# NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG GÂY TÊ VÀ GIẢM ĐAU CỦA TETRODOTOXIN Ở THỎ

LÊ XUÂN TÚ, VŨ VĂN HẠNH
*Viện Công nghệ sinh học*

Trong y học lâm sàng, vấn đề chống đau từ trước đến nay vẫn đang là vấn đề cần nghiên cứu một cách khẩn thiết, bởi vì có những cơn đau do bệnh tật đến mức đe dọa đến tính mạng của bệnh nhân như: đau viêm tuỵ cấp do thủng dạ dày, đau do co thắt mạch máu não, đau do phẫu thuật, đau do ung thư..., đồng thời cũng có những biện pháp mà y tế bắt buộc phải can thiệp để cứu sống người bệnh nhưng lại gây ra đau đớn cho người bệnh mà không thể không chống đau cho họ như: mổ cắt ruột thừa, khâu hoặc cắt lỗ thủng dạ dày, mổ sọ não hoặc các phẫu thuật ngoại khoa chấn thương nói chung.... Vì vậy việc nghiên cứu về tác dụng gây tê, tác dụng giảm đau của tetrodotoxin (TTX) có ý nghĩa rất to lớn đối với y học. Điều đáng chú ý là chất liệu nghiên cứu TTX được tách chiết từ cá nóc được đánh bắt ở vùng bờ biển Việt nam, là đúng theo phương hướng của ngành dược hiện nay không chỉ trong nước mà ở cả trên thế giới: khai thác cây- con thuốc để sử dụng. Cá nóc là một loại sinh vật biển có rất nhiều ở các vùng biển Việt Nam.

Do vậy, chúng tôi tiến hành các thí nghiệm đánh giá tác dụng gây tê, giảm đau của độc tố TTX, góp phần làm sáng tỏ tác dụng dược lý quý báu của độc tố này, để cung cấp thêm một nguồn dược liệu tự nhiên sẵn có của đất nước cho ngành công nghiệp dược phẩm.

## I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng

Độc tố TTX được tách chiết, tinh chế từ một số loài cá nóc của vùng biển miền Trung Việt Nam.

60 con chuột nhắt trắng Swiss có trọng lượng trung bình 20±2 g.

60 con chuột cống trắng Starr có trọng lượng trung bình 150±20 g.

30 con thỏ đực có trọng lượng trung bình 2,5±0,5 kg.

### 2. Phương pháp

*a) Nghiên cứu tác dụng gây tê của TTX*

Thỏ được sử dụng trong thí nghiệm làm gây tê có trọng lượng từ 2,5±0,5 kg. Thỏ được cố định vào khay và được cạo sạch lông ở quanh đùi và cẳng chân. Sau đó, dùng dao mổ rạch một đường ở trên da dài khoảng 5 cm và tách phần cơ để lộ hẳn ra khỏi da, dùng một sợi chỉ xuyên qua dưới cơ để tiện điều khiển nâng lên và hạ xuống. Thí nghiệm gây tê của TTX cũng được tiến hành với dây thần kinh toạ của thỏ.

Chế phẩm TTX được pha thành dạng dung dịch để bôi. Trong thí nghiệm, chúng tôi cũng sử dụng novocain 0,06 g để gây tê. Sau đó so sánh khả năng gây tê của TTX và novocain. Máy dùng để đo khả năng co cơ là Physiograph for Research and Education của công ty E& M Instrument company.INC. Houston, Texas USA.

Để ghi sự co cơ, chúng tôi cắm kim vào cơ đùi sau của thỏ, kim này được nối với máy đo khả năng co cơ bằng một sợi chỉ. Cắm hai điện cực vào bó cơ nơi bị tách ra và hai điện cực này được nối với nguồn điện ( ắc quy), sử dụng công tắc điện để tắt, mở với nguồn điện. Kích thích sự co cơ của thỏ với điện thế là 25 V, thời gian kích thích là 2 mili giây (ms). Mỗi lần kích thích bằng dòng điện thì cơ co lại rồi duỗi ra tạo thành một cơ co. Cơ co được truyền về máy ghi, một co cơ bao gồm biên độ co cơ và thời gian co cơ. Đường biểu diễn sự co cơ được ghi ở những thời điểm sau:

- Thời điểm bắt đầu ghi khi chưa bôi thuốc
- Thời điểm ghi ngay sau khi bôi thuốc
- Thời điểm cứ sau 5 phút lại một lần ghi.

Một lần ghi 3 co cơ, sau đó lấy trị số trung bình. Quá trình này được lặp lại với novocain 0,06 g

tiêm trực tiếp dưới da. Tác dụng gây tê của chế phẩm TTX và novocain được trình bày ở bảng 1 và hình 1.

*b) Nghiên cứu tác dụng giảm đau của TTX theo Koster*

Chuột thí nghiệm được chia ngẫu nhiên thành hai lô: lô thí nghiệm và lô đối chứng. Ở lô thí nghiệm, chuột bị gây đau bằng dung dịch axít axêtíc 2% tiêm trực tiếp vào phúc mạc, sau đó chuột được xử lý tiếp bằng dung dịch TTX cũng tiêm vào phúc mạc. Ở lô đối chứng, chuột bị gây đau bằng dung dịch axít axêtíc 2% được tiêm vào phúc mạc và không được xử lý bằng dung dịch TTX .

Đo số lần quặn đau của chuột ở lô đối chứng và lô thí nghiệm theo phương pháp Koster và xử lý kết quả thu được theo phương pháp thống kê sinh học

*c) Nghiên cứu tác dụng giảm đau của TTX theo Randall-Sellitor*

Chuột thí nghiệm được chia ngẫu nhiên làm 3 lô, cả 3 lô đều được gây đau bằng dung dịch phocmalin, tiếp đó được xử lý bằng thuốc giảm đau. Lô 1 được xử lý giảm đau bằng TTX. Lô 2 là lô đối chứng, chuột được xử lý bằng dung dịch NaCl. Lô 3 chuột được xử lý giảm đau bằng mocphin.

Theo dõi ngưỡng đau của mỗi lô chuột theo Randall- Selittor. Ngưỡng đau tính bằng gam/giây (g/s), là trọng lực ép lên mu bàn chân chuột được tính từ thời gian bắt đầu thí nghiệm cho đến khi chuột kêu rít hoặc rút chân ra khỏi trục ấn.

Hệ số giảm đau Randall – Selittor được tính theo công thức:

$$I = (W1 + W2 + ... + Wn) / Wo. n$$

trong đó: I: hệ số giảm đau

W1, W2, ..., Wn: ngưỡng cảm giác đau tại các thời điểm xác định

Wo: ngưỡng xuất phát ban đầu

Các số liệu thu được từ tác dụng gây tê và giảm đau của TTX được xử lý bằng phương pháp thống kê sinh học.

## II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Tác dụng của TTX đối với cơ cẳng chân của thỏ

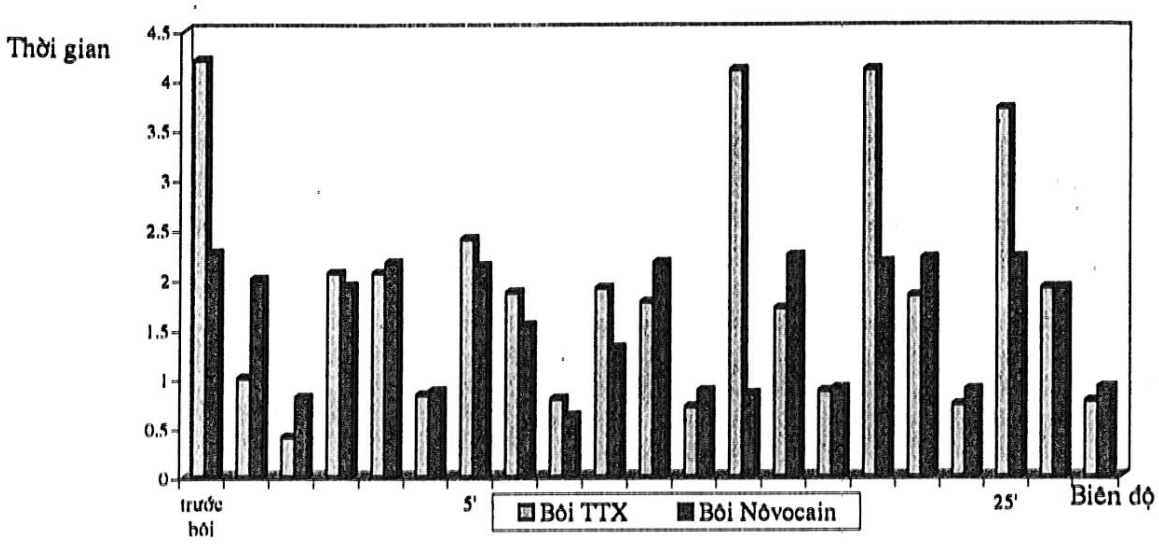
Tác dụng của TTX và novocain đối với cơ cẳng chân của thỏ được trình bày ở bảng 1, hình1. Kết quả trong bảng 1 cho thấy, sau khi bôi TTX được 10 phút, đã làm giảm biên độ co cơ của thỏ từ 4.2 cm/s xuống còn 1.9 cm/s, trong khi đó tiêm novocain làm giảm biên độ từ 2.26 cm/s xuống còn 1.3 cm/s. Như vậy, khoảng thời gian ngay sau khi xử lý đến khi xử lý được 10 phút thì không có sự khác biệt nhiều lắm về tác dụng làm giảm biên độ co cơ giữa TTX và novocain.

Sau khi xử lý thuốc từ 10 phút trở đi thì có sự khác biệt rõ ràng về tác dụng của TTX và của novocain: TTX làm giảm biên độ từ 4.1 cm/s xuống còn 3.7 cm/s và novocain từ 2.26 cm/s xuống còn 2.16 cm/s. Đặc biệt, sau khi bôi TTX được 15 phút thì biên độ co cơ của thỏ giảm mạnh và không có dấu hiệu phục hồi biên độ, trong khi đó tiêm novocain thì biên độ cũng giảm nhưng khoảng 25 phút sau khi tiêm thuốc thì biên độ co cơ có khả năng phục hồi. Điều đó chứng tỏ rằng tác dụng gây tê của TTX là mạnh hơn novocain.

*Bảng 1*

**Tác dụng của chế phẩm TTX và novocain đối với sự co cơ cẳng chân của thỏ**

| Thời điểm kích thích | Cơ cẳng chân | |
|---|---|---|
| | Bôi TTX | Tiêm novocain |
| Trước khi xử lý thuốc | 4.2 cm; 1.05 cm; 0.4 cm/s | 2.26 cm; 2.0 cm; 0.8 cm/s |
| Ngay sau khi bôi hoặc tiêm thuốc | 2.06 cm; 2.06 cm; 0.82 cm/s | 1.93 cm; 2.16 cm; 0.86 cm/s |
| Sau 5 phút | 2.4 cm; 1.86 cm; 0.78 cm/s | 2.13 cm; 1.53 cm; 0.61 cm/s |
| Sau 10 phút | 1.9 cm; 1.76 cm; 0.7 cm/s | 1.3 cm; 2.16 cm; 0.86 cm/s |
| Sau 15 phút | 4.1 cm; 1.7 cm; 0.68 cm/s | 0.83 cm; 2.23 cm; 0.89 cm/s |
| Sau 20 phút | 4.1 cm; 1.83 cm; 0.73 cm/s | 2.16 cm; 2.2 cm; 0.88 cm/s |
| Sau 25 phút | 3.7 cm; 1.9 cm; 0.76 cm/s | 2.20 cm; 1.9 cm; 0.9 cm/s |




*Hình 1.* Tác dụng của TTX và novocain đối với cơ cẳng chân

**2. Tác dụng của TTX và novocain đối với cơ đùi- thần kinh toạ của thỏ**

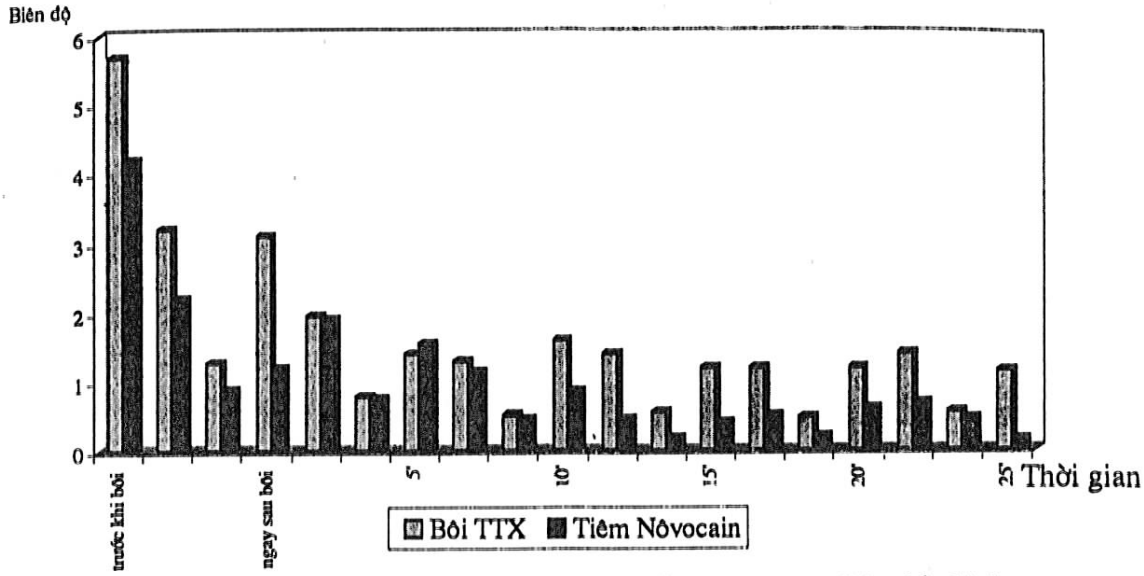
Tác dụng của TTX và novocain đối với cơ đùi - thần kinh toạ của thỏ được trình bày ở bảng 2 và hình 2. Kết quả nghiên cứu cho thấy, từ thời điểm bắt đầu bôi TTX và tiêm novocain đến khi được 5 phút thì biên độ co cơ đều giảm. Bôi TTX biên độ giảm từ 5.7 cm/s xuống 1.4 cm/s, còn tiêm novocain làm biên độ giảm từ 4.2 cm/s xuống còn 1.55 cm/s. Như vậy, ngay sau khi xử lý thuốc được 5 phút thì tác dụng gây tê của novocain và TTX là không khác biệt nhau.

Sau 10 phút trở đi, tác dụng gây tê của TTX và novocain khác biệt nhau rất rõ . TTX có tác dụng làm giảm biên độ co cơ đùi - thần kinh toạ của thỏ một cách từ từ (1.61cm/s ở phút thứ 10; 1.2cm/s ở phút 20 và xuống còn 1.16cm/s ở phút 25). Trong khi đó, novocain tác dụng làm giảm mạnh hơn (0.86 cm/s ở phút thứ 10; 0.41 cm/s ở phút 15 và còn 0.16 cm/s ở phút 25). Như vậy, TTX và novocain đều có tác dụng làm giảm biên độ co cơ đùi-thần kinh toạ của thỏ sau khi xử lý được 5 phút.

*Bảng 2*

**Tác dụng của chế phẩm TTX và novocain đối với cơ đùi - thần kinh toạ của thỏ**

| Thời điểm kích thích | Cơ đùi - thần kinh toạ | |
|---|---|---|
| | Bôi TTX | Tiêm novocain |
| Trước khi xử lý thuốc | 5.7 cm; 3.2 cm; 1.28 cm/s | 4.2 cm; 2.21 cm; 0.88 cm/s |
| Ngay sau khi bôi hoặc tiêm thuốc | 3.1 cm; 1.96 cm; 0.78 cm/s | 1.2 cm; 1.9 cm; 0.76 cm/s |
| Sau 5 phút | 1.4 cm; 1.3 cm; 0.52 cm/s | 1.55 cm; 1.16 cm; 0.46 cm/s |
| Sau 10 phút | 1.61 cm; 1.4 cm; 0.56 cm/s | 0.86 cm; 0.46 cm; 0.18 cm/s |
| Sau 15 phút | 1.2 cm; 1.2 cm; 0.48 cm/s | 0.41 cm; 0.51 cm; 0.2 cm/s |
| Sau 20 phút | 1.2 cm; 1.4 cm; 0.56 cm/s | 0.6 cm; 0.68 cm; 0.46 cm/s |
| Sau 25 phút | 1.16 cm; 1.3 cm; 0.52 cm/s | 0.16 cm; 0.91 cm; 0.36 cm/s |

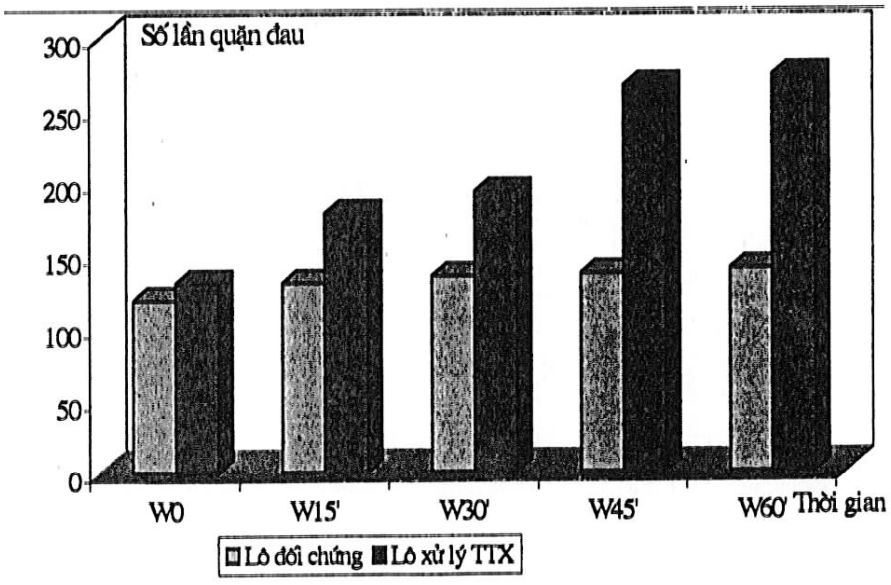



*Hình 2.* Tác dụng của TTX và novocain đối với sự co cơ đùi - thần kinh

### 3. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau của TTX theo Koster

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3 và hình 3 cho thấy tại thời điểm 5-10 phút thì số lần quặn đau của chuột ở lô đối chứng (13,11±4,62) so với lô xử lý TTX (9,17±2,65). Tại thời điểm 16-20 phút thì số lần quặn đau của chuột ở lô đối chứng (6,11±1,98) so với lô xử lý TTX (4,5±1,59). Đặc biệt, tại thời điểm 21-25 phút thì số lần quặn đau của lô đối chứng (7,33±2,13) so với lô xử lý TTX (3,67±1,63).

Như vậy, sau mỗi khoảng thời gian nhất định, TTX đều có tác dụng làm giảm số lần quặn đau cho chuột, khi chuột đã được gây đau bằng axít axêtíc. Kết quả nghiên cứu chứng tỏ rằng đối với chuột được xử lý TTX sau 20-25 phút thì tác dụng giảm đau có hiệu quả rõ rệt so với lô đối chứng.




*Hình 3.* Tác dụng giảm đau của TTX theo Koster

*Bảng 3*

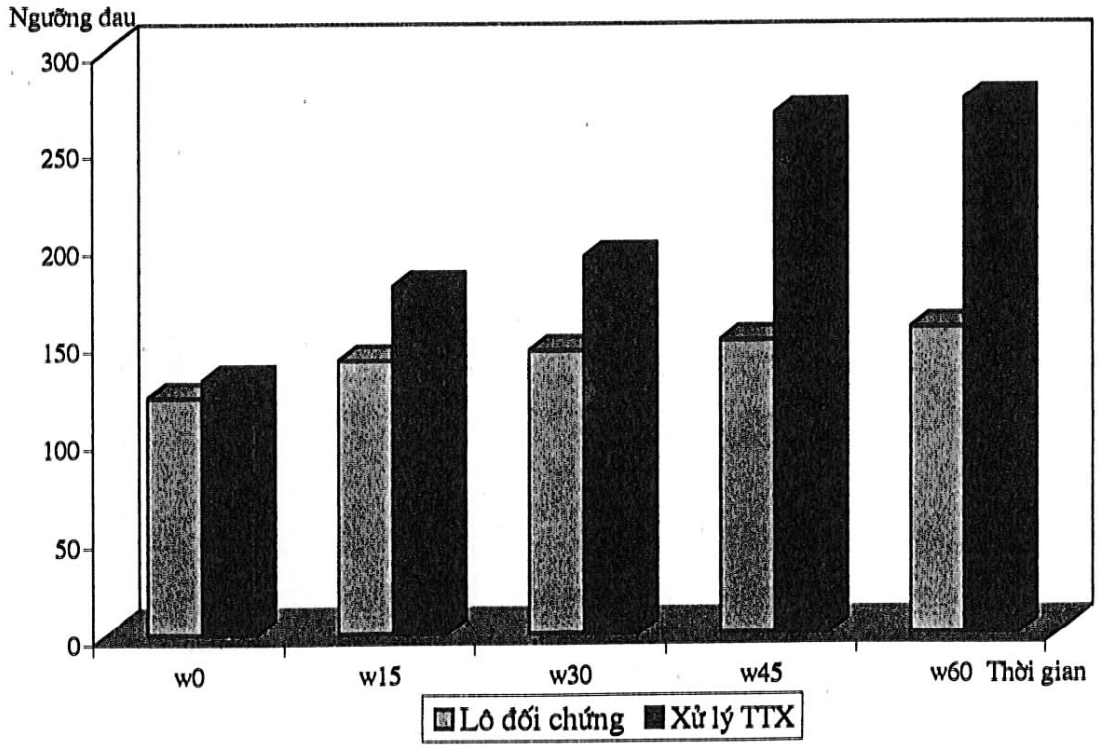
**Tác dụng giảm đau của TTX theo Koster**

| Lô chuột | Thời gian theo dõi – số lần quặn đau | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 5-10 phút | 11-15 phút | 16-20 phút | 21-25 phút |
| Lô đối chứng (n = 15) | 13.11±4.62 | 7.67±1.65 | 6.11±1,98 | 7.33±2.13 |
| Lô xử lý với TTX (n = 15) | 9.17±2.65 | 5.22±2.26 | 4.50±1,59 | 3.67±1.63 |
| P | <0.001 | 0.001 | 0.005 | 0.001 |

**4. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau của TTX theo Randall Sellitor**

Ngưỡng cảm giác đau được xác định bằng thống kế ***Analgesy-Meter*** trước và sau khi bôi TTX trên chuột cống trắng đã được gây đau bằng phocmalin. Kết quả nghiên cứu ở bảng 4 và hình 4 cho thấy tác dụng làm tăng ngưỡng chịu đau của TTX ở thời điểm ngay sau khi bôi thuốc (121,66±0,39) và có hiệu quả tăng dần sau 30 phút ngưỡng chịu đau (151,57±39,38). Đặc biệt, sau khi xử lý TTX được 60 phút ngưỡng chịu đau (175,87±39,28). Trong khi đó, tại lô chuột giảm đau bằng dung dịch NaCl thì thời điểm ngay sau xử lý (118,33±41,75) và ngưỡng chịu đau tăng dần dần theo thời gian, sau 60 phút ngưỡng chịu đau (140±27,93). Kết quả ở bảng 4 cũng chứng tỏ rằng tác dụng làm tăng ngưỡng chịu đau của TTX là mạnh hơn NaCl.

Thí nghiệm về tác dụng giảm đau của TTX và NaCl cũng được tiến hành song song ở chân phải và chân trái. Kết quả nghiên cứu cho thấy tác dụng giảm đau của TTX đối với chân phải và chân trái của chuột là có sự khác biệt đáng kể.



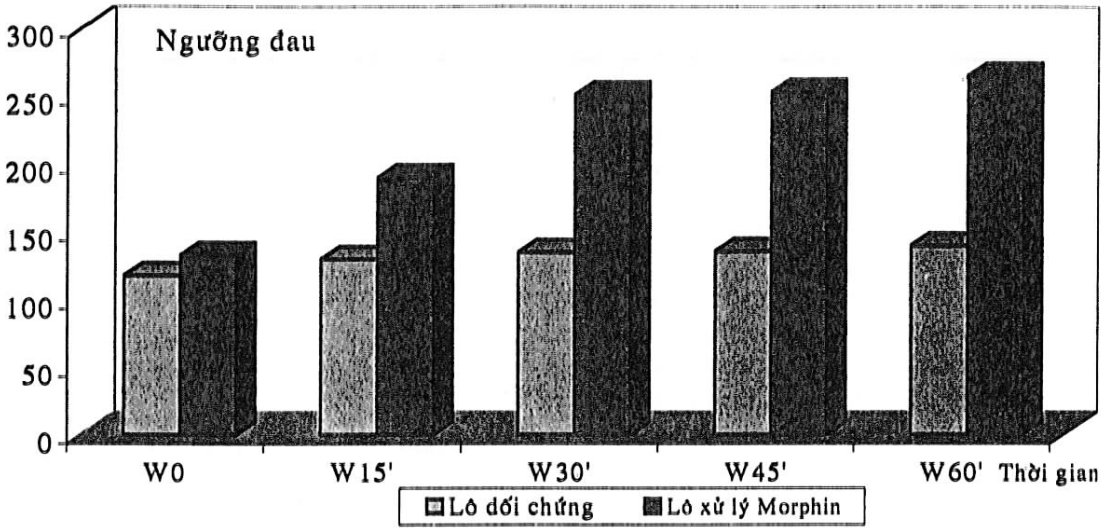

*Hình 4*. Tác dụng thay đổi ngưỡng đau ở chuột gây bởi TTX

*Bảng 4*

**Tác dụng thay đổi ngưỡng đau ở chuột bởi TTX**

| Lô chuột | Chân | Wo $\bar{X}$±SD | W15′ $\bar{X}$±SD | W30′ $\bar{X}$±SD | W45′ $\bar{X}$±SD | W60′ $\bar{X}$±SD | I=(W15′ +..W60) / 5.Wo |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lô xử lý bằng TTX | Trái | 121.66± 0.39 | 112.50± 17. 87 | 151.57± 39.38 | 155.28± 2, 83 | 175.87± 39, 28 | 1.2230±0.05 P < 0.001 |
| | Phải | 130.38± 8. 79 | 178.33± 3. 09 | 193.33± 36. 66 | 266.67± 36. 15 | 273.66± 38. 29 | 1.7487±0.001 P < 0.001 |
| Lô đối chứng | Trái | 118.33± 41 75 | 130.00± 39. 83 | 135.00± 38, 45 | 136.67± 45. 43 | 140.00± 27. 93 | 1. 144±0.05 P < 0.001 |
| | Phải | 121.67± 21 97 | 140.00± 27. 93 | 145.00± 42. 17 | 150,33± 62. 04 | 156.67± 42. 17 | 1.2164±0.05 P < 0.001 |

**5. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau của mocphin theo Randall-Sellitor**




*Hình 5* - Tác dụng thay đổi ngưỡng đau ở chuột gây bởi mocphin

*Bảng 5*

**Tác dụng thay đổi ngưỡng đau ở chuột bởi mocphin**

| Lô chuột | Chân | Wo $\bar{X}$±SD | W15′ $\bar{X}$±SD | W30′ $\bar{X}$±SD | W45′ $\bar{X}$±SD | W60′ $\bar{X}$±SD | I= (W15′+ ... + W60′) / Wo . 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lô đối chứng | Trái | 118.33± 41.75 | 130.00± 39.83 | 135.00± 38.45 | 136.67± 45.43 | 140.00± 27.93 | 1.144±0.05 P < 0.05 |
| | Phải | 121.67± 21.97 | 140.00± 27.93 | 145.00± 42.17 | 150.33± 62.04 | 156.67± 42.17 | 1.2164±0.05 P < 0.05 |
| Lô xử lý mocphin | Trái | 133.75± 12.24 | 190.77± 21.71 | 251.25± 3.25 | 253.75± 31,61 | 265.35± 38.83 | 1.7998±0.001 P < 0.001 |
| | Phải | 133.75± 24.92 | 192.55± 92.73 | 313.75± 33.96 | 292.23± 36.89 | 286.25± 38.66 | 2.0314±0.001 P < 0.001 |

Kết quả nghiên cứu ở bảng 5 và hình 5 cho thấy, tại thời điểm ngay sau khi xử lý mocphin ngưỡng chịu đau của chuột (133,75±12,24) còn lô đối chứng (118,33±41,75). Sau khoảng 15 phút, ở lô xử lý mocphin (190,77±21,71) còn lô đối chứng (130,00±39,83). Sau khoảng 60 phút, lô xử lý mocphin (265,35±38,83) còn lô đối chứng (140,00±27,930). Như vậy, có thể thấy mức độ tác dụng giảm đau của mocphin tỷ lệ thuận với thời gian xử lý mocphin ở chuột. Tác dụng giảm đau có hiệu quả rõ rệt tại thời điểm 30'-45 phút sau khi xử lý thuốc. Thí nghiệm cũng được tiến hành đồng thời trên chân phải và chân trái, kết quả thí nghiệm cho thấy có sự khác biệt đáng kể giữa chân phải và chân trái.

Hệ số giảm đau của lô thí nghiệm xử lý bằng mocphin (1,799±0,001) còn lô đối chứng (1,144±0,05), hệ số giảm đau của lô thí nghiệm xử lý TTX (1,748±0,001). Như vậy, căn cứ vào hệ số giảm đau "I", có thể thấy tác dụng giảm đau của TTX và mocphin tương đối giống nhau.

## III. KẾT LUẬN

1. Tác dụng giảm đau của TTX và mocphin có hiệu quả giống nhau. Hệ số giảm đau của TTX là (1.7487±0.05) và của mocphin là (1.7998±0.001). Hiệu quả giảm đau của TTX và mocphin thể hiện rõ sau 30 phút xử lý thuốc.

2. Tác dụng gây tê của TTX và novocain đối với cẳng chân, cơ đùi -thần kinh toạ có hiêu quả giống nhau ở giai đoạn đầu. Sau 10 phút xử lý thuốc thì tác dụng gây tê của TTX và novocain có sự khác nhau đáng kể.

## *TÀI LIỆU THAM KHẢO*


1. **Lê Xuân Tú, Lê Quang Huấn, Vũ Văn Hạnh**, 1999: Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị KHCN biển toàn quốc lần thứ 4: 878-882.
2. **Andreas Scholz et al.**, 1997: Complex Blockade of TTX-Resistant Na+ Currents by Lidocaine and Bupivacaine Reduce Firing Frequency in DRG Neurons. Physiologisches Institut, Justus-Liebig-Universitet Giessen, Aulweg 129, D-35392 Giessen, Germany.
3. **Brau M. E. et al.**, 2000: Anesth. Analg. Dec., 91(6):1499-1505.
4. **Chen J. et al.**, 1997: Gene, 202(1-2):7-14.
5. **Duan S.**, Cooke I. M., 1999: *J.*Neurophysiol., 81(4):1848-55.
6. **Gosling M. et al.**, 1998: *J.* Biol Chem. 273(33): 2108421090.
7. **Kaneko Y., Matsumoto G., Hanyu Y.**, 1997: Biochem Biophys Res. Commun., 240(3): 651.
8. **Lapied B. et al.**, 1999: *Enr.* Neurosci. Apr; 11(4):1449-1460.


# EFFECT OF TETRODOTOXIN ON THE ANAESTHESIA AND PAIN RELIEF IN RABBIT


LE XUAN TU, VU VAN HANH



## SUMMARY

Tetrodotoxin has effect on the pain-relief as morphin. The pain-relief coefficient of tetrodotoxin is 1.7487±0.05 and of morphin is 1.7998±0.001. The effect of tetrodotoxin and of morphin on the pain-relief is really expressed after 30 minutes of treatment. At few first minutes, tetrodotoxin has effect on the anaesthesia as novocain on legmuscles, haunch and sciaticnerver. After ten minutes of treatment, the anaesthetic effect of tetrodotoxin and of novocain has a great difference.



*Ngày nhận bài: 23-8-2002*