). AM là hóa chất gây tăng glucose huyết theo cơ chế tạo ra các ROS, sự gia tăng các ROS như hydroxyl dẫn đến sự peroxide hóa hệ thống sinh học (Kumthekar and Katyare, 1992). Tế bào  $\beta$  của tụy tạng là nơi có hệ thống chống oxy hóa yếu nhất, nên các tế bào này bị tổn thương oxy hóa nhiều nhất. Sự tổn thương tế bào  $\beta$  là dẫn đến sự thiếu hụt insulin là nguyên nhân chính của sự tăng glucose huyết. Khi cơ thể thiếu hụt insulin dẫn đến hệ lụy là G6Pase được biểu hiện quá mức nên và tích tụ ở gan (Ananda *et al.*, 2012). Kết quả nghiên cứu cho thấy, LXN có khả năng giảm G6Pase theo khuynh hướng trở về bình thường.



**Hình 3: Ảnh hưởng của cao chiết lá xoài non đến hoạt động của enzyme glucose-6-phosphatase ở các nhóm chuột thí nghiệm**

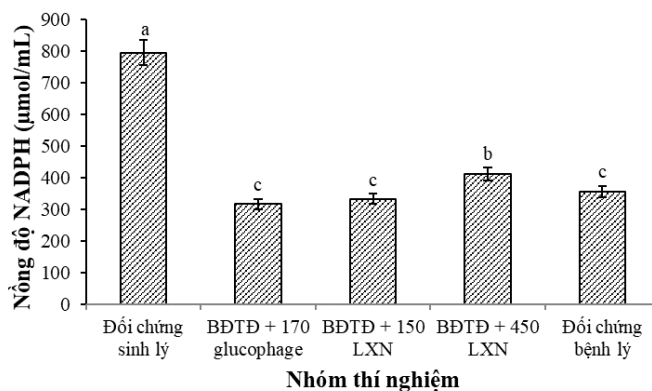
Ghi chú: Các giá trị có mẫu tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Đối chứng sinh lý: chuột nhắt trắng bình thường uống nước cất; Đối chứng bệnh lý: chuột BĐTĐ không được điều trị; AM + Glucophage: chuột BĐTĐ được điều trị bằng 170 mg/kg khối lượng glucophage; AM + LXN+150/LXN+50: chuột BĐTĐ được điều trị bằng 150 hoặc 450 mg/kg khối lượng cao chiết LXN.

### 3.4 Ảnh hưởng của cao chiết lá xoài non đến enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase ở gan chuột bị gây độc bởi alloxan monohydrate

Kết quả về hoạt động của enzyme G6PDH của các nhóm thí nghiệm được trình bày trong Hình 4. Khi chuột bị gây độc bằng AM hoạt động của G6PDH giảm khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm chuột đối chứng sinh lý ( $p < 0,05$ ). Alloxan được protein vận chuyển glucose (GLUT2) vận chuyển đến tế bào  $\beta$  của tụy tạng và tích tụ tại đó gây phá vỡ tế bào dẫn đến sự tăng glucose huyết và stress oxy hóa (Gargouri *et al.*, 2016). G6PDH giảm ở chuột bị gây độc bởi AM có thể được giải thích do sự tăng glucose huyết dẫn đến tình trạng kháng insulin. Sự tăng glucose cũng được chứng minh ức

chế sự hoạt động của enzyme G6PDH (Zhang *et al.*, 2000). Hoạt động của enzyme G6PDH đóng vai trò quan trọng trong quá trình oxy hóa khử (Ham *et al.*, 2016). G6PDH là enzyme chìa khóa để kiểm soát tình trạng stress oxy hóa thông qua sự tạo thành NADPH như một nguồn chất khử nội bào. Sự ức chế hoạt động của enzyme G6PDH, là nguyên nhân giảm NADPH, dẫn đến giảm glutathione dạng khử (GSH) làm tăng tình trạng stress oxy hóa dẫn đến biến chứng của bệnh ĐTĐ. Khi chuột bị gây tổn thương bởi AM được điều trị bởi cao chiết LXN ở nồng độ 450 mg/kg hoạt động của enzyme G6PDH được cải thiện trở về xu hướng bình thường trong khi glucophage và cao chiết LXN liều 150 mg/kg không có hiệu quả điều chỉnh hoạt động của enzyme này.



**Hình 4: Ảnh hưởng của cao chiết lá xoài non đến enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase ở các nhóm chuột thí nghiệm**

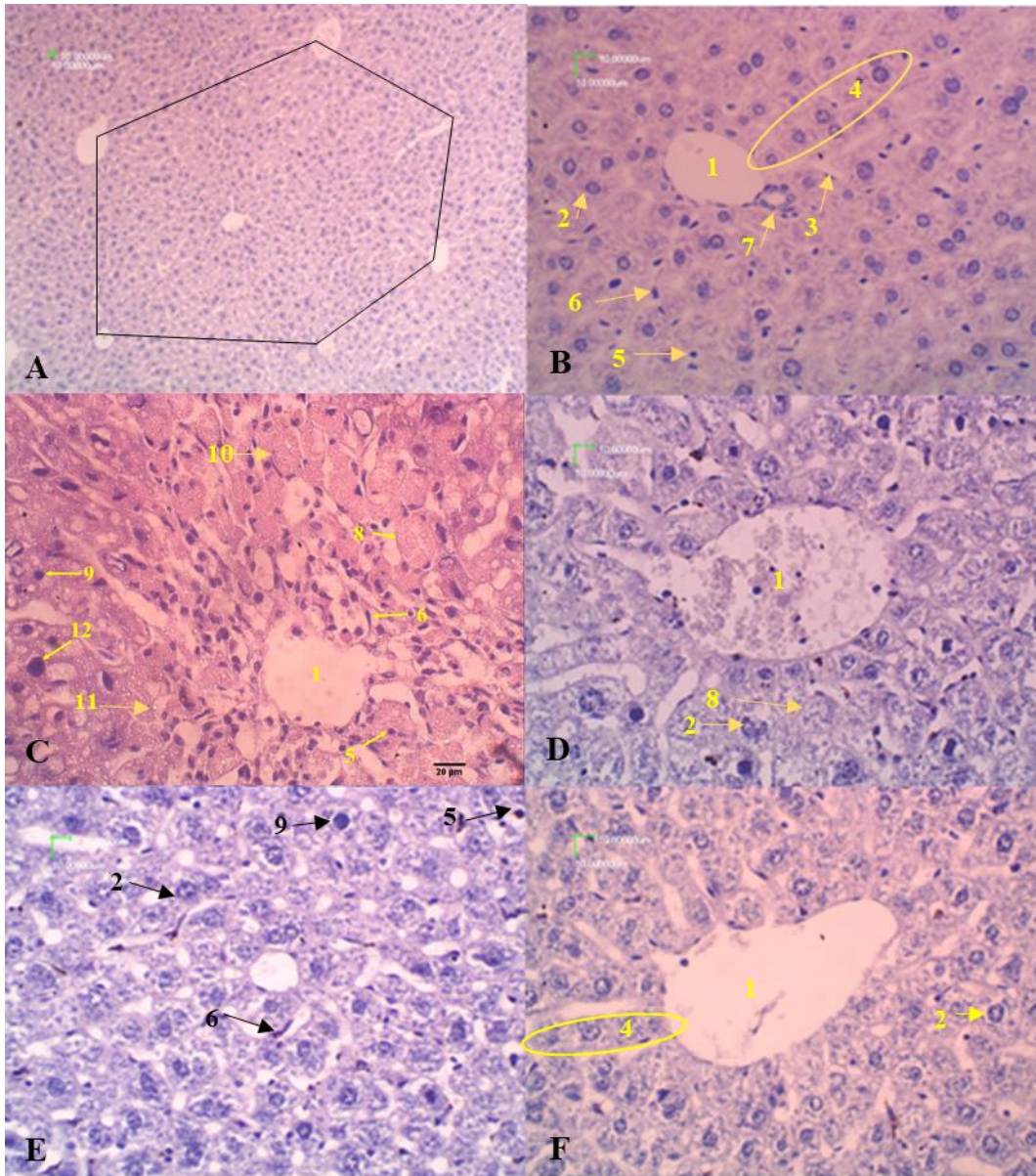
Ghi chú: Các giá trị có mẫu tự theo sau các cột khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Đối chứng sinh lý: chuột nhắt trắng bình thường uống nước cất; Đối chứng bệnh lý: chuột BĐTĐ không được điều trị; AM + Glucophage: chuột BĐTĐ được điều trị bằng 170 mg/kg khối lượng glucophage; AM+ LXN+150/LXN+450: chuột BĐTĐ được điều trị bằng 150 hoặc 450 mg/kg khối lượng cao chiết LXN.

### 3.5 Cao chiết lá xoài non có khả năng phục hồi tổn thương gan ở chuột bị tổn thương bởi alloxan monohydrate

Gan là cơ quan tổng hợp các enzyme chuyển hóa carbohydrate chủ yếu của cơ thể, nên khi gan bị tổn thương là nguyên nhân chính ảnh hưởng đến các quá trình chuyển hóa của cơ thể. Trong nghiên cứu này, chuột bị gây độc bởi AM sẽ dẫn đến sự tăng glucose huyết và tình trạng stress oxy hóa, gây nên sự tổn thương cơ quan trong đó có gan. Nên chúng tôi khảo sát mô bệnh học của gan để đánh giá ảnh hưởng của LXN đến gan. Kết quả quan sát cấu trúc vi thể mô gan cho thấy những thay đổi lớn trong mô học do AM gây ra dẫn đến tăng số lượng tế bào mono, tế bào Kupffer, tế bào nhân đông, tế bào nhân tan, tế bào mất nhân và tế bào gan phồng to tăng. Kích

thước tế bào to bất thường, không xếp thành dãy tế bào. Bên cạnh đó, khi chuột bị tổn thương do AM cho thấy sự tích tụ giọt mỡ ở gan (Hình 5C). Khi so sánh với nhóm chuột bình thường cấu trúc gan với các tế bào tròn đều xếp khít nhau tạo thành các dây hướng tĩnh mạch, nhìn rõ được xoang gan (Hình 5B). Tổn thương gan đã giảm khi sử dụng cao chiết LXN (150 và 450 mg/kg) và glucophage 170 mg/kg (Hình 5D, 5E và 5F), số lượng các đại thực bào cũng như những tế bào bất thường giảm đáng kể so với nhóm chuột bị tổn thương bởi AM. Trong đó, chuột được sử dụng cao chiết LXN ở liều 450 mg/kg cho thấy sự xuất hiện trở lại của các tế bào bình thường xếp thành dây hướng tĩnh mạch trung tâm. Kết quả mô học chứng minh rằng việc sử dụng LXN đã có những tác động tích cực đối với gan ở những con chuột bị tổn thương do AM gây ra.



**Hình 5: Sự thay đổi cấu trúc vi thể mô gan chuột ở các nghiệm thức được khảo sát**

Ghi chú: A-Tiểu thùy cổ điển ở gan chuột bình thường ( $\times 100$ ); B-Cấu trúc mô gan của chuột bình thường ( $\times 400$ ); C-Cấu trúc mô gan chuột bị tổn thương bởi AM ( $\times 400$ ); D-Cấu trúc mô gan chuột được điều trị bởi Glucophage liều 170 mg/kg ( $\times 400$ ); E-Cấu trúc mô gan chuột được điều trị bởi LXN liều 150 mg/kg ( $\times 400$ ); F-Cấu trúc mô gan chuột được điều trị bởi LXN liều 450 mg/kg có độ phóng đại 400 ( $\times 400$ ).

1: Tĩnh mạch, 2: Tế bào gan bình thường, 3: Xoang gan, 4: Dây tế bào gan, 5: Tế bào mono, 6: Tế bào Kupffer, 7: Ống mật, 8: Tế bào nhân tan, 9: Tế bào nhân đông, 10: Tế bào mất nhân, 11: Giọt mỡ, 12: Tế bào gan phồng to.

#### 4 THẢO LUẬN

Cây xoài được xem là một loại dược liệu quan trọng vì chứa hàm lượng lớn hợp chất hóa học có hoạt tính sinh học như: polyphenol, terpene, polyalcohol, acid béo, đường, lignin... (Rodeiro et

al., 2007). Năm 2009, dịch chiết từ lá xoài đã được nghiên cứu trên mô hình bệnh ĐTĐ type 1 và type 2. Nghiên cứu đã khẳng định dịch chiết LXN có khả năng gây hạ glucose huyết trên chuột bệnh ĐTĐ type 2, điều hòa lipid huyết và không gây ảnh hưởng đến chuột bình thường (Nguyễn Thị Ai Lan và Đái

Thị Xuân Trang, 2018). Thành phần hóa học của lá xoài gồm: saponin, glucoside, sterol không bão hòa, polyphenol, euxanthin acid, mangiferin, mangin và galic tannin. Trong đó, mangiferin là một xanthonoid có nhiều tác dụng sinh học đang được quan tâm như: hoạt tính kháng viêm, chống dị ứng, chống oxy hóa, có khả năng kiểm soát và làm giảm cholesterol trong máu (Gururaja *et al.*, 2014). Hàm lượng mangiferin trong lá xoài non được chứng minh nhiều khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lá xoài già ( $p < 0,05$ ) (Ramírez, 2016).

Trong nghiên cứu này, cao chiết LXN có khả năng ức chế hoạt động của enzyme G6Pase và G6PDH *in vitro* ở nồng độ rất thấp. Chuột bệnh ĐTĐ cảm ứng bởi AM bị tăng hoạt động enzyme G6Pase và giảm hoạt động G6PDH *in vivo*. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Negres *et al.* (2016); Ramu *et al.* (2016a); Ramu *et al.* (2016b). Sau 28 ngày, hoạt động của enzyme G6Pase ở gan chuột bệnh ĐTĐ được điều trị bằng cao chiết LXN liều 450 mg/kg giảm khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng bệnh lý ( $p < 0,05$ ). Hoạt động của enzyme G6PDH ở gan chuột bệnh ĐTĐ được điều trị bằng cao chiết LXN cũng tăng khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng bệnh lý ( $p < 0,05$ ). Đây là nghiên cứu đầu tiên trong phạm vi cả nước nghiên cứu về khả năng hạ glucose huyết chuột bệnh ĐTĐ của cao chiết LXN thông qua cơ chế điều hòa enzyme G6Pase và G6PDH. Những nghiên cứu trước đó chỉ dừng lại ở mức quan sát hình thái, và định lượng mangiferin của LXN (Phạm Gia Khôi và *ctv.*, 1991; Lê Thị Thúy, 2001; Đỗ Hương Lan, 2002).

Ngoài ra, mangiferin trong lá xoài còn có tác dụng bảo vệ tế bào gan, kháng viêm ở chuột (Ramírez *et al.*, 2016). Điều này minh chứng cho kết quả tế bào gan ở chuột BĐTĐ được phục hồi cấu trúc sau khi được điều trị bởi cao chiết LXN.

## 5 KẾT LUẬN

Cao chiết LXN có khả năng điều hòa hoạt động enzyme G6Pase và G6PDH *in vitro* và *in vivo* trên chuột bị gây độc bởi AM theo khuynh hướng trở về trạng thái bình thường. G6Pase và G6PDH là hai enzyme quan trọng trong việc kiểm soát sự tăng glucose huyết, cũng như cân bằng tình trạng stress oxy hóa dẫn đến nguyên nhân của nhiều bệnh. Cao chiết LXN cũng được chứng minh có khả năng phục hồi cấu trúc mô bệnh học của gan trở về trạng thái bình thường. Điều này cho thấy cao chiết LXN như một nguồn dược liệu cần được xem xét quan tâm nghiên cứu để có thể ứng dụng vào lĩnh vực chăm sóc sức khỏe.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ananda, P.K., Kumarappan, C.T., Sunil, C., Kalaichelvan, V.K., 2012. Effect of Biophytum sensitivum on streptozotocin and nicotinamide-induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2(1): 31-35.
- Ceriello, A., 2010. Hyperglycaemia and the vessel wall: the pathophysiological aspects on the atherosclerotic burden in patients with diabetes. *The European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation*. 1: 15-19.
- Dessi, S., Batetta, B., Cherchi, R., Onnis, R., Pisano, M., Pani, P., 1988. Hexose-monophosphate shunt enzymes in lung-tumors from normal and glucose-6-phosphatedehydrogenase-deficient subjects. *Oncology*. 45(4): 287-291.
- Dutu, R., Nedelea, M. Veluda, G. Burcuket, V., 1980. Toenzymologic investigations on carcinomas of the cervix uteri. *Acta Cytologica*. 24: 160-166.
- Gargouri, M., Magné, C., Feki, A., 2016. Hyperglycemia, oxidative stress, liver damage and dysfunction in alloxan-induced diabetic rat are prevented by Spirulina supplementation. *Nutrition Research*, 36(11), 1255–1268.
- Garrido, G., González, D., Delporte, C., *et al.*, 2001. Analgic and anti-inflammatory effects of *Mangifera indica* L. extract (VIMANG). *Phytotherapy Research*. 15(1): 18-21.
- Govindappa, M., 2015. A review on role of plant(s) extracts and its phytochemicals for the management of diabetes. *Journal of Diabetes and Metabolism*. 6(7):1-38.
- Ham, M., Choe, S.S., Shin, K.C., *et al.*, 2016. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency improves insulin resistance with reduced adipose tissue inflammation in obesity. *Diabetes*. 65(9): 2624-2638.
- Hughes, E.C., 1976. The effect of enzymes upon metabolism, storage, and release of carbohydrates in normal and abnormal endometria, *Cancer*. 38: 487-502.
- Ighodaro, O.M., Adeosun, A.M., Akinloye, O.A., 2017. Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies. *Medicina (Kaunas)*. 53(6): 365-374.
- Kumthekar, M.M., Katyare, S.S., 1992. Altered kinetic attributes of Na (+) + K (+)-ATPase activity in kidney, brain and erythrocyte membranes in alloxan-diabetic rats. *Indian journal of Experimental Biology*. 30(1): 26-32.
- Kuo, W.Y., Lin, J.Y., Tang, T.K., 2000. Human glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) gene transforms NIH 3T3 cells and induces



- tumors in nude mice. *International Journal of Cancer*. 85: 857-864.
- Lenzen, S., 2008. The mechanism of alloxan and streptozotocin induced diabetes. *Diabetologia*. 51(2): 216-226.
- Li, D., Zhu, Y., Tang, Q., *et al.*, 2009. A new G6PDH knockdown tumor-cell line with reduced proliferation and increased susceptibility to oxidative stress. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*. 24: 81-90.
- Munday, R., 1988. Dialuric acid autoxidation. Effects of transition metals on the reaction rate and on the generation of "active oxygen" species. *Biochem Pharmacol*. 37(3): 409-413.
- Negres, S., Zanfirescu, A., Ionica, F.E., *et al.*, 2016. Pharmacotoxicological screening on new derivatives of beta-phenylethylamine, potential agonists of beta3- adrenergic receptors. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*. 57(3): 969-978.
- Negreş, S., Zanfirescu, A., Ionică, F.E., *et al.*, 2016. Pharmacotoxicological screening on new derivatives of beta-phenylethylamine, potential agonists of beta3-adrenergic receptors. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*. 57(3):969-978.
- Nguyễn Thị Ái Lan, Đái Thị Xuân Trang, 2018. Hiệu quả hạ glucose huyết, điều hòa lipid huyết và chống huyết khối trên chuột bệnh đái tháo đường của lá Xoài non (*Mangifera indica* L.). *Tạp chí Sinh học*. 40(2): 168-176.
- Phạm Gia Khôi và Phạm Xuân Sinh, 1991. Nghiên cứu chiết xuất và xác định flavonoid mangiferin trong lá Xoài. *Tạp chí Dược học*, 5: 8 - 19.
- Punitha, R., K. Rajendran, S., Arun, and S., Annie, 2005. Alcoholic Stem Extract of *Coscinium fenestratum* Regulates Carbohydrate Metabolism and Improves Antioxidant Status in Streptozotocin–Nicotinamide Induced Diabetic Rats. Evidence-based complementary and alternative medicine : *Ecam*, 2(3): 375–381.
- Ramírez, N.M., Leticia, M.F., Francine, A.S, João, P.V.L, Maria, I.D.S.D., Renata, C.L.T., José, H.D.Q, Hércia S.D.M and, Sônia, M.R.R, 2016. Extraction of Mangiferin and Chemical Characterization and Sensorial Analysis of Teas from *Mangifera indica* L. Leaves of the Ubá Variety. *Beverages*, 2-33.
- Ramu, R., Shirahatti, P.S., Zameer, S.,N.S., Dhananjaya, B.F.L., Prasad, M.N.N., 2016. Assessment of in vivo antidiabetic properties of umbelliferone and lupeol constituents of Banana (*Musa* sp. var. Nanjangud Rasa Bale) flower in hyperglycaemic rodent model. *Public Library of Science one*. 11(3): e0151135.
- Ramu, R., Shirahatti, P.S., Nayakavadi, S.R.V., *et al.*, 2016a. The effect of a plant extract enriched in stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol on glycaemic status and glucose metabolism in alloxan-induced diabetic rats. *Food & Function*. 7(9): 3999-4011.
- Rodeiro, I., Donato, M.T., Jiménez, N., Garrido, G., Delgado, R., Gómez-Lechón, M.J., 2007. Effects on *Mangifera indica* L. aqueous extract (Vimang) on primary culture of rat hepatocytes. *Food and Chemical Toxicology*. 45: 2506-2512.
- Salati, L.M., Amir-Ahmady, B., 2001. Dietary regulation of expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Annual Review of Nutrition*. 21: 121-140.
- Shah, K.A., Patel, M.B., Patel, R.J., Parmar, P.K., 2010. *Magifera indica* (Mango). *Pharmacognosy Reviews*. 4(7): 42-48.
- Sushko, O., Klumets, G., Iskra, R., 2018. Carbohydrate metabolism and the state of the pro-antioxidant system in the pancreas of rats with experimentally induced diabetes and the release of Vanadium citrate. *International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research*. 9(12): 5382-5387.
- Yen, T.T., Allan, A.J., Pearson, D.V., Acton, J.M., Greenberg, M.M., 1977. Prevention of obesity in Avy/a mice by dehydroepiandrosterone, *Lipids*. 12: 409-413.
- Zampella, E.J., Bradley, Jr.E.L., Pretlow, I.I.T.G., 1982. Glucose-6-phosphate-dehydrogenase—a possible clinical indicator for prostatic-carcinoma. *Cancer*. 49: 384-387.
- Zhang, Z., Apse, K., Pang, J., Stanton, R.C., 2000b. High glucose inhibits glucose 6-phosphate dehydrogenase via cAMP in aortic endothelial cells. *Journal of Biological Chemistry*. 275: 40042-40047.
- Zhao, H.,L., Zhigeng, T., Guihua, G., Kuo, L., Zhiyong, Z., Baosheng, W., Juan, L., Liangtao, P., Qiu, Z., Wenting, W., Zhiqian, C., Jianxin, W., Wei, 2013. Effect of traditional Chinese medicine on rats with type II diabetes induced by high-fat diet and streptozocin: a urine metabonomic study. *African Health Science*, 13(3):673-81.