

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CỦA BỘT LINH CHI ĐẾN HOẠT TÍNH MỘT SỐ ENZYM CỦA MÁU NGOẠI VI CHUỘT NHẮT TRẮNG SWISS KHI CHIẾU XẠ TIA GAMMA

Nguyễn Thị Kim Ngân, Trịnh Xuân Hậu

Khoa Sinh học

Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG Hà Nội

Khi chiếu xạ sẽ dẫn tới thay đổi cân bằng hệ thống oxy hoá - chống oxy hoá theo hướng tăng hoạt tính chống ôxy hoá /3/. Các enzym trong huyết thanh và ở các mô của động vật bị chiếu xạ sẽ được giải phóng ra khỏi tế bào. Sự giải phóng enzym khỏi tế bào xảy ra sớm hay muộn tùy thuộc vào độ nhạy cảm phóng xạ của mô và liều chiếu xạ/5/. Theo /4/ peroxidase, catalase, ascobatoxidase, peroxidase - cytochrom C, cytochromb₅, cytochrom P₄₅₀ là những enzym quan trọng thuộc hệ thống chống ôxy hoá của cơ thể. Hoạt tính các enzym thuộc hệ thống chống oxy hoá mà thay đổi sẽ ảnh hưởng tới sức cản phóng xạ của cơ thể /9/. Nấm Linh Chi *Ganoderma lucidum* nguồn dược liệu quý giá đã được biết đến trong các tài liệu /8,10,11/. Song tác dụng tích cực của nó tới hoạt tính enzym theo hướng bảo vệ cơ thể trước tác dụng của tia phóng xạ còn chưa thấy đề cập tới. Bởi vậy chúng tôi chọn đề tài này để nghiên cứu.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng thí nghiệm

Chuột nhắt trắng dòng Swiss nặng trung bình 20-22g được phân thành 3 lô: Đối chứng nh học (ĐCSH: chuột khỏe mạnh không chiếu xạ);

Đối chứng chiếu xạ (ĐCCX: chuột bị chiếu xạ); Thí nghiệm (TN: chuột có uống Linh chi và bị chiếu xạ). Bột Linh chi được bào chế từ nấm Linh Chi *Ganoderma lucidum*. Chuột ở lô TN mỗi con được uống 0,3 ml/ngày tương đương 5g/kg thể trọng trong 7 ngày liền trước khi đem chiếu xạ tia gamma bằng máy CHISOBALT các liều 550R; 650R;750R. Chuột ở lô ĐCSH và ĐCCX cho uống nước đun sôi để nguội với liều và thời gian giống như khi cho uống Linh chi. Điều kiện nuôi và thức ăn ở các lô là như nhau.

2. Phương pháp xác định hoạt tính enzym

Hoạt tính enzym peroxidase catalase, ascobatoxidase xác định theo tài liệu /1.16/

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

1. Xác định hoạt tính peroxidase

Kết quả nghiên cứu (KQNC) hoạt tính peroxiadase tính theo thời gian phân huỷ H₂O₂ bởi peroxidase được trình bày ở bảng 1:

Bảng 1: Hoạt tính peroxidase của máu ngoại vi chuột nhắt trắng tính theo giây

Liều xạ (R)	Ngày Lô	3	7	10	15	20	30
O	ĐCSH	8,5±0,5					
550R	ĐCCX	12,0±1,0	15,0±1,0	12,5±0,5	12,0±1,0	10,5±0,5	9,0±1,0
	TN	9,5±0,5	10,5±0,5	10,0±1,0	7,5±0,5	7,0±1,0	8,0±1,0
650R	ĐCCX	13,5±0,5	16,0±1,0	14,5±0,5	15,5±0,5	12,0±1,0	10,5±0,5
	TN	11,5±0,5	13,0±1,0	11,0±1,0	9,5±0,5	10,0±1,0	7,5±0,5
750R	ĐCCX	16,5±1,5	18,0±1,0	19,5±1,5	17,0±1,0	20,0±1,5	Chuột chết
	TN	13,0±1,0	14,0±1,0	13,5±0,5	12,5±0,5	11,5±0,5	9,5±0,5

Kết quả ở bảng 1 cho thấy đối với chuột khỏe (ĐCSH) hoạt tính peroxidase là ổn định theo thời gian chứng tỏ quá trình chuyển hoá diễn

ra bình thường. Chuột ở lô ĐCCX dưới tác dụng của tia phóng xạ hoạt tính peroxidase của máu ngoại vi bị giảm mạnh sau 3-7 ngày với liều 550R, sau 3-5 ngày với liều 650R còn giảm liên tục tới ngày 20 sau chiếu xạ với liều 750R. Chính sự giảm hoạt tính enzym trên phông kim hãm hoạt động của hệ thống chống oxy hoá của cơ thể là một trong những yếu tố tạo điều kiện cho sự tích lũy độc tố phóng xạ (radiotoxin) là peroxit dẫn tới chuột tử vong cao ở tuần đầu sau khi chiếu xạ. Chuột ở lô chiếu xạ liều 550R và 650R hồi phục được hoạt tính peroxidase góp phần làm cho chuột sống sót tới ngày 30 sau chiếu xạ còn chuột ở lô chiếu xạ liều 750 bắt hồi phục đã góp phần làm cho chuột tử vong sau 20 ngày chiếu xạ. ở lô TN chuột được uống Linh chi trước khi chiếu xạ nên hoạt tính peroxidase bị giảm ít hơn vào những ngày đầu sau chiếu xạ và quá trình hồi phục hoạt tính enzym về giá trị ban đầu cũng diễn ra nhanh hơn nên hạn chế sự tích lũy độc tố phóng xạ góp phần giữ cho chuột ở tất cả các lô TN đều sống sót tới ngày 30 sau chiếu xạ.

2. Xác định hoạt tính catalase máu ngoại vi chuột nhắt trắng

Kết quả nghiên cứu hoạt tính catalase máu ngoại vi chuột nhắt trắng theo số mg H₂O₂ bị phân huỷ được trình bày ở bảng 2

Bảng 2: Hoạt tính catalase máu ngoại vi chuột nhắt trắng tính theo số mg H₂O₂ bị phân huỷ

Liều xạ (R)	Ngày Lô	3	7	10	15	20	30
O	ĐCSH	2,60±0,04					
550R	ĐCCX	3,62±0,09	4,05±0,11	3,80±0,08	3,90±0,07	3,50±0,06	3,15±0,09
	TN	3,35±0,06	3,31±0,08	3,10 ± 0,06	2,85±0,05	2,60±0,07	2,65±0,05
650R	ĐCCX	4,34±0,12	4,50±0,09	4,42±0,10	4,20±0,08	3,81±0,09	3,30±0,08
	TN	3,50±0,10	3,66±0,08	3,31±0,09	3,12±0,07	3,20±0,06	2,75±0,07
450R	ĐCCX	4,81±0,15	5,05±0,12	5,20±0,10	4,93±0,11	5,30±0,17	Chuột chết
	TN	3,90±0,10	3,82±0,09	3,63±0,08	3,51±0,10	3,30±0,08	2,90±0,09

Kết quả bảng 2 cho thấy ở chuột khoẻ mạnh (ĐCSH) hoạt tính catalase của máu ngoại vi cũng ổn định theo thời gian. Chuột ở lô ĐCCX do tác động của tia phóng xạ nên hoạt tính catalase của máu ngoại vi

tăng cao sau 3-7 ngày với liều 550R, sau 3-15 ngày với liều 650R còn luôn ở mức cao đến ngày 20 sau chiếu xạ với liều 750R. Hiện tượng hoạt tính catalase ở mức cao không hồi phục đã góp phần làm cho chuột bị chiếu xạ 750R chết sau 20 ngày chiếu xạ. Ở lô TN chuột được uống Linh chi trước khi chiếu xạ mặc dù hoạt tính catalase vẫn bị tăng cao vào ngày 3 nhưng sau đó bị kìm hãm không tăng cao nữa vào ngày 7 rồi giảm dần theo xu hướng hồi phục về giá trị ban đầu. Điều này góp phần giữ cho chuột ở tất cả các lô TN đều sống sót tới ngày 30 sau chiếu xạ. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với công bố của tác giả như C.B Vanmukhanov/15/T.A. Xvidezskaja/17/, Lê Đắc Liêu/9/, T.Nakazawa/12/ là khi chiếu xạ đều dẫn tới làm giảm hoặc tăng cao hoạt tính enzym thuộc hệ thống chống oxy hoá của cơ thể. Linh chi có thuộc tính giống các chất bảo vệ phóng xạ như Cystamin, Mexcamin/7/, Cm-5 KM-1. KM-2/14/, một số flavonoid và carotenoid có nguồn gốc thực vật /2/ chế phẩm PG-2 từ củ tam thất /13/ về khả năng hạn chế giảm xuống quá thấp hoặc sự tăng quá cao hoạt tính enzym thuộc hệ thống chống oxy hoá cũng như tác động tới quá trình hồi phục hoạt tính enzym trở về giá trị đặc trưng cho cơ thể đã bình phục.

3. Xác định hoạt tính enzym ascobatoxidase của máu ngoại vi chuột nhắt trắng

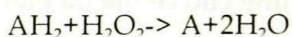
Kết quả nghiên cứu xác định hoạt tính ascobatoxidase của máu ngoại vi chuột nhắt trắng tính theo số mg axit ascorbic bị oxy hoá hoàn toàn với sự xúc tác của ascobatoxidase được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Hoạt tính ascobatoxidase của máu ngoại vi chuột nhắt trắng tính theo số mg axit ascorbic bị oxy hoá hoàn toàn

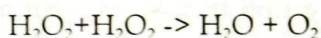
Liều xạ (R)	Ngày Lô	3	7	10	15	20	30
O	ĐCSH	0,35±0,01					
550R	ĐCCX	0,34±0,01	0,36±0,02	0,37±0,01	0,39±0,02	0,35±0,01	0,33±0,01
	TN	0,28±0,01	0,31±0,01	0,30±0,02	0,33±0,01	0,34±0,01	0,30±0,01
650R	ĐCCX	0,36±0,01	0,34±0,01	0,35±0,01	0,37±0,02	0,36±0,01	0,35±0,02
	TN	0,31±0,02	0,30±0,01	0,33±0,01	0,30±0,01	0,32±0,01	0,29±0,01
750R	ĐCCX	0,38±0,02	0,40±0,02	0,37±0,01	0,40±0,02	0,42±0,02	chuột chết
	TN	0,33±0,01	0,30±0,01	0,35±0,01	0,32±0,02	0,30±0,01	0,26±0,02

Kết quả ở bảng 3 cho thấy chuột khoẻ mạnh có hoạt tính ascobatoxidase máu ngoại vi ổn định theo thời gian. Ở chuột chiếu xạ liều 550R và 650R hoạt tính ascobatoxidase khi tăng khi giảm so với giá trị bình thường không thấy có sự khác biệt giữa chiếu xạ với không chiếu xạ. Điều này phù hợp với công bố của B.M.Kondenova/6/ khi chiếu xạ chuột cống 400Rad thấy nồng độ trung bình axit ascobic ở máu ngoại vi là ít thay đổi. Riêng chuột chiếu xạ liều 750R hoạt tính ascobatoxidase tăng cao so với ĐCSH và không có khả năng hồi phục góp phần làm cho chuột tử vong sau 20 ngày chiếu xạ. Ở lô TN chuột được uống Linh chi hoạt tính ascobatoxidase máu ngoại vi đều giảm so với ĐCSH có tác dụng duy trì nồng độ axit ascobic, nâng cao tính chống oxy hoá cho cơ thể bởi vậy chuột ở tất cả các lô TN đều sống sót tới ngày 30 sau chiếu xạ.

Về cơ chế bảo vệ phóng xạ của Linh chi thông qua tác động tới hoạt tính enzym của hệ thống chống oxy hoá có thể giải thích như sau: Peroxidase xúc tác cho phản ứng phân huỷ H_2O_2 theo phản ứng:



Trong tế bào Peroxidase thường đi kèm với catalase và gắn liền vào peroxisome. Khi nồng độ H_2O_2 vào catalase cũng xúc tác cho phản ứng phân huỷ H_2O_2 theo phản ứng:



Tác dụng bảo vệ của Linh chi thể hiện ở chỗ bảo vệ cấu trúc tế bào đặc biệt lysosome nên hạn chế sự giải phóng enzym có hại đối với tế bào. Đồng thời nó điều hoà hoạt tính enzym giúp cho cơ thể chóng trở về trạng thái cân bằng nội tình. Đối với ascobatoxidase bình thường nó xúc tác cho phản ứng phân giải axit ascobic thành axit dehydroascobic kém hoạt tính hơn. Linh chi kìm hãm hoạt tính ascobatoxidase đã duy trì nồng độ axit ascobic nên có tác dụng chống hoạt huyết, làm cho vết thương mau liền sẹo nhất là dạ dày-ruột. Ở gan axit ascobic có tác dụng trung hòa độc tố phóng xạ, bảo vệ nhóm thiol(SH) của một số enzym khỏi ô xi hoá nên kích thích sinh tổng hợp các hợp chất thiol như glytathion, histamin, serotonin... là những chất bảo vệ phóng xạ nội sinh.

KẾT LUẬN

1. Dưới tác dụng của tia phóng xạ hoạt tính peroxidase, catalase, ascobatoxidase của máu ngoại vi chuột nhắt trắng Swiss thay đổi theo hướng bất lợi tổn hại tới sự sống sót của chuột thời gian đầu sau khi chiếu xạ tia gamma.

2. Linh chi thể hiện khả năng hạn chế sự giảm hoạt tính peroxidase, kìm hãm sự tăng hoạt tính catalase và giảm hoạt tính ascobatosidase của máu ngoại vi chuột nhắt trắng Swiss thời gian đầu sau khi chiếu xạ tia gamma.

3. Linh chi tác động lên quá trình hồi phục hoạt tính peroxidase, catalase, ascobatoxidase để trở về trạng thái cân bằng nội tĩnh đặc trưng cho cơ thể đã bình phục.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. C.B.Asatiana: Các phương pháp xác định hoạt tính enzym, Nauka, Moskova, 1969.
2. Đàm Trung Bảo: Tạp chí Y học Việt nam, 1993,171,3,100-103.
3. B.A.Barabol: Radiobiologia, 1986,26,5,591-596.
4. NgôThị Ngọc Dao: Nghiên cứu sự biến đổi một số enzym khử độc của cơ thể, ý nghĩa của chúng trong chẩn đoán và điều trị . Báo cáo đề tài nghiên cứu khoa học cấp Bộ, Hà nội 1997.
5. E.IA.Graevski: Các nhóm Sylfhydryl và độ nhạy cảm phóng xạ, Atomizdat, Moskva,1969.
6. B.M.Kodenzova: Radiasionaia biologia Radiekologia, 1997, 37,3,360-365.
7. G.Kovazova: Radiobiologia, 1980,20,1,97-99.
8. Trịnh Tam Kiệt , Lê Xuân Thám : Tạp chí Dược học, 235,41-52.
9. Lê Đắc Liêu: Tác dụng của tia phóng xạ tới một số tính chất của màng sinh vật , Luận án PTS, Thư viện Quốc gia, Hà nội 1972.
10. Đỗ Tất Lợi : Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB KHKT, Hà nội 1991.

11. Đỗ Tất Lợi & CS: Nấm Linh chi nuôi trồng và sử dụng, NXB Nông Nghiệp, TP.HCM 1994.
12. T.Nakazawa: Radiation. Res, 1976,66,2,373-383.
13. Ngô Văn Thành: Nghiên cứu tác dụng BVPX của chế phẩm PG-2 trên động vật thực nghiệm, Luận án PTS, Thư viện Quốc gia, Hà nội 1995.
14. A.ATurduiev: Radiobiologia, 198,26,5,685-688.
15. C.B.Vanmukhanov: Radiobiologia,1969,9,3,373-377.
16. Vũ Đình Vinh & CS: Kỹ thuật y sinh hoá, Đại học Quân y, Hà nội 1974.
17. T.A.Xviderskaia: Radiobiologia, 1970,10,5,791-793.

EFFECT OF LINGZHI MUSHROOM (*GANODERMA LUCIDUM* KAST) ON THE WHITE MICE'S PEROXIDASE, CATALASE AND ASCOBATOXIDASE ACTIVITY UNDER GAMMA RAY RADIATION

Strong male white mice Swiss without lesion, 5-8 week age and with average weight 20-22g were undertaken the study.

The mice were divided into 3 groups.

Group 1: Biological control (mice without having Linghzi mushroom powder and radiation). Group 2: Radioactive control (mice without having Linghzi mushroom powder but radiated). Group 3: Experimental mice (mice had linghzi mushroom powder and were radiated). The mice of group 2 and 3 were radiated by gamma ray of dose 550R, 650R, 750R from chirobalt machines. The mice of group 3 linghzi mushroom with dose.

100mg/mouse a day equivalent 5g/kg body weight for 7 days in run (once/ a day) before receiving radiation. The mice were killed on the 3th, 7th, 10th, 15th, 20th and 30th days after radiation. Peripheral blood was taken for study showed that peroxidase, catalase and ascobatoxidase and ascobatoxidase activity while decreased catalase one in peripheral mice's blood for the first days after radiation. The peroxidase, catalase, ascobaxidase activity of the radiated mice after receiving Linghzi mushroom powder were step by step recovered.