

ẢNH HƯỞNG CỦA POLYSACCHARIDE CHIẾT TỪ QUẢ THỂ VÀ SINH KHỐI SỢI NẤM LINH CHỈ (GANODERMA LUCIDUM) NUÔI TRỒNG LÊN TRỌNG LƯỢNG VÀ THỜI GIAN SỐNG THÊM CỦA CHUỘT NHẮT TRẮNG SWISS MANG U BẢNG SARCOMA 180

Nguyễn Thị Quỳ, Hoàng Thị Mỹ Nhung, Đinh Hồng Duyên
Khoa Sinh học, Trường ĐHKHTN, ĐHQGHN

MỞ ĐẦU

Ung thư là một căn bệnh hiểm nghèo với tỷ lệ tử vong vào loại cao nhất trên thế giới. Tỷ lệ người mắc bệnh hàng năm cũng ngày càng gia tăng. Việt Nam, một nước đang phát triển, cũng không nằm ngoài mối nguy hiểm này. Trong nỗ lực tìm kiếm những chế phẩm có tác dụng ngăn ngừa và phòng chống ung thư, các nhà khoa học cũng quan tâm đến những chế phẩm có khả năng tăng cường sức khỏe và sức chống chịu cho người bệnh. Nấm Linh chi là một trong những chế phẩm đó.

Linh chi từ lâu đã được biết đến như một loại “thần dược” chữa “bách bệnh”. Từ trước đến nay, đã có rất nhiều nghiên cứu chỉ ra khả năng chữa trị một số bệnh của nấm Linh chi, trong đó có bệnh ung thư. Chúng tôi cũng tiến hành một số nghiên cứu về hoạt tính kháng u và khả năng hỗ trợ điều trị bệnh của loại nấm này. Những kết quả được nêu sau đây chỉ đề cập đến ảnh hưởng của nấm Linh chi lên trọng lượng và thời gian sống thêm của chuột nhắt trắng Swiss mang u bảng sarcoma 180.

Các nghiên cứu thực nghiệm được tiến hành trên chuột bạch tại phòng thực nghiệm thuộc Bộ môn Tế bào - Mô phôi và Lý sinh, Khoa Sinh học, Trường đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Động vật thí nghiệm: chúng tôi sử dụng chuột nhắt đực trắng, dòng Swiss, trọng lượng trung bình 20gam, tuổi trung bình từ 7-8 tuần, do Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương cung cấp.

*Nấm Linh chi (*Ganoderma lucidum*):* chúng tôi sử dụng sản phẩm đã nghiền nhỏ của quả thể và sinh khối sợi nấm dạng bột khô do công ty TNHH Nấm Linh chi cung cấp.

Tế bào ung thư sarcoma 180: Dòng tế bào ung thư sarcoma 180 là dạng u báng ác tính thực nghiệm do Nhóm Ung thư thực nghiệm, Bộ môn Tế bào-Mô phôi và Lý sinh, khoa Sinh học, trường Đại học Khoa học Tự nhiên cung cấp.

Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của thành phần polysaccharide EFI chiết từ quả thể và sinh khối sợi nấm Linh chi nuôi trồng lên trọng lượng chuột. (EFI là polysaccharide chiết trong dung môi là nước và cồn).

Trong thí nghiệm này chúng tôi sử dụng 45 chuột, chia làm ba lô: lô đối chứng (ĐC), lô thí nghiệm với EFI chiết từ quả thể (TNQ) và lô thí nghiệm với EFI chiết từ sinh khối sợi nấm (TNS). Ở lô đối chứng từ ngày thứ ba sau cấy truyền tế bào ung thư (TBUT), chuột được cho uống nước cất bằng xơnh 1ml có gắn kim tiêm đầu tròn, xông thẳng vào dạ dày. Cho uống năm ngày liên tiếp (mỗi ngày một lần: 0,2ml/con). Ngày thứ tám nghỉ. Tiếp tục cho uống tới ngày thứ 16 với liều lượng như trên. Ở lô thí nghiệm, cũng với cách cho uống nói trên nhưng thay nước cất bằng dung dịch chế phẩm EFI với liều 30mg/0,2ml/1 lần x 10 lần (sau 48 giờ cấy truyền), tương đương tổng liều 300mg/1chuột. Tiến hành cân chuột cách nhật (hai ngày một lần, kể từ ngày bắt đầu thí nghiệm). Đến ngày thứ 16 kết thúc thí nghiệm.

Thí nghiệm 2: Xác định thời sống thêm của chuột nhắt trắng Swiss mang u báng sarcoma 180 được điều trị bằng polysaccharide EFI chiết từ quả thể và sinh khối sợi nấm Linh chi nuôi trồng.

Cách bố trí thí nghiệm cũng tương tự như thí nghiệm I. Tuy nhiên đến ngày thứ 16 không kết thúc thí nghiệm mà tiếp tục theo dõi thời gian sống, chết của chuột.

Các phương pháp

- Chúng tôi sử dụng phương pháp chiết rút polysaccharide theo Takashi Mizuno (1985) [7,8].
- Phương pháp cấy truyền tế bào ung thư [3,4].

Dụng cụ, hóa chất cấy truyền: Bơm tiêm 1ml, bông, cồn, dung dịch sinh lý có pH=7,2 hoặc dung dịch muối sinh lý 0,9%. Dùng kim tiêm loại 18 G trích báng ở ổ bụng chuột đã giữ giống từ 6 đến 10 ngày rồi pha loãng bằng dung dịch sinh lý sao cho dịch chứa tế bào có mật độ là 5.10^6 tế bào/ml. Sau đó tiêm 0,2 ml vào xoang bụng mỗi chuột, tương đương 10^6 TBUT/ con. Sau khi cấy truyền, chuột được chăm sóc cẩn thận và theo dõi sự phát triển u báng của chúng.

- Phương pháp xác định thời gian sống kéo dài thêm theo Norio Nagamoto [5]

$$ILS(\%) = (T_S/C_S - 1) \times 100\%$$

ILS –Increase in Life Span (Sự gia tăng thời gian sống thêm). T_S : Thời gian sống trung bình của chuột lô ở điều trị. C_S : Thời gian sống trung bình của chuột lô đối chứng

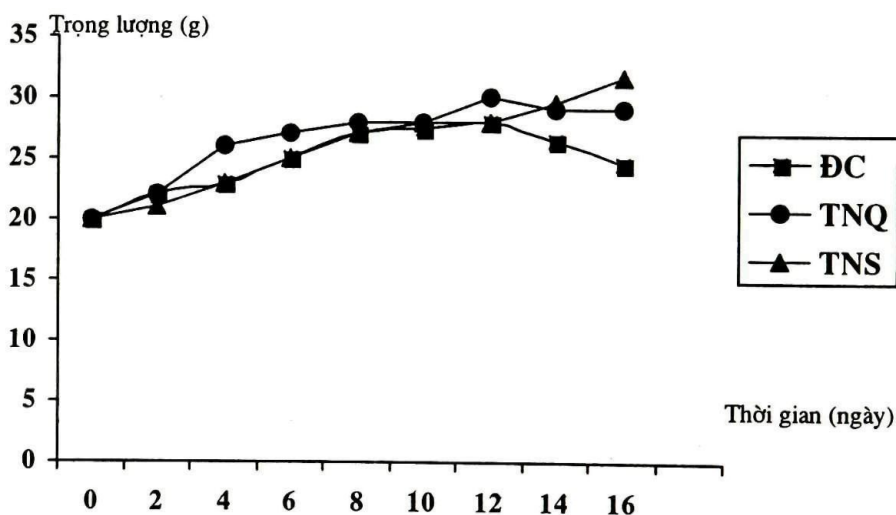
KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Ảnh hưởng của polysaccharide lên trọng lượng chuột thí nghiệm

Kết quả về sự thay đổi trọng lượng chuột ở lô ĐC và hai lô TNQ, TNS có uống chế phẩm EFI với liều 30mg/con/lần được trình bày trong bảng 1 và hình 1.

Bảng 1. Trọng lượng trung bình của chuột ở các lô trong thời gian thí nghiệm

Stt lần cân	Ngày	ĐC (g)	TNQ (g)	TNS (g)
1	0	20,0	20,0	20,0
2	2	22,0	22,0	21,0
3	4	23,0	26,0	23,0
4	6	25,0	27,0	25,0
5	8	27,0	28,0	27,0
6	10	27,5	28,0	28,0
7	12	28,0	30,0	28,0
8	14	26,3	29,0	29,5
9	16	24,4	29,0	31,6



Hình 1: Đồ thị thay đổi trọng lượng của chuột lô ở ĐC và hai lô TNQ & TNS

Qua đồ thị tăng trưởng chúng tôi thấy, trọng lượng chuột ở cả ba lô ĐC, TNQ và TNS đều có xu hướng tăng lên ở tuần đầu thí nghiệm. Riêng lô TNQ, tốc độ tăng trung bình có nhanh hơn so với lô ĐC và lô TNS. Ở tuần thứ hai, sự thay đổi trọng lượng ở cả ba lô là không rõ

rệt. Sang tuần thứ ba, trọng lượng trung bình của chuột ở lô ĐC bắt đầu giảm xuống, có thể do tế bào ung thư tăng sinh mạnh làm cạn kiệt chất dinh dưỡng cung cấp cho các tế bào lành của cơ thể. Đây cũng là hiện tượng thường thấy ở những cơ thể mắc bệnh ung thư.

Lô TNQ cũng có hiện tượng giảm trọng lượng, tuy nhiên tốc độ giảm ít hơn. Lô TNS lại có xu hướng tăng trọng lượng vào những ngày cuối tuần thứ ba. Đây có thể là do kết quả làm tăng cường sức khỏe đối với chuột nhắt trắng được điều trị bằng EFI. Mặt khác, có thể polysaccharide chiết từ sinh khối sợi nấm Linh chi có tác dụng ức chế sự phát triển của tế bào ung thư nên lượng chất dinh dưỡng cung cấp cho các tế bào lành khác tăng lên dẫn đến sự tăng trọng lượng cơ thể.

2. Ảnh hưởng của polysaccharide lên thời gian sống kéo dài thêm của chuột

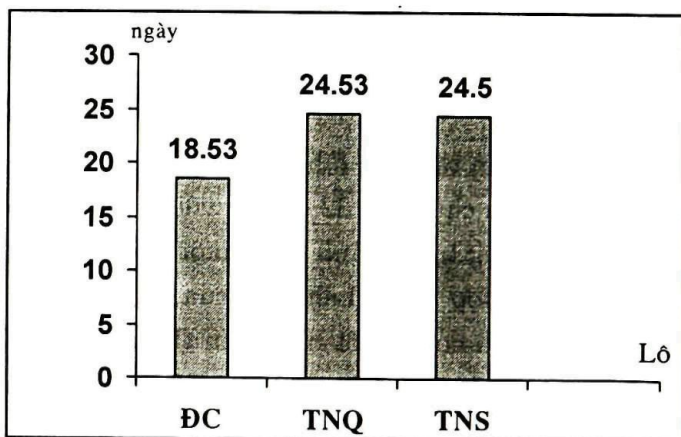
Khả năng kéo dài thời gian sống của động vật thí nghiệm là một trong những chỉ tiêu quan trọng để đánh giá tác dụng điều trị ung thư của chế phẩm. Như đã nói trong phần đối tượng và phương pháp nghiên cứu, chúng tôi tiến hành chia lô và theo dõi sự sống chết của chuột. Những chuột chết đều được giải phẫu để kiểm tra nguyên nhân gây chết, để biết chắc chắn 100% chuột chết là do ung thư.

Kết quả theo dõi được trình bày trong bảng 2, hình 2.

Qua bảng số liệu trên ta thấy, ở hai lô thí nghiệm thời gian sống kéo dài thêm so với lô đối chứng là 32,4% đối với lô TNQ và 32,2% đối với lô TNS. Thời gian sống trung bình của chuột lô đối chứng là 18,53 ngày (kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Thị Quý với thời gian sống trung bình của chuột nhắt đen thuần chủng C57-BL6 mang u báng sarcoma 180 là 20.1 ngày). Thời gian sống trung bình của chuột hai lô thí nghiệm TNQ - TNS kéo dài hơn khoảng 6 ngày. Đặc biệt, mỗi lô thí nghiệm đều có hai chuột còn sống sót sau ngày thứ 40.

Bảng 2. Thời gian sống thêm của chuột nhắt trắng ở các lô ĐC, TNQ và TNS.

Stt chuột	Thời gian sống sót của chuột (ngày)		
	ĐC	TNQ	TNS
1.	13	9	15
2.	13	14	15
1.	14	16	19
2.	14	17	19
3.	15	19	19
4.	15	21	20
5.	15	21	21
6.	17	23	22
7.	17	23	22
8.	19	25	26
9.	21	30	28
10.	23	32	28
11.	25	36	34
12.	26	41	40
13.	31	41	40
T	18,53	24,53	24,5
ILS (%)	0	32,4	32,2



Hình 2. Thời gian sống trung bình của chuột lô ĐC và hai lô thí nghiệm TNQ & TNS

Như vậy, khi cho chuột bị ung thư uống chế phẩm chiết từ sinh khối sợi nấm Linh chi không những có tác dụng kháng u (như đã đề cập trong một nghiên cứu khác của chúng tôi) mà còn cải thiện thời gian sống thêm của chuột theo chiều hướng tốt hơn. Đối với chế phẩm chiết từ quả thể nấm Linh chi, tuy chưa thể hiện hiệu lực kháng u (cũng theo nghiên cứu trên), song nó cũng có tác dụng kéo dài thời gian sống thêm tương đương với chế phẩm chiết từ sinh khối sợi nấm. Điều này có thể là do chế phẩm có tác dụng tăng cường sức khỏe, do đó tăng khả năng chống chịu của động vật thí nghiệm dẫn đến kéo dài thời gian sống. Hy vọng ở những thí nghiệm tác động thuốc bằng cách tiêm trực tiếp chế phẩm vào xoang bụng, kết quả sẽ cao hơn.

KẾT LUẬN

Chế phẩm polysaccharide chiết từ quả thể và sinh khối sợi nấm Linh chi theo phương pháp của Takashi và cộng sự có tác dụng làm tăng trọng lượng của chuột thí nghiệm mang u báng sarcoma 180. Đồng thời, cả hai chế phẩm trên đều có khả năng kéo dài thời gian sống thêm của chuột thí nghiệm lên hơn 32% so với chuột đối chứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Chính, Vũ Thành Công (1999). *Nghiên cứu công nghệ sản xuất sinh khối và một số hoạt tính sinh học của nấm Linh Chi Ganoderma lucidum*, Tạp chí Sinh học, Tập 21, số 3: 132-136
2. D.K. Hossfeld, L.D. Sherman, R.R. Love, F.X. Bosch, 1991. *Ung thư học lâm sàng* (bản dịch tiếng Việt). NXB Y học, Hà nội.
3. Nguyễn Thị Quý (1993). *Gây tạo mô hình u báng thực nghiệm và thử tác dụng phòng và chống ung thư của một số chế phẩm tự nhiên và tổng hợp*. Luận án Tiến sĩ Sinh học, Trường Đại học Tổng hợp Hà nội.
4. Trần Công Yên, 1975. *Ciclul evolutiv al celulelor ascitice HR-18 si influenza acestora asupra celulelor neurosecretoare din NSO si NPV in conditii de tratament*. Luận án Tiến sĩ Sinh học, Bucarest. 158pp (tiếng Rumani).

5. Norio Nagamoto et al., 1978. *Antitumor crocosmiflora*, *Planta medica*.
6. Y. Quyan, Q. Yan. (1994). *The antitumor effect of the G.lucidum*, Int. Sym. On Ganoderma Res, Beijing, China.
7. M. Takashi. (1996). *A development of Antitumor Polysaccharides from Mushroom Fungi*, FFI Journal 167: 69-85
8. M. Takashi. (1985). *Fractionation and Characterization of Polysaccharide from Maitake, Grifla frondosa*, Shizuoka, Japan.

SUMMARY

EFFECT OF POLYSACCHARIDE EXTRACTED FROM THE BODY AND MICELLIUM BIOMASS OF CULTURED GANODERMA LUCIDUM TO THE BODY WEIGHT AND THE INCREASE IN LIFE SPAN OF SWISS WHITE MICE CARRYING SARCOMA 180.

*Quy N.T., Nhung H.T.M, Duyen D.H., *Hanoi National University*.

We used 45 mice divided into three groups: the reference; the treated by EFI extracted from the fruit body and the those treated by EFI extracted from the micellium biomass of Ganoderma lucidum.

With total dose of 300mg/mouse (per.os, daily), the EFI of the micellium biomas and fruit body of Ganoderma lucidum increased the body weight of Swiss white mice carrying sarcoma 180. These products also to cause increase of the life span of the treated mice by 32% in comparison with the control mice (means 24.5 days and 18.53 days respectively).