

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG BẢO VỆ GAN CỦA β -GLUCAN CHIẾU XẠ TRÊN CHUỘT NHẮT

NGUYỄN THỊ NGỌC ANH¹, LÂM VỸ NGUYỄN¹, NGUYỄN THỊ DUNG¹,
LÊ QUANG LUÂN^{1*}

¹Trung tâm Công nghệ Sinh học Tp. Hồ Chí Minh

*Email: lequangluan@gmail.com

Tóm tắt: β -glucan tan trong nước và có khối lượng phân tử (Mw) ~ 25 kDa được chế tạo bằng phương pháp cắt mạch bức xạ sử dụng tia gamma (Co-60). Mẫu β -glucan có Mw ~ 25 kDa được thử nghiệm trên chuột đã gây độc gan bằng CCl₄ với liều cho uống hàng ngày từ 1 - 4 mg/con nhằm đánh giá khả năng bảo vệ gan dựa trên 2 chỉ số men gan AST (Aspartate-aminotransferase) và ALT (Alanine-aminotransferase). Kết quả thử nghiệm cho thấy cả 2 chỉ số men gan AST và ALT trong máu chuột đều có xu hướng giảm dần khi gia tăng nồng độ β -glucan chiếu xạ. Các giá trị thấp nhất của chỉ số AST được phát hiện trong máu nhóm chuột cho uống bổ sung β -glucan chiếu xạ ở nồng độ 4 mg/con với giá trị là 62 U/L (giảm 69% so với nhóm chuột gây độc gan nhưng chỉ cho uống nước cất). β -glucan chiếu xạ với nồng độ sử dụng 4 mg/con cũng đã có tác dụng làm giảm chỉ số ALT trong máu chuột gây độc gan xuống mức thấp nhất và chỉ còn khoảng 62,4 U/L (giảm khoảng 52% so với chuột gây độc gan nhưng chỉ cho uống nước cất). Kết quả đạt được đã cho thấy chế phẩm β -glucan tan trong nước có Mw ~25 kDa chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ tia gamma là chế phẩm có nguồn gốc tự nhiên rất có triển vọng ứng dụng trong sản xuất thực phẩm chức năng sử dụng cho mục đích giải độc, bảo vệ gan.

Từ khóa: Alanine-aminotransferase, Aspartate-aminotransferase, bảo vệ gan, chiếu xạ, β -glucan tan trong nước, tia gamma

1. MỞ ĐẦU

β -glucan là một polysaccharide được cấu thành từ các monosaccharide có trong thành tế bào thực vật (yến mạch, lúa mì), nấm và vi sinh vật (chủ yếu trong nấm men *Saccharomyces*). Loại polysaccharide này đã được biết đến từ rất lâu như một hoạt chất có nguồn gốc tự nhiên với nhiều tác dụng sinh học vượt trội như hoạt tính tăng cường miễn dịch, hỗ trợ phòng chống khối u lành tính và ác tính, làm giảm cholesterol và chất béo trung tính, điều hòa lượng đường trong máu, chữa lành vết thương, làm trẻ hóa làn da...[1-8]. Ngoài ra, β -glucan còn có khả năng làm gia tăng hoạt tính của superoxyde dismutase (SOD) vốn là một trong những enzyme chống oxy hóa cơ bản nhằm chống lại các gốc tự do trong cơ thể [9]. β -glucan cũng giúp tăng cường khả năng chịu đựng của tế bào gan đối với stress oxy hóa [10].

Bên cạnh đó, các nghiên cứu gần đây đã cho thấy rằng β -glucan có khối lượng phân tử (Mw) thấp sẽ cho hoạt tính cao hơn so với β -glucan có Mw cao, chủ yếu do β -glucan có Mw cao thường không tan trong nước nên rất hạn chế trong ứng dụng thực tiễn và hiệu quả sử dụng cũng rất thấp [11]. Để chế tạo các β -glucan có Mw thấp và tan được trong nước thì chiếu xạ được coi là phương pháp hiệu quả nhất với nhiều ưu điểm như thời gian xử lý ngắn, quy trình đơn giản, có thể điều chỉnh liều xạ để thu được β -glucan có Mw mong muốn, thu được sản phẩm có sự đồng đều về mặt cấu trúc, hiệu suất cắt mạch cao, thân thiện với môi trường và dễ dàng triển khai ở quy mô công nghiệp [12, 13]. Các thử nghiệm *in vitro* và *in vivo* cho thấy β -glucan được chiếu xạ làm tăng khả năng hoạt hóa các tế bào miễn dịch tốt hơn β -glucan không chiếu xạ. Trong *in vitro*, thử nghiệm β -glucan chiếu xạ đã làm tăng hơn 18% số lượng tế bào miễn dịch so với thử nghiệm glucan không chiếu xạ [11]. β -glucan chiếu xạ cũng cho thấy khả năng làm giảm hàm lượng đường, ure, protein toàn phần, triglyceride, cholesterol trong máu chuột [14]. Các thử nghiệm về khả năng giải độc gan của β -glucan chiếu xạ theo Mw khác nhau cũng cho thấy β -glucan sau chiếu xạ làm gia tăng hoạt tính bảo

vệ gan trên chuột được gây độc gan bằng CCl_4 [15]. Với hoạt tính cải thiện như vậy, chiếu xạ β -glucan sẽ là hướng đi mới giúp tạo ra chế phẩm β -glucan có giá trị cao hơn.

2. NỘI DUNG

2.1. Đối tượng và phương pháp

- Đối tượng nghiên cứu:

β -glucan được tách chiết từ thành tế bào nấm men *Saccharomyces carlsbergensis* và được cắt mạch bằng phương pháp chiếu xạ sử dụng nguồn xạ gamma Co-60 BRIT 5000 (India) tại Viện Nghiên cứu Hạt nhân Đà Lạt có suất liều là 2,7 kGy/h. Giống chuột sử dụng trong nghiên cứu thuộc dòng chuột nhắt trắng Swiss do Viện Pasteur Tp. HCM cung cấp.

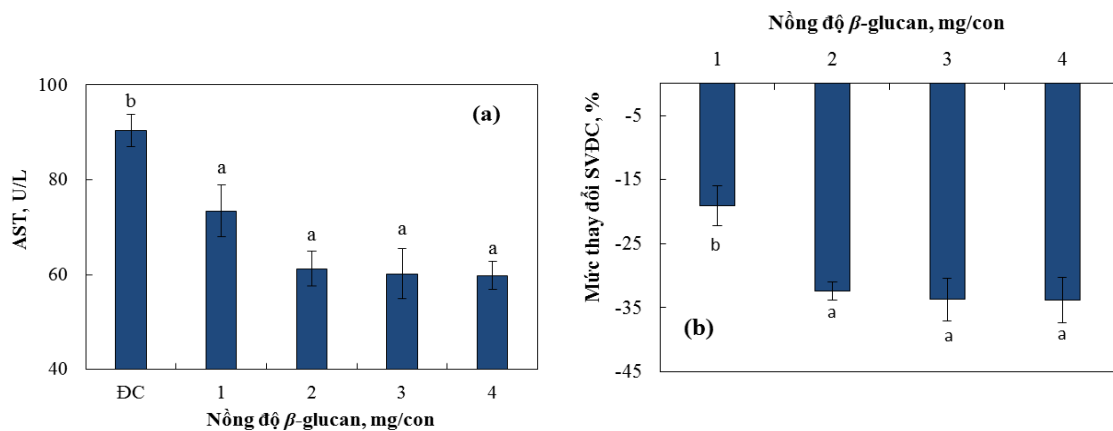
- Phương pháp xác định tác dụng giải độc gan của β -glucan tan trong nước trên chuột gây độc gan bằng tetraclorua carbon (CCl_4):

Chuột nhắt trắng đực chủng Swiss có khối lượng 22-25g được chia thành hai nhóm: nhóm bình thường không tiêm CCl_4 và nhóm gây tổn thương gan bằng CCl_4 . Mỗi nhóm gồm 5 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần, mỗi lần lặp lại 3 con (mỗi nghiệm thức 9 con). Chuột gây tổn thương gan được tiêm phúc mô bằng CCl_4 với liều 10 ml/kg thể trọng chuột (CCl_4 pha trong dầu oliu tỷ lệ 1:3), tiêm cách ngày (3 lần/tuần). Chuột được cho nhịn đói 15 giờ trước khi tiêm. Sau khi tiêm 60 phút chuột được cho uống dung dịch β -glucan tan trong nước có Mw ~ 25 kDa với liều 1 - 4 mg/con và cho uống liên tục trong 1 tuần. Chuột đối chứng (ĐC) chỉ cho uống nước cất. Vào ngày thứ 8, sau khi cho chuột uống β -glucan 60 phút, máu đuôi chuột được lấy từ 3 con ngẫu nhiên ở mỗi nghiệm thức để định lượng AST (Aspartate Amino Transferase) và ALT (Alanin Amino Transferase) [16] trên máy sinh hóa tự động A15 (BioSystem) theo quy trình xét nghiệm huyết học của Trung tâm Khám bệnh Chuyên ngành - Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Tp.HCM.

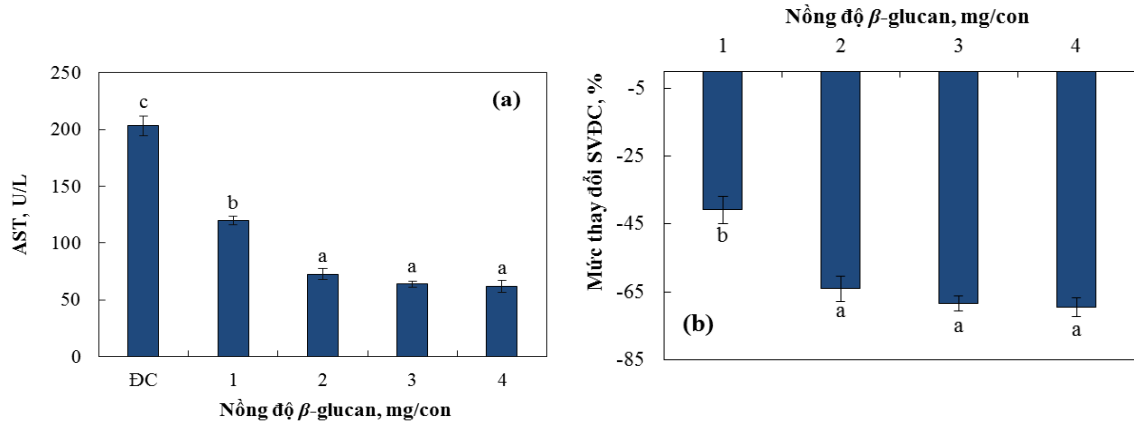
2.2. Kết quả

Xác định chỉ số AST trong máu chuột sau khi cho uống bổ sung β -glucan chiếu xạ

Mẫu β -glucan tan trong nước có Mw ~ 25 kDa sau khi chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ gamma Co-60 được thử nghiệm trên hai nhóm chuột thường để đánh mức độ ảnh hưởng đến gan và trên nhóm chuột đã gây độc gan bằng CCl_4 để đánh giá khả năng giải độc gan của β -glucan tan trong nước với liều cho uống hàng ngày từ 1 - 4 mg/con. Kết quả ảnh hưởng của β -glucan tan trong nước đến chỉ số men gan AST trong máu chuột thí nghiệm được trình bày ở hình 1 và 2.



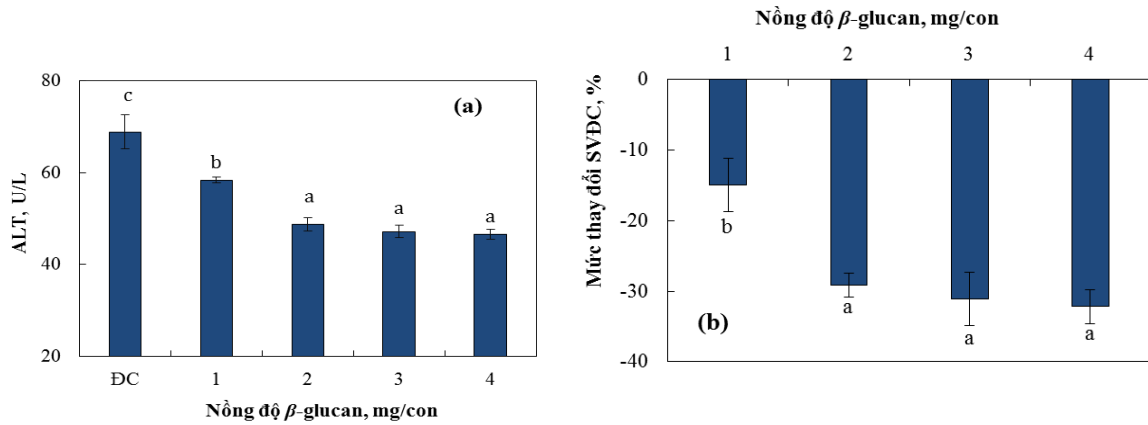
Hình 1. Chỉ số AST giữa các nghiệm thức (a) và mức thay đổi chỉ số này so với đối chứng (SVĐC) (b) trong nhóm chuột không tiêm CCl_4 và cho uống β -glucan



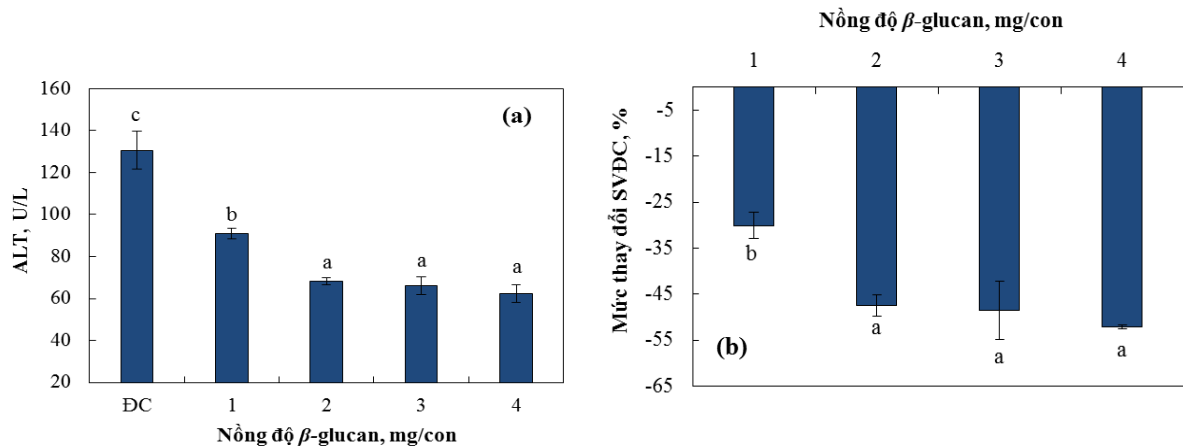
Hình 2. Chỉ số AST giữa các nghiệm thức (a) và mức thay đổi chỉ số này SVĐC (b) trong nhóm chuột gây độc gan (tiêm CCl_4) và cho uống β -glucan

Xác định chỉ số ALT trong máu chuột sau khi cho uống bổ sung β -glucan chiếu xạ

Kết quả ảnh hưởng của β -glucan tan trong nước đến chỉ số men gan ALT trong máu chuột thí nghiệm được trình bày ở hình 3 và 4.



Hình 3. Chỉ số ALT giữa các nghiệm thức (a) và mức thay đổi chỉ số này SVĐC (b) trong nhóm chuột không tiêm CCl_4 và cho uống β -glucan



Hình 4. Chỉ số ALT giữa các nghiệm thức (a) và mức thay đổi chỉ số này SVĐC (b) trong nhóm chuột gây độc gan (tiêm CCl_4) và cho uống β -glucan

2.3. Bàn luận

Xác định chỉ số AST trong máu chuột sau khi cho uống bổ sung β -glucan chiếu xạ

AST là enzyme có trong bào tương và ty thể được tìm thấy trong các mô gan, tim, cơ, thận và não. Nếu chỉ số AST trong máu tăng chứng tỏ một trong các mô này bị tổn thương. Kết quả từ hình 1 cho thấy chỉ số AST ở các nhóm chuột thường dao động trong khoảng 59,83 - 90,47 U/L. Trong đó, chỉ số AST ở các nghiệm thức cho uống β -glucan tan trong nước đều thấp hơn so với nghiệm thức đối chứng chỉ cho uống nước cất (thấp hơn 19 - 33% so với nghiệm thức đối chứng), chứng tỏ β -glucan chiếu xạ đi vào cơ thể chuột nhắt trắng hoàn toàn không gây ảnh hưởng đến các mô gan, tim, cơ, thận và não.

So sánh chỉ số AST trong máu chuột của 2 nhóm chuột thường và chuột gây độc gan bằng CCl_4 chỉ cho uống nước cất cho thấy có sự tăng chỉ số AST từ 90,47 lên 203,29 U/L, điều này chứng tỏ CCl_4 đã gây độc đến gan. Chỉ số AST trong nhóm gây độc gan có sự biến động giữa các nghiệm thức (dao động từ 61,95 đến 203,29 U/L). Trong đó, chỉ số AST trong máu chuột có xu hướng giảm dần khi cho chuột uống β -glucan theo nồng độ tăng từ 1 - 4 mg/con. Kết quả từ hình 2 cho thấy chuột được uống β -glucan tan trong nước có nồng độ 2 - 4 mg/con cho chỉ số AST trong máu chuột là thấp nhất, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng chỉ cho uống nước cất. Chỉ số AST giảm > 60% so với chuột ở nghiệm thức đối chứng chỉ cho uống nước cất. Ở nồng độ 1 mg/con cũng cho khả năng giảm chỉ số AST trong máu chuột nhưng vẫn còn khá cao so với chỉ số AST của chuột bình thường. Từ những kết quả trên cho thấy β -glucan tan trong nước có tác dụng làm giảm chỉ số AST trong máu chuột trên mô hình gây độc gan bằng CCl_4 khi cho chuột uống với liều từ 1 - 4 mg/con.

Xác định chỉ số ALT trong máu chuột sau khi cho uống bổ sung β -glucan chiếu xạ

Ngoài AST thì ALT cũng là một loại enzyme tìm thấy với số lượng lớn ở gan, đóng vai trò quan trọng trong quá trình chuyển hóa, các quá trình biến đổi thức ăn thành năng lượng. Thông thường ALT được tìm thấy trong các tế bào gan, nhưng nếu gan bị tổn thương, ALT sẽ chuyển vào máu. Xét nghiệm ALT được xem là một trong những bước kiểm tra ban đầu cho bệnh gan. Lượng AST và ALT trong máu chuột tăng cao ở lô gây độc gan do sử dụng quá liều chất gây độc gan và do sự suy giảm của hệ thống tuần hoàn khi gan bị thiếu máu tươi mang oxy và chất dinh dưỡng hoặc chức năng vận chuyển của tế bào gan bị rối loạn [17], [18].

Trong thí nghiệm này, cả hai nhóm chuột thường và chuột gây độc gan đều có sự biến động chỉ số ALT ở các nghiệm thức. Kết quả từ hình 3 cho thấy chỉ số ALT trong máu chuột ở nhóm chuột thường dao động trong khoảng 46,56 - 68,9 U/L. Việc cho uống bổ sung β -glucan tan trong nước chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ cũng có tác dụng làm hạ chỉ số men gan ALT và ở nhóm cho uống β -glucan có nồng độ 4 mg/con cho chỉ số này là thấp nhất. Tuy nhiên, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức cho uống β -glucan tan trong nước có nồng độ 2 - 3 mg/con.

Kết quả từ hình 4 cũng cho thấy chỉ số ALT trong nhóm chuột gây độc gan có xu hướng giảm khi tăng nồng độ β -glucan tan trong nước từ 1 - 4 mg/con. Chỉ số ALT dao động từ 62,4 - 90,8 U/L trong máu chuột ở các nghiệm thức cho uống β -glucan và thấp hơn nhiều so với chỉ số này của nhóm chuột đối chứng chỉ cho uống nước cất đã xác định được là 130,59 U/L. Trong đó, nghiệm thức cho uống β -glucan tan trong nước với nồng độ 2 - 4 mg/con cho chỉ số ALT thấp nhất và hầu như tương đương so với nhóm chuột đối chứng không gây độc gan. β -glucan có nồng độ 1 mg/con cũng có khả năng làm giảm chỉ số ALT trong máu chuột khi cho uống, tuy nhiên chỉ số này vẫn còn khá cao so với nhóm chuột đối chứng không gây độc gan.

Như vậy có thể thấy sau khi cho uống 1 tuần với liều lượng 1 - 4 mg/con chế phẩm β -glucan tan trong nước chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ đã có tác dụng làm giảm đáng kể các chỉ số men gan AST và ALT trên cả nhóm chuột thường và chuột gây độc gan bằng CCl_4 .

3. KẾT LUẬN

β -glucan tan trong nước chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ có Mw ~ 25 kDa đã có tác dụng làm giảm đáng kể chỉ số men gan AST và ALT trên chuột thí nghiệm, đặc biệt là ở chuột bị gây độc gan thì mức giảm là 40,8 - 69,5% đối với chỉ số AST và giảm 30,1 - 52,2% đối với chỉ số ALT. Trong đó β -glucan tan trong nước có nồng độ 2 - 4 mg/con đã cho thấy tác dụng tốt hơn cả. Chế phẩm β -glucan tan trong nước có Mw ~ 25 kDa chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ rất có triển vọng ứng dụng để sản xuất thực phẩm chức năng sử dụng cho mục đích giải độc và bảo vệ gan.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Brown, G.D. and Gordon, S. "Fungal β -glucans and mammalian immunity", *Immunity*, 19(3), 311-315, 2003.
- [2]. Rice, P.J., Adams, E.L., Ozment-Skelton, T., Gonzalez, A.J., Goldman, M.P., Lockhart, B.E., Barker, L.A., Breuel, K.F., Deponti, W.K., Kalbfleisch, J.H., Ensley, H.E., Brown, G.D., Gordon, S. and Williams, D.L. "Oral delivery and gastrointestinal absorption of soluble glucans stimulate increased resistance to infectious challenge", *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 314(3), 1079-1086, 2005.
- [3]. Hong, F., Yan, J., Baran, J.T., Allendorf, D.J., Hansen, R.D., Ostroff, G.R., Xing, P.X., Cheung, N.K.V. and Ross, G.D. "Mechanism by Which Orally Administered β -1,3-Glucans Enhance the Tumoricidal Activity of Antitumor Monoclonal Antibodies in Murine Tumor Models", *The Journal of Immunology*, 173(2), 797-806, 2004.
- [4]. Qi, C., Cai, Y., Gunn, L., Ding, C., Li, B., Kloecker, G., Qian, K., Vasilakos, J., Saijo, S., Iwakura, Y., Yannelli, J.R. and Yan, J. "Differential pathways regulating innate and adaptive antitumor immune responses by particulate and soluble yeast-derived beta-glucans", *Blood*, 117(25), 6825-6836, 2011.
- [5]. Keenan, J.M., Goulson, M., Shamliyan, T., Knutson, N., Kolberg, L. and Curry, L. "The effects of concentrated barley beta-glucan on blood lipids in a population of hypercholesterolaemic men and women", *British Journal of Nutrition*, 97(6), 1162-1168, 2007.
- [6]. Smith, K.N., Queenan, K.M., Thomas, W., Fulcher, R.G. and Slavin, J.L. "Physiological Effects of Concentrated Barley β -Glucan in Mildly Hypercholesterolemic Adults", *Journal of the American College of Nutrition*, 27(3), 434-440, 2008.
- [7]. Talati, R., Baker, W.L., Pabilonia, M.S., White, C.M. and Coleman, C.I. "The effects of barley-derived soluble fiber on serum lipids", *Annals of Family Medicine*, 7(2), 157-163, 2009.
- [8]. Lei, N., Wang, M., Zhang, L., Xiao, S., Fei, C., Wang, X., Zhang, K., Zheng, W., Wang, C., Yang, R. and Xue, F. "Effects of Low Molecular Weight Yeast beta-Glucan on Antioxidant and Immunological Activities in Mice", *International Journal of Molecular Sciences*, 16(9), 21575-21590, 2015.
- [9]. Mason, R. *What is beta glucan?*, Safe Goods Publishing, USA, 2011.
- [10]. Lee, J.W., Byun, E.H., Sung, N.Y., Raghavendran, H.R., Byun, E.B., Kim, J.H., Choi, J.I., Shin, M.G. and Byun, M.W. "Effect of gamma irradiation on the efficacy of beta-glucan against acetaminophen induced toxicity in mice", *Chemico-Biological Interactions*, 180(1), 98-105, 2009.

- [11]. Byun, E.H., Kim, J.H., Sung, N.Y., Choi, J., Lim, S.T., Kim, K.H., Yook, H.S., Byun, M.W. and Lee, J.W. "Effects of gamma irradiation on the physical and structural properties of β -glucan", *Radiation Physics and Chemistry*, 77(6), 781-786, 2008.
- [12]. Cho, M., Kim, B.Y., Rhim, J.H. "Degradation of alginate solution and powder by gamma irradiation", *Food Engineering Progress*, 7, 141-145, 2003.
- [13]. L.Q. Luan, N.H.P. Uyen., "Radiation degradation of (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan from yeast with a potential application as a plant growth promoter", *International Journal of Biological Macromolecules*, 69, 175-180, 2014.
- [14]. N. T. Long, D. H. Xô, L.Q. Luân, "Nghiên cứu tác động của β -glucan cắt mạch bằng phương pháp bức xạ lên các chỉ số tăng trọng và sinh hóa máu ở chuột nhắt", *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 14(3), 419-426, 2016.
- [15]. N. T. Long, N. T. N. Anh, H. N. Son, L.Q. Luân, "Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan ở chuột nhắt của β -glucan đã xử lý cắt mạch bởi tia gamma Co^{60} ", *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 15(3A), 47-53, 2017.
- [16]. Egbuna, P. A. C., Joshua, P.E., Chigbo, M.U. "Antihepatotoxic effects of *Ficus Vogelli* ethanol leaf extracts on the live function indices of CCl_4 -induced hepatotoxicity in rats", *Journal of American Science*, 7(6), 158-163, 2011.
- [17]. Toklu, H.Z., Sehirli, A.O., Velioglu-Ogunc, A., Cetinel, S. and Sener, G. "Acetaminophen-induced toxicity is prevented by beta-D-glucan treatment in mice", *European Journal of Pharmacology*, 543(1-3), 133-140, 2006.
- [18]. Woo, P.C., Kaan, S.K. and Cho, C.H. "Evidence for potential application of zinc as an antidote to acetaminophen induced hepatotoxicity", *European Journal of Pharmacology*, 293(3), 217-224, 1995.

STUDY ON THE HEPATOPROTECTIVE EFFECTS OF IRRADIATED β -GLUCAN IN SWISS MICE

NGUYEN THI NGOC ANH¹, LAM VY NGUYEN¹, NGUYEN THI DUNG¹,
LE QUANG LUAN^{1*}

¹*Biotechnology Center of Ho Chi Minh City*

*Email: lequangluan@gmail.com

Abstract: The water-soluble β -glucan with molecular weight (Mw) \sim 25 kDa was prepared by γ -rays (Co-60) radiation degradation. The obtained 25kDa- β -glucan sample was tested on CCl_4 induced hematotoxic mice by oral administration with daily doses of 1 - 4 mg/head for evaluating their hepatoprotective activity via AST (Aspartate-aminotransferase) and ALT (Alanine-aminotransferase) indexes. The results indicated that the values of both AST and ALT indexes in blood of tested mice decreased by the increase of irradiated β -glucan concentration. The lowest AST index was found in blood of CCl_4 induced hematotoxic mice supplemented by 4 mg/head irradiated β -glucan with a value of 62 U/L (reduced 69% compared to that in blood of the CCl_4 induced hematotoxic mice supplemented with only distilled water). In addition, the supplemented with irradiated β -glucan also caused a strongest effect on reduction of ALT index in blood of tested mice with a value of 62.4 U/L (reduced 52% compared to that in blood of the the CCl_4 induced hematotoxic mice supplemented with only distilled water). These results indicated that the water-soluble β -glucan with Mw \sim 25 kDa prepared by γ -rays irradiation is very promising natural product and can be used in functional food for liver detoxicity and protection.

Key words: Alanine-aminotransferase), Aspartate-aminotransferase, hepatoprotective, water soluble β -glucan, γ -rays, irradiation