

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG BẢO VỆ TẾ BÀO THẦN KINH CỦA ω -CONOTOXIN MVIIA TÁI TỔ HỢP Ở DẠNG DUNG HỢP VỚI THIOREDOXIN

Bùi Thị Huyền, Đoàn Việt Bình*, Nguyễn Thị Kim Dung,
Lê Thị Bích Thảo, Nguyễn Bích Nhi, Phan Văn Chi

Viện Công nghệ sinh học, *dvietbinh@yahoo.com

TÓM TẮT: Omega-conotoxin MVIIA là một loại peptide có tác dụng khoá chọn lọc các kênh ion Ca^{2+} tại các khớp của tế bào thần kinh và do đó, có tác dụng hạn chế dòng Ca^{2+} tràn vào trong tế bào và bảo vệ tế bào thần kinh. Báo cáo này trình bày kết quả thử nghiệm tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh của Omega-conotoxin MVIIA tái tổ hợp ở dạng dung hợp với thioredoxin (Trx-CTX) do Viện Công nghệ sinh học chế tạo trên mô hình chuột nhắt thiếu máu toàn bộ não trong 5 phút và 10 phút và mô hình chuột nhắt thiếu máu cục bộ não. Trx-CTX được tiêm tĩnh mạch một lần với liều 5 hoặc 10 mg/kg trong mô hình thiếu máu toàn bộ não và tiêm hai lần liều 5 mg/kg trong mô hình thiếu máu cục bộ não. Kết quả cho thấy Trx-CTX có tác dụng giảm số tế bào CA1 của vùng đồi hải mã bị chết, giảm thể tích não bị tổn thương và có tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh trong các mô hình trên. Trx-CTX có thể được sử dụng làm nguyên liệu cho các công trình nghiên cứu tiếp theo với mục đích làm thuốc chữa bệnh cho người.

Từ khóa: Bảo vệ thần kinh, conotoxin, đột quy, omega-conotoxin MVIIA, Trx-CTX.

MỞ ĐẦU

Ca^{2+} có vai trò quan trọng trong hoạt động của tế bào thần kinh. Ca^{2+} tham gia vào quá trình dẫn truyền tín hiệu thần kinh, trực tiếp điều hòa hoạt động của protein màng, của các enzym và các protein tham gia điều hòa quá trình sao chép trong biểu hiện gen. Ở trạng thái hoạt động bình thường, hàm lượng Ca^{2+} trong và ngoài tế bào thần kinh được giữ ở trạng thái cân bằng bởi các cơ chế rất tinh vi [16]. Các cơ chế này hoạt động phụ thuộc rất chặt chẽ vào trạng thái năng lượng cũng như vào hoạt động của tế bào và giúp cho lượng Ca^{2+} trong tế bào được giữ ổn định trong một giới hạn rộng. Tuy nhiên, nếu lượng Ca^{2+} trong tế bào vượt quá giới hạn này thì Ca^{2+} sẽ gây ra một loạt các phản ứng có hại cho tế bào và có thể làm tế bào bị chết [7].

Đột quy là một bệnh hay xảy ra ở những người cao tuổi hoặc những bệnh nhân bị bệnh tim mạch và thường để lại di chứng nguy hiểm. Trong cơn đột quy, do mạch máu bị nghẽn lại, máu không đưa được đến một số vùng của não làm cho những vùng não này không được cung cấp đủ ô xy và năng lượng. Sự thiếu hụt năng lượng sẽ làm cho màng tế bào bị khử cực và phá vỡ sự cân bằng Ca^{2+} . Hàm lượng Ca^{2+} trong tế bào tăng vượt quá giới hạn và làm tế bào thần kinh bị tổn thương [7].

Để chống lại tác hại gây ra do Ca^{2+} tăng đột ngột trong cơn đột quy, gần đây, người ta chú ý đến những loại chất có khả năng chặn dòng Ca^{2+} từ bên ngoài vào trong tế bào qua các kênh ion và do đó có thể có tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh. Nhiều loại thuốc này đã chứng tỏ có hiệu quả trên động vật thực nghiệm [11, 12, 14].

Omega-conotoxin MVIIA là một loại peptide nhỏ được tách chiết từ bầu độc của loài ốc cối biển *C. magus*, có tác dụng khoá chọn lọc các kênh ion Ca^{2+} tại các khớp (synapse) của tế bào thần kinh [2, 8]. Cho đến nay, đã có nhiều công trình nghiên cứu chứng minh một số loại ω -conotoxin MVIIA tổng hợp hóa học có khả năng bảo vệ tế bào thần kinh trên mô hình gây thiếu máu não thực nghiệm [4, 13, 15].

Omega-conotoxin MVIIA đã được tách dòng, biểu hiện trước tiên ở dạng protein dung hợp với thioredoxin (Trx-CTX), sau đó được tinh chế thành công (ω -CTX) tại Phòng Hóa sinh protein, Viện Công nghệ sinh học. Omega-conotoxin MVIIA ở dạng protein dung hợp có thể được sản xuất với khối lượng lớn và được tinh chế theo một quy trình không phức tạp [6], vì vậy sẽ rất thuận lợi nếu được dùng làm thuốc.

Bài báo này trình bày các kết quả nghiên cứu khả năng sử dụng Trx-CTX do Viện Công nghệ sinh học tạo ra để bảo vệ tế bào thần kinh

trên mô hình gây đột quy thực nghiệm trên chuột nhất.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu

Trx-CTX chế tạo tại Phòng Hoá sinh protein, Viện Công nghệ sinh học. Ketamin của hãng Rhône Méréux, 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride (TTC) của Merck, chỉ khâu Surelon® của Suremed (USP size 6/0), hematoxylin - eosin của hãng Thermo Shandon, kính hiển vi BX51 của hãng Olympus.

Chuột thí nghiệm là chuột nhất trắng dòng Swiss, giống đực, 2 tháng tuổi, trọng lượng trung bình là 40g/con, nuôi bằng thức ăn viên có thành phần protein 23%, mỡ 5%, carbohydrate 45-55%, xơ 5%.

Phương pháp

Mô hình thiếu máu toàn bộ não

Thiếu máu trong 5 phút

Mô hình thiếu máu toàn bộ não được thực hiện theo phương pháp của Valentino et al. (1993) [15]. Chuột được gây mê bằng ketamin với liều 60µg/g, sau đó được cố định nằm ngửa trên bàn mổ. Dùng dao mổ rạch một đường ở giữa cổ dài khoảng 1-2 cm qua da cổ chuột rồi bóc tách cho đến khi nhìn thấy động mạch cảnh hai bên. Dùng kim luồn sợi chỉ khâu tách động mạch cảnh hai bên rồi thắt lại. Sau 5 phút thì nói lỏng, rồi tháo hẳn sợi chỉ ra. Sau đó khâu lớp da ngoài lại. Chuột ở lô thí nghiệm liền sau khi tháo chỉ thắt động mạch cảnh 45 phút, được tiêm vào tĩnh mạch Trx-CTX với liều 5 mg/kg. Sau 24 giờ thì giết chuột, mổ lấy não, cố định não trong dung dịch phóc môn trung tính, đúc parafin, cắt lát và nhuộm tiêu bản bằng hematoxylin-eosin rồi đọc và chụp mẫu tiêu bản trên kính hiển vi.

Thiếu máu trong 10 phút

Chuột được gây mê, mổ như trên, rồi thắt động mạch cảnh hai bên. Sau 10 phút thì nói lỏng, rồi tháo hẳn sợi chỉ ra. Sau đó khâu lớp da ngoài lại. Chuột ở lô thí nghiệm liền sau khi tháo chỉ thắt động mạch cảnh 45 phút, được tiêm vào tĩnh mạch Trx-CTX với liều 10 mg/kg. Sau 120 giờ thì giết chuột, mổ lấy não, cắt lát và nhuộm tiêu bản bằng hematoxylin-eosin rồi

đọc và chụp mẫu tiêu bản trên kính hiển vi.

Mô hình thiếu máu cục bộ não

Hai mươi con chuột được chia đều thành 2 lô, mỗi lô 10 con. Mô hình thiếu máu cục bộ não được tiến hành theo phương pháp của Pinte et al. (2011) [10] có cải tiến như sau: chuột được gây mê bằng ketamin với liều 60µg/g, sau đó được cố định nằm ngửa trên bàn mổ. Dùng dao mổ rạch một đường ở giữa cổ, khoảng 1-2cm qua da cổ chuột rồi bóc tách cho đến khi nhìn thấy động mạch cảnh bên trái và chỗ chạc ba chia thành hai nhánh. Dùng kim luồn sợi chỉ phẫu thuật (6/0) tách động mạch cảnh bên trái trong (left internal carotid artery) rồi thắt chỉ lại. Cứ để nút thắt như vậy rồi khâu lớp da ngoài lại. Chuột ở lô thí nghiệm liền sau khi tháo chỉ thắt động mạch cảnh 30 phút, được tiêm vào tĩnh mạch Trx-CTX với liều 5 mg/kg và sau 60 phút được tiêm nhắc lại với liều như trên. Sau 24 giờ thì quan sát, đánh giá trạng thái thần kinh để cho điểm theo thang điểm của Berdeson et al. (1986) [1]. Sau 48 giờ giết chuột, mổ lấy não, nhuộm TTC để xác định thể tích phần não bị tổn thương hoặc cố định não trong dung dịch formol trung tính, đúc parafin, cắt lát và nhuộm tiêu bản bằng hematoxylin-eosin rồi đọc và chụp mẫu tiêu bản trên kính hiển vi.

Đánh giá mức độ tổn thương thần kinh

Mức độ tổn thương thần kinh của chuột sau khi mổ được tiến hành đánh giá sau khi mổ 24 giờ và cho điểm theo phương pháp của Berdeson et al. (1986) [1]. Điểm 0: chuột vận động bình thường, không có biểu hiện tổn thương thần kinh; điểm 1: chuột bị cong gập chân trước; điểm 2: chuột bị đẩy trôi về phía tay bị liệt; điểm 3: Chuột có biểu hiện chạy vòng tròn.

Đo thể tích phần não bị tổn thương

Phần não chuột bị tổn thương được xác định theo phương pháp của Pateliya et al. (2008) [9] có cải tiến như sau: não chuột được cắt thành những lát cắt có chiều dày 1mm rồi nhuộm các lát cắt trong dung dịch TTC 1% trong 30 phút. Lát cắt sẽ có những vùng bắt màu đỏ không đều nhau: đỏ sẫm hoặc hồng tái nhạt. Vùng bắt màu ít hơn chính là vùng não bị tổn thương. Sau đó đặt lát cắt trên một phiến kính. Trên bề mặt lát cắt đặt một tấm nylon mỏng trong suốt có kẻ các ô vuông nhỏ có diện tích 1 mm². Đếm các ô

vuông nhỏ để tính thể tích phần não bị tổn thương và thể tích của mỗi lát cắt. Cuối cùng cộng các số liệu trên tất cả các lát cắt lại để tính tổng số.

Nghiên cứu tổ chức học mô não

Não của chuột tại phần lưng của vùng hải mã (dorsal hippocampus) được cắt thành các lát dày 7 μm để nhuộm HE và quan sát hình thái các tế bào thần kinh CA1 (hình 1).



Hình 1. Hình ảnh nhuộm HE của lát cắt vùng lưng đồi hải mã với tế bào CA1 (hình chữ nhật). Độ phóng đại 40 lần.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Tác dụng của Trx-CTX trong trường hợp thiếu máu toàn bộ não

Thiếu máu trong 5 phút

Kết quả nghiên cứu tổ chức học của mẫu

não chuột cho thấy, não chuột bị thiếu máu trong 5 phút có nhiều tế bào CA1 của đồi hải mã có biểu hiện bị mất màng tế bào, nguyên sinh chất tăng bắt màu đỏ bị vón lại, hoặc chỉ còn là những mảnh vụn (hình 2A), chúng tỏ những tế bào này đã bị thương tổn, thậm chí bị chết. Trong khi đó, chuột bị thiếu máu não nhưng được tiêm Trx-CTX có đa số tế bào thần kinh có hình ảnh tế bào bình thường, chỉ có rất ít tế bào có biểu hiện bị tổn thương (hình 2B).

Thiếu máu trong 10 phút

Não chuột bị thiếu máu trong 10 phút có biểu hiện bị tổn thương nặng hơn chuột bị thiếu máu trong 5 phút. Tuy nhiên, não chuột được tiêm Trx-CTX (hình 3D) vẫn có ít tế bào bị tổn thương hơn não chuột không được tiêm (hình 3C).

Tác dụng của Trx-CTX trong trường hợp thiếu máu cục bộ não

Đánh giá mức độ tổn thương thần kinh

Kết quả xác định mức độ tổn thương não theo thang điểm của Berdeson et al. (1986) [1] cho thấy chuột ở lô đối chứng không được tiêm Trx-CTX có mức độ não bị tổn thương nặng hơn (nhiều con bị cong gập cổ chân trước, bị liệt nhẹ chân trước phải và có xu hướng chạy vòng tròn) và do đó có số điểm cao hơn so với chuột ở lô thí nghiệm được tiêm Trx-CTX (đa số chuột chỉ bị cong nhẹ cổ chân trước phải, chạy đều hai bên) (bảng 1).

Bảng 1. Kết quả xác định mức độ tổn thương của não và đo thể tích phần não bị tổn thương

Chỉ tiêu	Lô đối chứng	Lô thí nghiệm
Mức độ tổn thương của não (điểm)	$2,38 \pm 0,32$	$0,93 \pm 0,13$
Thể tích não bị tổn thương (mm^3)	$22,00 \pm 2,70$	$11,44 \pm 1,17$

Đo thể tích não bị tổn thương

Thể tích não bị tổn thương của chuột ở lô đối chứng đo được là $22,00 \text{ mm}^3$, nhiều hơn hẳn so với lô thí nghiệm là $11,44 \text{ mm}^3$.

Tổ chức học mô não

Não chuột của lô đối chứng không được tiêm Trx-CTX bị tổn thương nhiều hơn lô thí nghiệm được tiêm Trx-CTX cũng thể hiện rõ trên hình ảnh tổ chức học của mô não (hình 4). Não chuột của lô đối chứng có nhiều tế bào

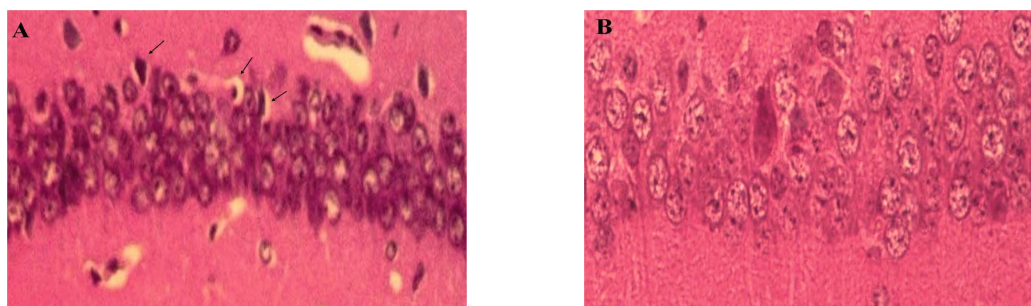
CA1 bị chết (hình 4E), trong khi đa số tế bào của não chuột lô thí nghiệm đều có hình ảnh bình thường, không bị thương tổn (hình 4F).

THẢO LUẬN

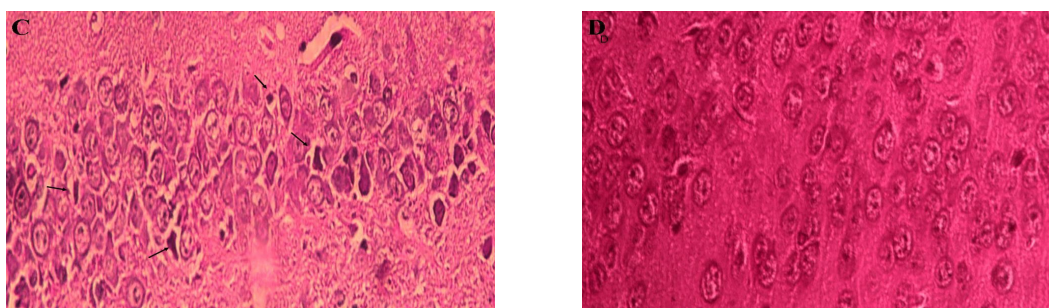
Đột quy là một bệnh nguy hiểm, thường xảy ra do động mạch cảnh hay nhánh lên não của nó bị tắt lại hay bị tắc hoàn toàn. Trong trường hợp này, lượng máu lên não bị giảm mạnh, làm cho não bị thiếu ô xy. Khi đó sẽ xảy ra một loạt các phản ứng như tăng cường đường phân hiếu khí

dẫn đến cạn kiệt ATP làm cho màng tế bào bị phân cực. Tế bào tăng cường tích lũy glutamate và sự tích lũy chất này làm tăng đột ngột lượng Ca^{2+} đi vào trong tế bào. Ca^{2+} sẽ hoạt hóa các

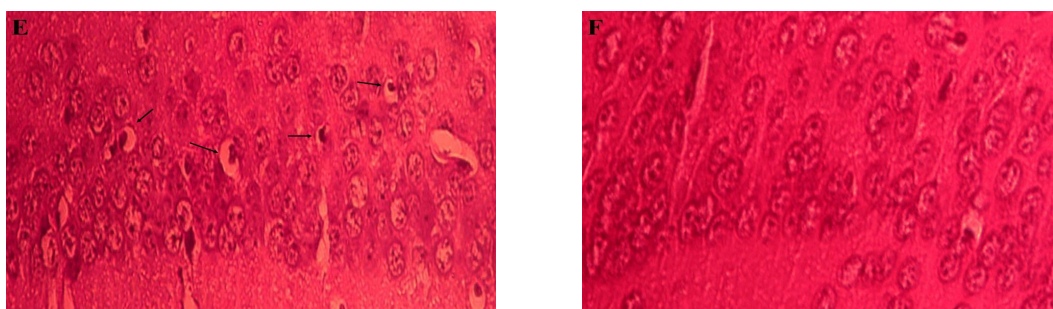
enzym protease, phospholipase và những enzym này kết hợp với nhiều chất khác sẽ phá hủy màng tế bào, các vi sợi, ty thể của tế bào thần kinh và cuối cùng là làm chết tế bào [16].



Hình 2. Ảnh nhuộm HE tế bào CA1 não chuột thiếu máu toàn bộ não trong 5 phút
A. Chuột đối chứng (mũi tên chỉ tế bào bị chết); B. Chuột tiêm Trx-CTX. Độ phóng đại 400 lần.



Hình 3. Ảnh nhuộm HE tế bào CA1 não chuột thiếu máu toàn bộ não trong 10 phút
C. Chuột đối chứng (mũi tên chỉ tế bào bị tổn thương); D. Chuột tiêm Trx-CTX . Độ phóng đại 400 lần.



Hình 4. Ảnh nhuộm HE tế bào CA1 não chuột thắt động mạch cảnh trái trong vĩnh viễn.
E. Chuột đối chứng (mũi tên chỉ tế bào bị tổn thương); F. Chuột tiêm Trx-CTX . Độ phóng đại 400 lần.

Vùng não thường hay bị tổn thương nhiều nhất do thiếu máu não là vùng đồi hải mã, đặc biệt là các tế bào CA1 của nó. Đây cũng là vùng có vai trò rất quan trọng đối với trí nhớ của con người. Chính vì vậy, các công trình nghiên cứu về tổn thương não do đột quy thường tập trung nghiên cứu về vùng này.

Trong thí nghiệm, chúng tôi đã sử dụng các mô hình gây thiếu máu não khác nhau: mô hình

gây thiếu máu não toàn bộ và mô hình thiếu máu não cục bộ. Trong mô hình thiếu máu não toàn bộ, thời gian thiếu máu não ngắn, trong 5 phút và trong 10 phút. Sau đó thời gian nuôi chuột tiếp theo cũng khác nhau, tương ứng là 24 giờ và 120 giờ. Kết quả trong cả 2 mô hình đều cho thấy não bị tổn thương với mức độ khác nhau: chuột thiếu máu trong 10 phút và giết mổ sau 120 giờ có số lượng tế bào não chết nhiều

hơn chuột thiếu máu não trong 5 phút và giết mổ sau 24 giờ. Điều đó cho thấy, mức độ tổn thương của não phụ thuộc không những vào thời gian não bị thiếu máu mà còn vào thời gian xảy ra sau đó. Kết quả này phù hợp với kết quả thí nghiệm của Colbourne et al. (1999) [5]. Tuy nhiên, cả 2 mô hình thí nghiệm đều cho thấy, chuột được tiêm Trx-CTX có não ít bị tổn thương hơn chuột không được tiêm, chứng tỏ Trx-CTX đã chặn được phần nào dòng Ca^{2+} tràn vào quá mức trong tế bào thần kinh khi não bị thiếu máu và do đó đã có tác dụng bảo vệ các tế bào thần kinh.

Tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh của Trx-CTX một lần nữa được khẳng định và được thể hiện rõ trong mô hình thiếu máu não cục bộ. Các kết quả đo thể tích não bị phá hủy, xác định mức độ tổn thương não và kết quả nghiên cứu tổ chức học đều cho thấy não chuột được tiêm Trx-CTX ít bị tổn thương hơn. Như vậy, Trx-CTX không những chỉ có tác dụng đối với trường hợp não bị thiếu máu thoáng qua mà còn có tác dụng khi một phần của não bị thiếu máu trong một thời gian dài. Những kết quả này rất có ý nghĩa trong việc tìm ra một loại thuốc mới điều trị cho bệnh đột quỵ ở người.

Trong một công trình nghiên cứu khác [6], chúng tôi cũng đã xác định được Trx-CTX có hoạt tính giảm đau rất tốt. Trx-CTX có thể được sản xuất với khối lượng lớn và được tinh chế theo một quy trình không phức tạp. Vì vậy, có thể sử dụng Trx-CTX làm nguyên liệu cho các công trình nghiên cứu tiếp theo với mục đích làm thuốc chữa bệnh cho người.

KẾT LUẬN

Omega-conotoxin MVIIA ở dạng protein dung hợp do Viện Công nghệ sinh học tạo ra có tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh trên mô hình chuột nhắt bị thiếu máu não toàn bộ và mô hình thiếu máu não cục bộ.

Lời cảm ơn: Công trình được tài trợ bởi kinh phí của đề tài cấp Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam (2011-2012, mã số: VAST03.02/11-12.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bederson J. B., L. H. Pitts, M. Tsuji, M. C. Nishimura, R. L. Davis, Bartkowski H.,

1986. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke*, 17: 472-476.

2. Bingham J. P., Mitsunaga E., Bergeron Z. L., 2010. Drugs from slugs-Past, present and future perspectives of ω -conotoxin research. *Chemico-Biological Interactions*, 183: 1-18.
3. Đoàn Việt Bình, Bùi Thị Huyền, Nguyễn Thị Kim Dung, Lê Thị Bích Thảo, Nguyễn Bích Nhi, Phan Văn Chi, 2012. Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng giảm đau của ω -conotoxin MVIIA ở dạng dung hợp với thioredoxin. *Tạp chí Sinh học*, 34(2): 241-245.
4. Buchan A. M., Gertler S. Z., Li H., Xue D., Huang Z. G., Chaundy K. E., Barnes K., Lesiuk H. J., 1994. A Selective N-Type Ca^{2+} -Channel Blocker Prevents CAI Injury 24 h Following Severe Forebrain Ischemia and Reduces Infarction Following Focal Ischemia. *J. Cereb. Blood. Flow. Metab.*, 14(6): 903-910.
5. Colbourne F., Li H., Buchan A. M., Clemens J. A., 1999. Continuing Postischemic Neuronal Death in CAI : Influence of Ischemia Duration and Cytoprotective Doses of NBQX and SNX-111 in Rats. *Stroke*, 30: 662-668.
6. Bùi Thị Huyền, Lê Thị Bích Thảo, Nguyễn Bích Nhi, Phan Văn Chi, 2010. Biểu hiện và tinh chế ω -conotoxin MVIIA (CTX MVIIA) ở *E. coli*. *Tạp chí Sinh học*, 32(2): 89-93.
7. Lazarewicz J. W., 1996. Calcium transients in brain ischemia: role in neuronal injury. *Acta. Neurobiol. Exp.*, 56: 299-311.
8. Olivera B. M., 2000. Omega-Conotoxin MVIIA: From Marine Snail Venom to Analgesic Drug. *Drugs from the Sea*: 74-85.
9. Pateliya B. B., Singh N., Jaggi A. S., 2008. Possible Role of Opioids and KAT P Channels in Neuroprotective Effect of Postconditioning in Mice, *Biol. Pharm. Bull.*, 31(9): 1755-1760.
10. Pinte I. L., Role E., A. T. Bălceanu, Pirici I., O. T. Pop, L. Mogoantă., 2011. Study of cellular changes induced by moderate

- cerebral ischemia achieved through internal carotid artery ligation. *Rom J. Morphol. Embryol.*, 52(4): 1347-1353.
11. Pitkänen A., Longhi L., Marklund N., Morales D. M., McIntosh T. K., 2005. Neurodegeneration and neuroprotective strategies after traumatic brain injury. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*, 2(4): 409-418.
 12. Takahara A., Konda T., Enomoto A., Kondo N., 2004. Neuroprotective Effects of a Dual L/N-type Ca^{2+} channel Blocker Cilnidipine in the Rat Focal Brain Ischemia Model, *Biol. Pharm. Bull.*, 27(9): 1388-1391
 13. Takizawa S., Matsushima K., Fujita H., Nanri K., Ogawa S., Shinohara Y., 1995. A Selective N-Type Calcium Channel Antagonist Reduces Extracellular Glutamate Release and Infarct Volume in Focal Cerebral Ischemia, *J. Cereb. Blood Flow. Metab.*, 15: 611-618.
 14. Twede V. D., Miljanich G., Olivera B. M., Bulaj G., 2009. Neuroprotective and cardioprotective conopeptides: An emerging class of drug leads. *Curr Opin Drug Discov. Devel.*, 12(2): 231-239.
 15. Valentino K., Newcomb R., Gadbois T., T. Singh, S. Bowersox, S. Bitner, A. Justice, D. Yamashiro, B. B. Hoffman, R. Ciaranello, G. Miljanich, J. Ramachandran, 1993. A selective N-type calcium channel antagonist protects against neuronal loss after global cerebral ischemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 7894-7897.
 16. Zuendorf G. and Reiser G., 2011. Calcium Dysregulation and Homeostasis of Neural Calcium in the Molecular Mechanisms of Neurodegenerative Diseases Provide Multiple Targets for Neuroprotection. *Antioxidants & Redox signaling*, 14(7): 1275-1288.

RESEARCH ON NEUROPROTECTIVE EFFECTS OF A FUSION PROTEIN OF ω -CONOTOXIN MVIIA AND THIOREDOXIN

**Bui Thi Huyen, Doan Viet Binh, Nguyen Thi Kim Dung,
Le Thi Bich Thao, Nguyen Bich Nhi, Phan Van Chi**

Institute of Biotechnology, VAST

SUMMARY

Ischemic stroke is one of the most dangerous human diseases. Blood supply to the brain is decreased initiating the ischemic cascade with the consequence of a Ca^{2+} influx into nerve-cells. This Ca^{2+} influx can then cause neuronal injury or death of cells. Omega-conotoxin MVIIA (ω -CTX) is a neurotoxin isolated from the venom of Cone snail *Conus magus*. It is a potent selective blocker of the N-type voltage-sensitive calcium channel in neurons and therefore has the potential to promote neuroprotection through inhibition of Ca^{2+} influx into nerve-cells. ω -CTX has been cloned, expressed in the fusion form with thioredoxin (Trx-CTX) in *E. coli* in the institute of biotechnology, Hanoi. In this paper we present our study on neuroprotective activity of Trx-CTX in mouse model of global cerebral ischemia and focal brain ischemia. The experiments were carried out in male mice of Swiss race weighing 40 g. Trx-CTX were injected i.v. in the model of global cerebral ischemia, one time with a dose of 5 or 10 mg/kg and in the other model two times, each with a dose of 5 mg/kg. The results showed that in global cerebral ischemia Trx-CTX has decreased neuronal injury and death of CA1 cells of dorsal hippocampus. In other model Trx-CTX also decreased infarction size of the ischemic brain. Trx-CTX proof to possess neuroprotective effect and could be used in further researches for medicinal purpose.

Keywords: conotoxin, ischemia, neuroprotective, omega-conotoxin MVIIA, Trx-CTX

Ngày nhận bài: 16-4-2012