

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG HOẠT HUYẾT VÀ CẢI THIỆN TUẦN HOÀN CƠ TIM Ở ĐỘNG VẬT CỦA TETRODOTOXIN

LÊ XUÂN TỬ, VŨ VĂN HẠNH

Viện Công nghệ sinh học

Biển cung cấp cho chúng ta nguồn protein dồi dào, nguồn thực phẩm quan trọng và nguồn dược liệu quý hiếm. Từ các sinh vật biển, có thể thu được những chất có hoạt tính sinh học cao như: prolactin, oxytocin, progesteron, estrogen, estradiol, estrin, cortizol, aldosterol, peptid, steroid, sterol, dẫn xuất guanin, các axit amin. Đặc biệt có triển vọng là việc sử dụng những động vật biển chứa các chất độc sinh học (biotoxin), mà tetrodotoxin (TTX) là một trong những chất độc đại diện nổi bật của nhóm này. TTX không chỉ được sử dụng trong khoa học để nghiên cứu sự vận chuyển ion Na^+ qua màng tế bào, mà nó còn được sử dụng để điều chế thuốc gây tê và thuốc kích thích sự hoạt động của hệ tuần hoàn, điều trị một số bệnh hiếm nghèo (các bệnh về tim mạch, ung thư, phong hủi, ...). Trong bài này, chúng tôi nghiên cứu khả năng hoạt huyết và tác dụng cải thiện tuần hoàn cơ tim của TTX.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng

60 con chuột nhắt trắng *Swiss* có trọng lượng trung bình 20 ± 2 g, 60 con chuột cống trắng *Starv* có trọng lượng trung bình 150 ± 20 g, 30 con thỏ đực có trọng lượng trung bình $2,53 \pm 0,5$ kg.

Hóa chất: Độc tố TTX được tách chiết và tinh chế từ một số loài cá nóc của vùng bờ biển Việt Nam. Dung dịch pituitrin 5 mg, dung dịch

axít axêtic 1%, dung dịch sinh lý NaCl 0,9%.

2. Phương pháp

a) Nghiên cứu tác dụng hoạt huyết của TTX

Thỏ đực chia ngẫu nhiên làm 2 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô đối chứng không xử lý: nghiên cứu các chỉ tiêu về thời gian máu đông, thời gian chảy máu và thời gian huyết tan.

- Lô thí nghiệm xử lý bằng TTX: nghiên cứu thời gian máu đông, thời gian chảy máu và tác dụng tan huyết của TTX.

b) Nghiên cứu tác dụng của TTX lên điện tim E.C.G ở thỏ

Ghi điện tim bằng máy đo điện tim Fukulda - Denshi (Nhật Bản).

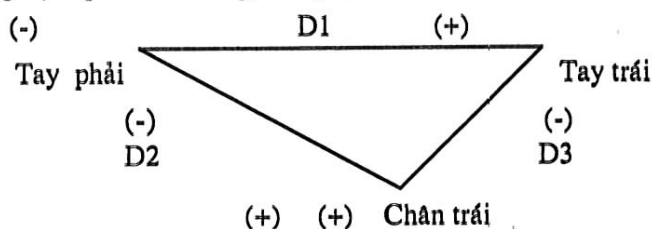
Ghi điện tim ở đạo trình D2 và V1 của thỏ bình thường trước khi gây thiếu máu cơ tim bằng pituitrin.

Ghi điện tim ở đạo trình D2 và V1 của thỏ sau khi gây thiếu máu cơ tim bằng pituitrin.

Ghi điện tim ở đạo trình D2 và V1 của thỏ sau khi gây thiếu máu cơ tim bằng pituitrin và điều trị bằng TTX.

Tính toán, so sánh các chỉ tiêu QT, ST, R trước và sau điều trị bằng TTX ở thỏ đã gây thiếu máu cơ tim bằng pituitrin.

Ghi E.C.G theo chuyển đạo mẫu Einthoven như sau:



Khoảng cách QT được tính từ đầu sang Q đến hết sóng T là thời gian tâm thu điện học của tâm thất được tính theo công thức Heglin - HolZmann:

$$QT = 0,3gy.\sqrt{RR} \pm 0,02$$

Các số liệu nghiên cứu được tính toán và xử lý theo phương pháp thống kê sinh học.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Tác dụng hoạt huyết của TTX

Kết quả nghiên cứu ở bảng 1 và hình 1 cho thấy: thời gian đông máu của lô chuột được xử

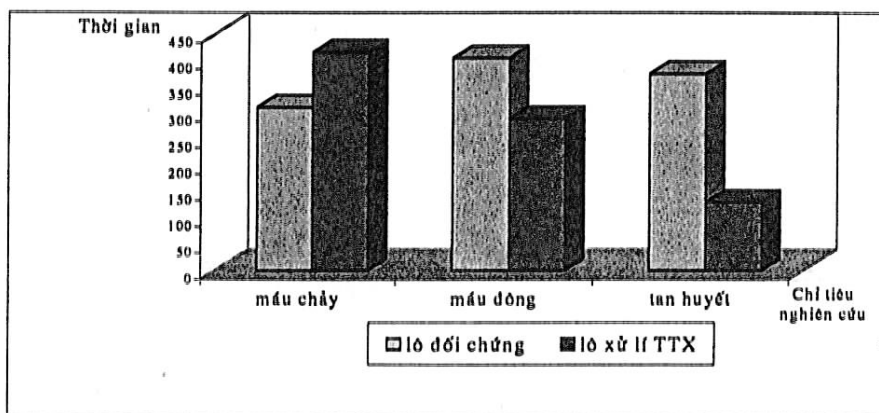
lý bằng TTX lớn hơn so với lô đối chứng ($395'' \pm 24,30''$ so với $289,00'' \pm 31,30''$). Điều này rất có ý nghĩa trong quá trình làm lưu thông máu trong mạch máu, do TTX có tác dụng làm chậm lại quá trình đông máu.

Kết quả nghiên cứu cũng chứng tỏ thời gian chảy máu do xử lý TTX ($234'' \pm 53,67''$) lại ngắn hơn so với đối chứng ($333,00'' \pm 70,82''$). Đặc biệt, động vật do xử lý bằng TTX có thời gian tan huyết ngắn hơn nhiều so với lô đối chứng ($108,00'' \pm 20,39''$ so với $348'' \pm 26,43''$). Kết quả này càng khẳng định tác dụng làm tan huyết nhanh của TTX so với đối chứng, sự khác biệt này có ý nghĩa với $P < 0,001$.

Bảng 1

Tác dụng hoạt huyết của TTX

Lô thí nghiệm	Thời gian máu đông (giây)	Thời gian máu chảy (giây)	Thời gian tan huyết (giây)
Lô đối chứng	$289,00 \pm 31,30$	$333,00 \pm 70,82$	$348,00 \pm 26,43$
Lô xử lý TTX	$395 \pm 24,30$	$234 \pm 53,67$	$108,00 \pm 20,39$
P	$< 0,001$	$< 0,005$	$< 0,001$



Hình 1. Tác dụng hoạt huyết của TTX

Kết quả soi dưới kính hiển vi điện tử ở hình 2 và hình 3 về khả năng tan huyết của TTX so với đối chứng cho thấy: TTX chỉ có tác dụng làm tan sợi huyết mà không gây ảnh hưởng tới cấu trúc tế bào hồng cầu, trong khi đó ở lô đối chứng thì cả sợi huyết và hồng cầu đều bị tan. Kết quả này rất có ý nghĩa trong việc sử dụng TTX để điều trị vón cục máu trong mạch máu và

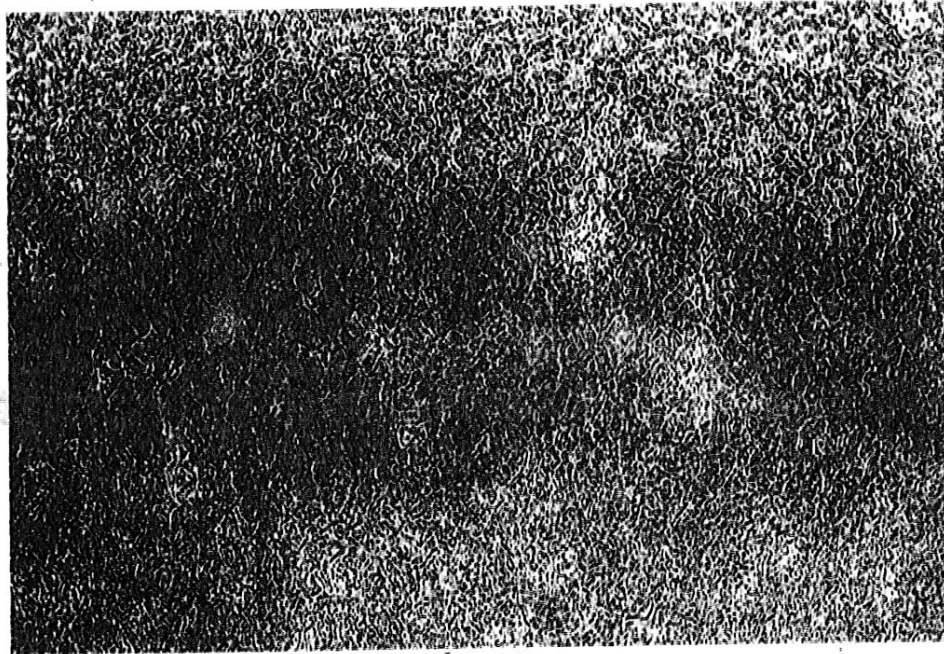
điều trị nhồi máu cơ tim của người bệnh.

2. Nghiên cứu ảnh hưởng của TTX lên E.C.G của thỏ

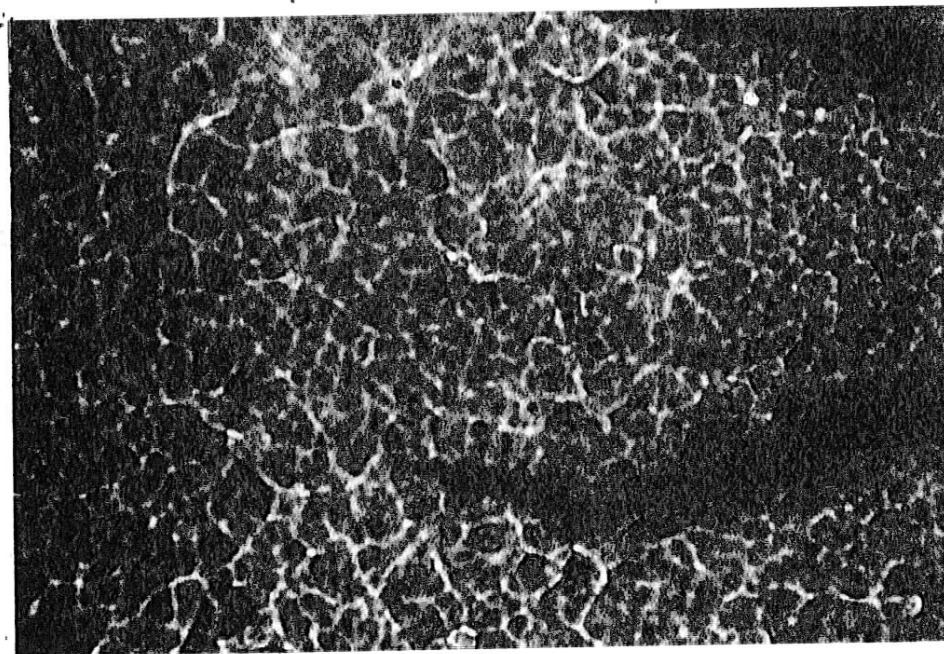
a) Kết quả E.C.G đạo trình D2 trước và sau khi điều trị bằng TTX

Kết quả phân tích E.C.G đạo trình D2 ở

bảng 2 và hình 4 cho thấy: nhịp tim của thỏ khi gây nhồi máu cơ tim bằng pituitrin là $(205 \pm 13,07)$ tăng so với bình thường $(202,22 \pm 13,67)$, nhưng sau khi điều trị bằng TTX thì nhịp tim được phục hồi về trạng thái bình thường $(204,84 \pm 13,20)$.



Hình 2. Xử lý hồng cầu chuột bằng dung dịch axit axetic 1%



Hình 3. Xử lý hồng cầu chuột bằng TTX

Khi gây nhồi máu cơ tim bằng pituitrin thì sóng R giảm ($0,292 \pm 0,079$) so với bình thường ($0,333 \pm 0,012$); sóng R được phục hồi dần dần về trạng thái bình thường sau khi điều trị bằng TTX ($0,313 \pm 0,064$). Hơn nữa, sóng ST cũng giảm ($0,057 \pm 0,016$) so với bình thường ($0,071 \pm 0,022$), sóng này được phục hồi về trạng thái bình thường sau khi điều trị bằng TTX ($0,071 \pm 0,018$). Trong khi đó, khi gây nhồi máu cơ tim bởi pituitrin thì sóng QT tăng

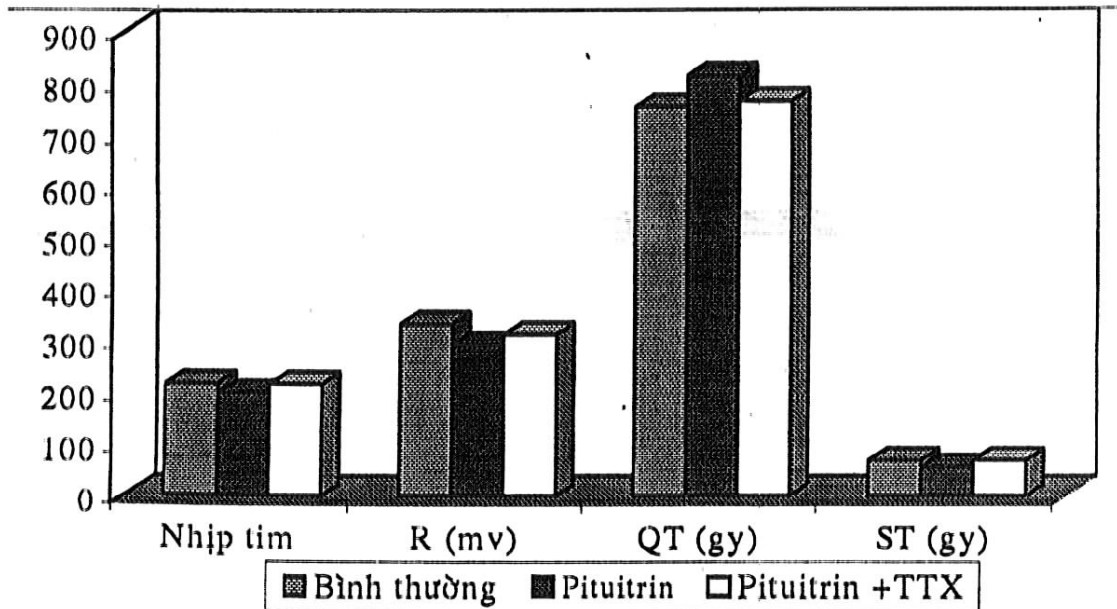
($0,813 \pm 0,027$) so với bình thường ($0,753 \pm 0,035$) và sóng này được phục hồi sau khi điều trị bằng TTX ($0,765 \pm 0,089$).

Như vậy, từ những kết quả nghiên cứu cho thấy thỏ bị gây nhồi máu cơ tim bằng pituitrin làm cho nhịp tim giảm, sóng R và sóng ST giảm trong khi đó sóng QT tăng nhưng sau khi điều trị bằng TTX thì các chỉ tiêu về nhịp tim, sóng R, sóng ST, sóng QT được phục hồi về trạng thái ban đầu.

Bảng 2

Sự thay đổi E.C.G đạo trình D2 trước và sau khi điều trị bằng TTX

E.C.G	Chỉ tiêu nghiên cứu	Bình thường ($\bar{X} \pm SD$)	Tiền pituitrin ($\bar{X} \pm SD$)	Tiền pituitrin rồi xử lý bằng TTX ($\bar{X} \pm SD$)
D2	Nhịp tim	205,35±13,07	202,22±13,67	204,84±13,20
	R (mv)	0,333±0,012	0,292±0,079	0,313±0,064
	QT (gy)	0,753±0,035	0,813±0,027	0,765±0,089
	ST (gy)	0,071±0,022	0,057±0,016	0,071±0,018



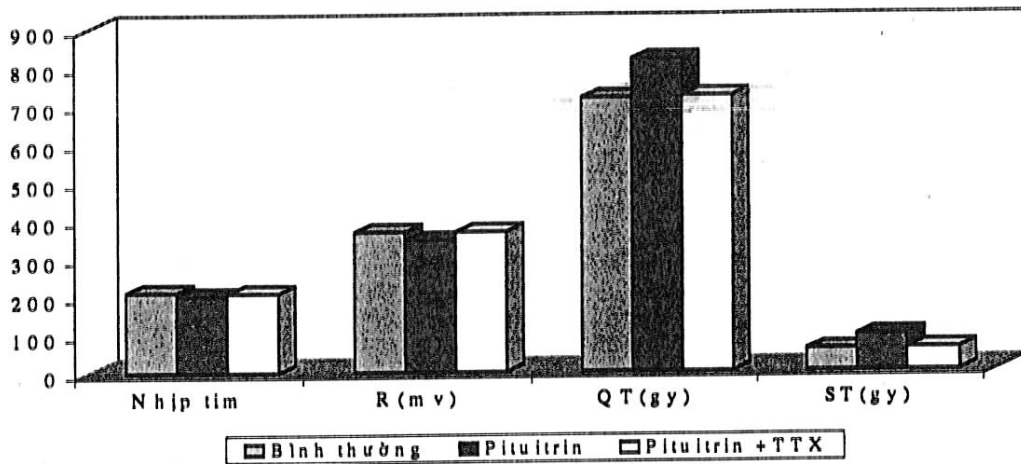
Hình 4. Sự thay đổi nhịp tim và E.C.G. đạo trình D2 trước và sau khi điều trị bằng TTX

b) Kết quả E.C.G đạo trình V1 trước và sau khi điều trị bằng TTX

Bảng 3

Sự thay đổi E.C.G đạo trình V1 trước và sau khi điều trị bằng TTX

E.C.G	Chỉ tiêu nghiên cứu	Bình thường $\bar{X} \pm SD$	Tiền pituitrin $\bar{X} \pm SD$	Tiền pituitrin rồi xử lý bằng TTX ($\bar{X} \pm SD$)
V1	Nhịp tim	205,35±13,07	202,22±13,67	204,84±13,20
	R (mv)	0,367±0,049	0,346±0,013	0,367±0,049
	QT (gy)	0,717±0,032	0,818±0,027	0,721±0,024
	ST (gy)	0,056±0,011	0,093±0,027	0,058±0,015



Hình 5. Sự thay đổi nhịp tim và E.C.G đạo trình V1 trước và sau khi điều trị bằng TTX

Ở bảng 3 và hình 5, kết quả phân tích E.C.G đạo trình V1 cho thấy: nhịp tim của thỏ khi gây nhồi máu cơ tim bằng pituitrin giảm so với bình thường, nhưng sau khi điều trị bằng TTX thì nhịp tim được phục hồi về trạng thái bình thường.

Nghiên cứu cũng cho thấy gây nhồi máu cơ tim bằng pituitrin thì sóng R giảm ($0,346 \pm 0,013$) so với bình thường ($0,367 \pm 0,049$), sóng R được phục hồi về trạng thái bình thường do điều trị bằng TTX ($0,367 \pm 0,049$). Mặt khác, sóng ST tăng ($0,093 \pm 0,027$) so với bình thường ($0,056 \pm 0,011$) và được phục hồi về trạng thái bình thường sau khi điều trị bằng TTX ($0,058 \pm 0,015$). Khi gây nhồi máu cơ tim bởi pituitrin thì sóng QT cũng tăng ($0,818 \pm 0,027$) so với bình thường ($0,717 \pm 0,032$) và sóng này được phục hồi khi điều trị bằng TTX

($0,721 \pm 0,024$).

Từ những kết quả nghiên cứu, cho thấy thỏ bị gây nhồi máu cơ tim bằng pituitrin thì ở đạo trình V1 có sóng R giảm, trong khi sóng ST và sóng QT đều tăng nhưng sau khi điều trị bằng TTX thì các chỉ tiêu về nhịp tim, sóng R, sóng ST, sóng QT được phục hồi về trạng thái bình thường.

Như vậy, qua nghiên cứu các chỉ tiêu nhịp tim, sóng R, sóng QT, sóng ST ở cả hai đạo trình D2 và V1 cho thấy khi gây nhồi máu cơ tim bằng pituitrin ở thỏ đều gây ra hiện tượng bất thường cho các chỉ tiêu vừa nêu trên, nhưng khi điều trị bằng TTX thì các sóng đó được phục hồi về trạng thái bình thường. Qua kết quả nghiên cứu trên, có thể khẳng định TTX có tác dụng cải thiện tình trạng thiếu năng tuần hoàn cơ tim khi gây nhồi máu cơ tim bằng pituitrin.

III. KẾT LUẬN

1. TTX có tác dụng làm tăng thời gian máu đông ($395''\pm 24,30''$) so với đối chứng ($289''\pm 31,30''$), làm giảm thời gian chảy máu ($234''\pm 53,67''$) so với đối chứng ($333''\pm 70,82''$) và cũng làm giảm thời gian tan huyết ($348''\pm 26,43''$) so với đối chứng ($108''\pm 20,39''$).

2. TTX có tác dụng làm tan sợi huyết ở thỏ mà không làm tan tế bào hồng cầu và không ảnh hưởng gì đến cấu trúc của tế bào hồng cầu.

3. TTX có khả năng phục hồi nhịp tim khi gây nhồi máu cơ tim bằng pituitrin ($202,22\pm 13,67$) về trạng thái ban đầu là ($205,35\pm 13,07$).

4. TTX có tác dụng phục hồi một số chỉ tiêu như sóng R, sóng ST, sóng QT của E.C.G ở đạo trình D2 và V1 về trạng thái bình thường sau khi gây nhồi máu cơ tim bằng pituitrin.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Xuân Tú, Lê Quang Huấn, Phan Văn Đoàn, 1993: Tạp chí Sinh học, 15(1): 39-42.
2. Lê Xuân Tú, Lê Quang Huấn, Vũ Văn Hạnh, 1999: Tuyển tập báo cáo khoa học. Hội nghị KHCN biển toàn quốc lần thứ IV. 878-882.
3. 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-Universität Giessen, Aulweg 129, D-35392 Giessen, Germany.*
4. Brau M. E. et al., 2000: *Anesth. Analg.* Dec, 91(6): 1499-505.
5. Diaz J. and Pecot D. M., 1989: *J. Neu.*, 18(1): 39.
6. Gosling M. et al., 1998: *J. Biol. Chem.*, 273(33): 21084-21090.
7. Hwang D. F. et al., 1988: *Bulletin of Japan Society of Scientific fisheries*, 54(2): 2001-2008.
8. Lapled B. et al., 1999: *Eur. J. Neurosci.*, 11(4): 1449-1460.
9. Centers for Disease Control and Prevention, 1996: Tetrodotoxin poisoning associated with eating puffer fish transported from Japan-California. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, MMWR, 45(19).
10. Nielsen K. J. et al., 2002: Solution structure of m-conotoxin PIIIA, a preferential inhibitor of persistent TTX-sensitive sodium channels. *J Biol. Chem.*

EFFECT OF TETRODOTOXIN ON THE BLOOD ACTIVATION AND THE IMPROVEMENT OF THE HEARTMUSCLE CIRCULATION OF ANIMALS

LE XUAN TU, VU VAN HANH

SUMMARY

Tetrodotoxin increases the blood coagulation time ($395''\pm 24.30''$) in comparison with the control ($289''\pm 31.30''$). Beside, tetrodotoxin attenuates the bleeding time ($234''\pm 53.67''$) in comparison with the control ($333''\pm 70.82''$) and also attenuates the haemolysis time ($348''\pm 26.43''$) in comparison with the control ($108''\pm 20.39''$).

Tetrodotoxin has effect on the bloodfibre disperse, but it has not effect on the erythrocyte cell dispersion and the erythrocyte cell structure.

Tetrodotoxin has the ability to recuperate the heart rhythm to the initial stage (202.22 ± 13.07) when the infarct was caused by pituitrin (202.22 ± 13.67). Tetrodotoxin has the ability to recuperate some figures: R, ST, QT of E.C.G at D2 and V1 to the initial stage when the infarct was caused by pituitrin.

Ngày nhận bài: 23-8-2002