

ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG CHỐNG OXY HÓA CỦA CỐM TAN AT7 TRÊN MÔ HÌNH GÂY ĐỘC TNT THỰC NGHIỆM

Phạm Lê Bách, Vũ Xuân Nghĩa, Phạm Thanh Ngọc

Viện Y học cổ truyền Quân đội

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Người tiếp xúc với Trinitrotoluen (TNT) xuất hiện nhiều tổn thương ở nhiều cơ quan, cơ chế gây tổn thương được cho rằng TNT làm phát sinh các gốc tự do trong cơ thể. Trong nghiên cứu này chúng tôi đánh giá tác dụng chống oxy hóa của cốm tan AT7 trên mô hình gây độc TNT thực nghiệm. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu này được thực hiện trên 40 thỏ trưởng thành trọng lượng 1,8 – 2kg. Nghiên cứu trong cùng điều kiện, thỏ được chia làm 4 nhóm nghiên cứu, được gây độc TNT theo mô hình gây độc bán trường diễn của Kong L.Y. (1989) và Toxicological profile for 2, 4, 6-Trinitrotoluen. Sau đó nhóm gây độc được uống cốm tan AT7, tiến hành xét nghiệm sau 9 tuần. **Kết quả:** Sau 9 tuần nghiên cứu thấy rằng hoạt độ các enzyme chống oxy hóa SOD, GPx, và MDA ở nhóm gây độc TNT được uống AT7 đều cao hơn so với nhóm chỉ gây độc TNT với $p < 0,05$. Giữa 2 nhóm gây độc TNT uống AT7 với mức liều khác nhau sự thay đổi hoạt độ các enzyme chống oxy hóa không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. **Kết luận:** Thỏ được gây độc TNT theo mô hình của Kong L.Y. (1989), và uống AT7 kết quả, sau nghiên cứu hoạt độ các enzyme chống oxy hóa SOD, GPx và nồng độ MDA, thay đổi theo hướng có lợi cho cơ thể. Hoạt độ enzyme chống oxy hóa ở mức liều cao gấp đôi mức liều ở nhóm dự kiến trên người không có sự thay đổi rõ rệt.

Từ khóa: nhiễm độc TNT, enzyme chống oxy hóa

EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT EFFECT OF AT7 GRANULES ON THE EXPERIMENTAL MODEL OF TNT TOXICITY

Abstract

Background: People exposed to Trinitrotoluene (TNT) appear to have many lesions in many organs, the mechanism of damage is thought that TNT generates free radicals in the body. In this study, we evaluated the antioxidant effect of AT7 nuggets on experimental TNT toxicity model. **Subjects and methods:** This study was carried out on 40 adult rabbits weighing 1.8 - 2 kg. Research under standard conditions, rabbits were divided into 4 research groups, were poisoned with TNT according to the semi-permanent toxicity model of Kong L.Y. (1989) and Toxicological profile for 2, 4, 6-Trinitrotoluene. Then the toxic group was given AT7 instant nuggets, tested after 9 weeks. **Results:** After 9 weeks of study, it was found that the activities

* Ngày nhận bài: 20/06/2024

* Ngày phản biện: 06/08/2024

* Ngày phê duyệt đăng bài: 24/08/2024

of antioxidant enzymes SOD, GPx, and MDA in the TNT-toxic group given AT7 were higher than those in the group that caused only TNT toxicity with $p < 0.05$. Between the 2 groups of TNT toxicity taking AT7 with different doses, there was no statistically significant difference in the activity of antioxidant enzymes with $p > 0.05$. **Conclusion:** After studying the activities of antioxidant enzymes SOD, GPx and MDA concentrations, changes in favor of the body. There was no significant change in antioxidant enzyme activity at doses higher than twice that of the expected human group.

Keywords: TNT poisoning, antioxidant enzyme

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gốc tự do là những nguyên tử, nhóm nguyên tử, hay phân tử mà lớp ngoài cùng của chúng có các điện tử không cặp đôi, chúng có thể mang điện tích âm hoặc không mang điện [1],[2]. Khoảng 95% lượng gốc tự do sinh ra trong chuỗi hô hấp tế bào sinh năng lượng cho cơ thể, tuy nhiên 5% gốc tự do còn lại được sản sinh do các hoạt động sinh lý khác (như thực bào), hoặc bệnh lý (các loại viêm, ung thư...), hoặc do yếu tố ngoại lai (chất độc, hóa chất, môi trường, tia xạ) gây ảnh hưởng đến sức khỏe cơ thể. Các nhà khoa học đã khẳng định TNT và sản phẩm chuyển hóa của chúng trong cơ thể có khả năng gây tổn thương đa dạng các cơ quan như gan, máu, cơ quan tạo máu, thần kinh, mắt, da, đường tiêu hóa cùng nhiều rối loạn chuyển hóa khác [3],[4]. Cơ chế chưa rõ ràng

Gần đây một số tác giả trên thế giới cho rằng TNT và sản phẩm của nó là những chất oxy hóa vì chứa các nhóm NO_2 , do đó có khả năng làm phát sinh gốc tự do khi xâm nhập vào cơ thể người [5]

Nhằm hướng tới một biện pháp điều trị không đặc hiệu chống gốc tự do làm giảm mức độ tổn thương cơ thể con người tiếp xúc nghề nghiệp với TNT, trên phương diện những dược liệu thiên nhiên chúng tôi tiến hành đề tài: “Đánh giá tác dụng chống oxy hóa của cốm tan AT7 trên mô hình gây độc TNT thực nghiệm” nhằm mục tiêu: Đánh giá tác dụng chống oxy hóa của cốm tan AT7 với các mức liều khác nhau trên mô hình gây nhiễm độc mạn tính TNT

II. CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu nghiên cứu

Thành phần gói cốm tan AT7: Cao khô toàn phần rễ lạc, vỏ đậu xanh, hòe hoa, rễ cỏ tranh, Curcumin do Viện YHCT Quân đội sản xuất đạt TCCS

2.2. Đối tượng nghiên cứu

Thỏ đực chủng Orryctolagus Curiculus, trưởng thành 12 tuần tuổi, trọng lượng 1,8 – 2kg được nuôi trong cùng điều kiện môi trường, thức ăn như nhau.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp gây độc thực nghiệm theo mô hình gây độc bán trường diễn của Kong L.Y. (1989) và Toxicological profile for 2, 4, 6-Trinitrotoluen [6].

2.3.1. Thiết kế nghiên cứu

- Chia nhóm gây độc thực nghiệm: 40 thỏ được chia làm 4 nhóm như sau:

+ Nhóm I: gồm 10 con, được uống dầu vừng liều 2ml, làm nhóm chứng

+ Nhóm II: gồm 10 con được gây độc bởi uống TNT pha trong dầu vừng liều 2ml, tương ứng với 50mg/kg trọng lượng

+ Nhóm III: gồm 10 con được gây độc như nhóm II và uống thuốc AT7 liều nghiên cứu 1 (liều 1,2g/kg cân nặng liều dự kiến trên lâm sàng)

+ Nhóm IV: gồm 10 con được gây độc như nhóm II và uống thuốc

AT7 liều nghiên cứu 2 (liều 3,6g/kg cân nặng gấp 3 liều nghiên cứu 1)

Thỏ ở nhóm III, IV được uống dung dịch TNT pha dầu vừng vào lúc 08 giờ 00 đến 09 giờ 00 và uống dung dịch thuốc AT7 đã được cô đặc, vào lúc 09 giờ 00 đến 10 giờ 00.

Sau khi nuôi thỏ trong phòng thí nghiệm từ 3 - 5 ngày, tiến hành lấy máu thỏ trước và sau khi gây độc thực nghiệm lần 1. Sau 09 tuần sẽ lấy máu lần 2 để làm xét nghiệm giống lần 1.

2.3.2. Chỉ tiêu nghiên cứu

Xét nghiệm: hoạt độ enzyme SOD, GPx, MDA

2.3.3. Xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm SPSS 26.0 để xử lý số liệu

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Ảnh hưởng của cốm tan AT7 lên enzyme chống oxy hóa SOD

Bảng 1. Ảnh hưởng của cốm tan AT7 lên một số enzyme chống oxy hóa SOD

Lô nghiên cứu	SOD (ng/ml) ($\bar{X} \pm SD$)		P(1-2)
	T ₀ (1)	T ₉ (2)	
Nhóm I (a)	146,74 ± 24,99	149,19 ± 31,55	p > 0,05
Nhóm II (b)	168,21 ± 42,34	134,66 ± 20,22	p < 0,05
Nhóm III (c)	151,61 ± 38,70	171,08 ± 26,45	p < 0,05
Nhóm IV (d)	162,43 ± 27,13	201,94 ± 39,43	p < 0,05
P	P(a-b); P(a-c); P(a-d); P(b-c); P(d-b); P(c-d) > 0,05		P(a-b); P(a-c); P(a-d); P(c-d) > 0,05 P(b-c) ; P(d-b) < 0,01

Nhận xét: tại thời điểm T₀ hoạt độ enzyme SOD trung bình trong hồng cầu thỏ ở cả 4 nhóm đều không có sự khác biệt (p > 0,05). Ở thời điểm T₉, hoạt độ enzyme SOD trung bình trong hồng cầu thỏ ở

nhóm II nhóm uống TNT pha dầu vừng giảm hơn so với thời điểm T₀ có ý nghĩa thống kê (p < 0,05). Ở nhóm uống TNT + AT7 liều 1 và 2 hoạt độ enzyme SOD trung bình trong hồng cầu thỏ tăng cao hơn ở

thời điểm T_0 có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Nhưng so sánh mức tăng hoạt độ enzyme SOD trung bình trong hồng cầu thỏ ở nhóm uống TNT + AT7 liều 1 và nhóm uống TNT + AT7 liều 2 thì thấy có tăng hơn nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Ở nhóm

uống TNT + AT7 liều 2 hoạt độ enzyme SOD trung bình trong hồng cầu thỏ tăng cao hơn so với nhóm uống TNT có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$

3.2. Ảnh hưởng của cốm tan AT7 lên enzyme chống oxy hóa GPx

Bảng 2. Ảnh hưởng của cốm tan AT7 lên một số enzyme chống oxy hóa GPx

Lô nghiên cứu	GPx (pg/ml) ($\bar{X} \pm SD$)		P(1-2)
	T ₀ (1)	T ₉ (2)	
Nhóm I(a)	96,59 $\pm$ 23,60	107,74 $\pm$ 9,15	p > 0,05
Nhóm II (b)	111,62 $\pm$ 26,66	112,00 $\pm$ 8,12	p > 0,05
Nhóm III (c)	100,72 $\pm$ 10,82	113,61 $\pm$ 7,32	p < 0,05
Nhóm IV (d)	104,99 $\pm$ 12,64	113,64 $\pm$ 8,22	p < 0,05
P(d-c) P(d-b)	P(a-b); P(a-c); P(a-d); P(b-c); p(d-b); p(c-d) > 0,05	P(a-b); P(a-c); P(a-d); P(b-c); p(d-b); p(c-d) > 0,05	

Nhận xét: tại thời điểm T_0 hoạt độ enzyme GPx trung bình trong huyết tương thỏ ở cả 4 nhóm đều không có sự khác biệt ($p > 0,05$). Ở thời điểm T_9 , hoạt độ enzyme GPx trung bình trong huyết tương thỏ ở nhóm uống TNT + AT7 liều 1 và 2 hoạt độ enzyme GPx trung bình trong huyết tương thỏ

tăng cao hơn ở thời điểm T_0 có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Ở nhóm II uống TNT, hoạt độ enzyme GPx trung bình trong huyết tương thỏ ở thời điểm T_0 và T_9 khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$)

3.3. Ảnh hưởng của cốm tan AT7 lên enzyme chống oxy hóa MDA

Bảng 3. Ảnh hưởng của cốm tan AT7 lên một số enzyme chống oxy hóa MDA

Lô nghiên cứu	MDA (mmol/l) ($\bar{X} \pm SD$)		P(A-B)
	T ₀ (A)	T ₉ (B)	
Nhóm I(a)	3,54 $\pm$ 0,30	3,90 $\pm$ 0,52	p > 0,05
Nhóm II (b)	3,90 $\pm$ 1,23	3,09 $\pm$ 0,95	p < 0,05
Nhóm III (c)	3,75 $\pm$ 0,64	4,42 $\pm$ 0,32	p < 0,05
Nhóm IV (d)	3,86 $\pm$ 0,58	4,46 $\pm$ 0,51	p < 0,05
P(d-c) P(d-b)	P(a-b); P(a-c); P(a-d); P(b-c); p(d-b); p(c-d) > 0,05	p(c-d) > 0,05 p(b-c) ; p(d-b) < 0,01	

Nhận xét: tại thời điểm T0 hoạt độ enzyme MDA trung bình trong huyết tương thỏ ở cả 4 nhóm đều không có sự khác biệt ($p > 0,05$). Ở thời điểm T9, hoạt độ enzyme MDA trung bình trong huyết tương thỏ ở nhóm II nhóm uống TNT pha dầu vùng giảm hơn so với thời điểm T0 có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Ở nhóm uống TNT + AT7 liều 1 và 2 hoạt độ enzyme MDA trung bình trong huyết tương thỏ tăng cao hơn ở thời điểm T0 có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Ở nhóm uống TNT + liều 1 và 2 tại thời điểm T9 thấy hoạt độ enzyme MDA trung bình trong huyết tương cao hơn nhóm uống TNT ($p < 0,01$). Nhưng hoạt độ enzyme MDA trong huyết tương thỏ ở nhóm uống TNT + liều 1 và nhóm uống TNT + liều 2 ở thời điểm T9 không thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

IV. BÀN LUẬN

4.1. Căn cứ xây dựng cốm tan AT7

TNT có rất nhiều tác hại với cơ thể: gây tổn thương gan [5], tổn thương cơ quan tạo máu [4], tổn thương da, hệ thống thần kinh và gây ảnh hưởng lên nhiều các cơ quan khác của cơ thể. Tác dụng của TNT lên cơ thể chủ yếu qua cơ chế tác động gián tiếp và người ta thấy rằng TNT xâm nhập vào cơ thể có khả năng gây tình trạng oxy hóa [6].

Ở nước ta hiện nay có nguồn dược liệu phong phú nhiều loại

dược liệu có tác dụng chống oxy hóa cao làm giảm tác dụng của chất độc nhiễm vào cơ thể. Theo quan điểm của Y học cổ truyền, các chất độc khi xâm nhập vào cơ thể (bằng các con đường khác nhau), sẽ gây rối loạn công năng của tạng phủ, hình thành sản phẩm chuyển hóa dở dang, tích lũy qua thời gian gây ra các chứng trạng, thuộc phạm trù “Trọc khí” hay “Đàm ả”. TNT là một chất độc khi xâm nhập vào cơ thể sẽ gây ra các rối loạn về công năng tạng phủ, hình thành các gốc tự do, gây rối loạn quá trình trao đổi thủy dịch sinh ra đàm ả.

Xuất phát từ kinh nghiệm dân gian, kinh nghiệm thực tiễn điều trị và các nghiên cứu riêng lẻ giữa các vị thuốc: Rễ lạc, curcumin, hòe hoa, bạch mao căn, vỏ đậu xanh, nhận thấy rằng các vị thuốc riêng lẻ đều có tác dụng chống oxy hóa. Vì vậy chúng tôi kết hợp các vị thuốc này nhằm mong muốn tăng cường tác dụng chống gốc tự do bảo vệ cơ thể.

4.2. Mô hình gây độc thực nghiệm

Để xây dựng mô hình thực nghiệm tốt cần có các điều kiện tương tự như thực tế công nhân nhiễm độc tiếp xúc với TNT, mô hình lý tưởng như vậy cần số lượng động vật lớn, gây độc bằng nhiều đường khác nhau, trong nhiều môi trường khác nhau, với liều gây độc không như nhau.

Vì vậy mô hình của gây độc bán trường diễn của Kong L.Y. (1989) và Toxicological profile for

2, 4, 6-Trinitrotoluen khá lý tưởng để nghiên cứu. Nhưng do điều kiện thực tiễn, kinh phí nghiên cứu còn hạn chế. Chúng tôi tiến hành nghiên cứu trên thỏ thuần chủng do Học Viện Quân Y cung cấp, trong 9 tuần nhằm tìm hiểu thay đổi hoạt độ enzyme chống oxy hóa khi nhiễm độc TNT và đánh giá ảnh hưởng của cốm tan AT7 lên một số enzyme chống oxy hóa.

4.3. Kết quả nghiên cứu

4.3.1. Ảnh hưởng của cốm tan AT7 đối với enzyme chống oxy hóa SOD

Superoxid dismutase (SOD) là một enzym chống oxy hóa có chứa kim loại thuộc lớp Oxidoreductase có tác dụng cải thiện khả năng chống oxy hóa nội bào, do thực hiện chức năng xúc tác phản ứng chuyển hóa gốc superoxide (O_2^-) thành O_2 và H_2O_2 : $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow 2H_2O + O_2$. Vì vậy, enzym SOD dường như đóng vai trò chính trong cơ chế bảo vệ cơ thể trước sự tấn công của gốc tự do

Kết quả nghiên cứu: nhóm II gây độc TNT uống dầu vùng hoạt độ SOD giảm hơn nhóm I không gây độc, điều này có thể do khi TNT xâm nhập vào cơ thể qua đường tiêu hóa, vào máu đến các tế bào sinh gốc tự do, cơ thể thỏ hình thành cơ chế chống gốc tự do dẫn đến giảm hoạt độ enzyme SOD. Ở nhóm III, IV thỏ uống TNT + liều 1 và TNT + liều 2, ở thời điểm T₉ thấy hoạt độ enzyme SOD trong hồng cầu thỏ đều tăng cao hơn so với thời điểm

T₀. Tuy nhiên khi so sánh giữa hai liều 1 và 2 thì thấy không có sự khác biệt ($p > 0,05$)

4.3.2. Ảnh hưởng của cốm tan AT7 đối với enzyme chống oxy hóa GPx

Glutathion peroxidase (GPx) có ở hầu hết các mô, chiếm vị trí quan trọng trong hệ thống chống oxy hóa có bản chất enzym của tế bào, GPx là enzym có khả năng kết thúc phản ứng chuỗi peroxid hóa lipid bằng cách loại bỏ hydroperoxid. Kết quả nghiên cứu bảng 2 cho thấy ở nhóm III, IV thỏ được uống TNT + AT7 liều 1 và liều 2 hoạt độ enzyme GPx trong huyết tương thỏ ở thời điểm T₉ đều tăng cao hơn so với thời điểm T₀ có ý nghĩa thống kê. Có thể các thành phần cốm tan AT7 đã kích thích thỏ tăng sản xuất enzyme GPx ở ngoại bào để đáp ứng quá trình chống oxy hóa.

4.3.3. Ảnh hưởng của cốm tan AT7 đối với enzyme chống oxy hóa MDA

Malondialdehyd (MDA) là sản phẩm chuyển hóa của quá trình peroxy hóa lipid màng, được coi là một chỉ thị quan trọng của quá trình peroxy hóa lipid và tương quan chặt chẽ với mức độ stress oxy hóa. Kết quả bảng 3 cho thấy ở nhóm II thỏ uống TNT + dầu vùng, ở thời điểm T₀ hoạt độ enzyme MDA trong huyết tương thỏ là $3,90 \pm 1,23$ sau 9 tuần T₉ hoạt độ enzyme MDA là $3,09 \pm 0,95$ giảm so với thời điểm đầu và nhóm chứng có ý nghĩa

thống kê ($p < 0,05$). Điều này có thể do khi TNT xâm nhập vào cơ thể qua đường tiêu hóa, vào máu đến các tế bào sinh gốc tự do, cơ thể tổ hình thành cơ chế chống gốc tự do ở màng tế bào dẫn đến hoạt độ enzyme chống gốc tự do MDA giảm, đây cũng là phản ứng của cơ thể trước các tác nhân lạ xâm nhập. Ở nhóm III, IV tổ uống TNT + liều 1 và TNT + liều 2, ở thời điểm T_9 thấy hoạt độ enzyme MDA trong huyết tương tổ đều tăng cao hơn so với thời điểm T_0 . Có thể các thành phần của cốm tan AT7 kích thích cơ thể tổ tăng sản sinh enzyme chống oxy hóa MDA để chống lại gốc tự do bảo vệ cơ thể. Tuy nhiên so sánh giữa 2 liều không có sự khác biệt.

V. KẾT LUẬN

Sau nghiên cứu trên mô hình thực nghiệm gây độc bán trường diễn TNT và nhóm uống AT7 nhận thấy hoạt độ các enzyme chống oxy hóa SOD, GPx và nồng độ MDA, ở nhóm uống cốm tan AT7 thay đổi theo hướng có lợi cho cơ thể cụ thể: nồng độ trung bình SOD, GPx và MDA đều tăng lên sau 9 tuần có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Khi uống cốm tan AT7 liều thấp 1,2g/kg cân nặng và liều cao 3,6g/kg cân nặng, sự thay đổi hoạt độ enzyme chống oxy hóa SOD, GPx và MDA không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Đàm Trung Bảo, Hoàng Tích Huyền (2004)**, “Mạng lưới các chất chống oxy hóa cần cho cơ thể”. *Tạp chí nghiên cứu y học số 32*, 12/2004, 117 - 121.
2. **Krzysztof Bobrowski (2005)**, “Free radicals in chemistry, biology and medicine: contribution of radiation chemistry”, Oxford.
3. **Nguyễn Minh Hiếu (2001)**, “Nghiên cứu tổn thương máu và cơ quan tạo máu và cơ quan tạo máu trên người tiếp xúc nghề nghiệp và động vật gây nhiễm độc thực nghiệm với trinitrotoluene”, *Luận án tiến sỹ y học*, Học Viện Quân Y.
4. **Phạm Quang Tập (2010)**, *Nghiên cứu sự thay đổi của hệ thống enzyme Cytochrom P-450 ở người tiếp xúc nghề nghiệp với Trinitrotoluen và tác dụng của Naturenz trên động vật thực nghiệm*. Luận án tiến sỹ y học, Học Viện Quân Y.
5. **Nguyễn Hoàng Thanh (2014)**, *Nội khoa dã chiến*, NXB Quân đội nhân dân Hà Nội 2014, Tr 124-125.
6. **Toxicological profile for 2,4,6 – Trinitrotoluen (1995)**, “U.S department of health and human services”, *Public health service Agency for toxic substances and disease registry*, 1600 Alata, Georgia 30033