

BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU HOẠT ĐỘ ENZYM SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD) TRÊN NGƯỜI KHỎE MẠNH Ở CÁC ÁP SUẤT KHÁC NHAU TRONG ĐIỀU KIỆN CAO ÁP

Nguyễn Thị Vân Anh

Trương Thị An

Nguyễn Trường Sơn

Viện Y học biển VN

TÓM TẮT

Mục tiêu nghiên cứu:

Mô tả sự biến đổi hoạt độ của enzym SOD trong điều kiện ô xy cao áp với áp suất khác nhau tại Viện Y học biển năm 2018, trên cơ sở đó xác định áp suất tối ưu và áp suất cực hạn cho việc bài tiết SOD.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:

Đối tượng nghiên cứu là 120 sinh viên bình thường, gồm 60 nam và 60 nữ.

Phương pháp nghiên cứu mô tả cắt ngang.

Kết quả nghiên cứu:

- Hoạt độ SOD của nam giới trước khi điều trị ô xy cao áp là $71,49\% \pm 5,11$; và khi tiến hành điều trị ô xy cao áp với áp suất là 2,0 ATA hoạt độ SOD đạt được là $76,94\% \pm 6,68$, áp suất 2,8 ATA là $77,63\% \pm 5,3$ và với áp suất 3,0 ATA là $76,58\% \pm 4,48$.

- Đối với nữ giới biến đổi hoạt độ enzym SOD cũng tương tự nam giới nhưng hơi thấp hơn.

- Hoạt độ enzym SOD tăng lên đỉnh cao nhất khi áp suất đạt áp suất 2,8 ATA; và khi tăng đến mức áp suất 3,0 ATA hoạt độ SOD bắt đầu giảm xuống nhưng vẫn ở mức xấp xỉ áp suất 2,0 ATA.

Kết luận:

Qua nghiên cứu, bước đầu chúng tôi thấy có sự biến đổi hoạt độ của SOD khi tăng áp suất từ 1 ATA lên 2 ATA; hoạt độ được giữ đến mức áp suất là 2,8 ATA và có xu hướng giảm khi áp suất đạt 3,0 ATA.

Từ khóa: hoạt độ SOD, superoxide dismutase, oxy áp suất cao, môi trường cao áp.

**THE FIRST STEP TO RESEARCH ACTIVITY OF ENZYME SUPEROXIDE
DISMUTASE (SOD) OF NORMAL PERSON IN HYPERBARIC
ENVIRONMENT WITH OTHER PRESSURE LEVEL**

*Nguyen Thi Van Anh
Truong Thi An
Nguyen Truong Son
From VINIMAM*

ABSTRACT

Objective:

Describe the change of the activity of enzyme SOD in high pressure oxygen with other pressure in VINIMAM in 2018, on that basic determine the maximum and minimum pressure for excreting enzyme SOD

Materials and methods:

The authors have used descriptive study

The study was carried out on 120 students, normal (60 men and 60 women)

Results:

Activity of enzyme SOD of men before in hyperbaric environment was $71.49\% \pm 5.11$; and in hyperbaric environment with 2.0 ATA: $76.94\% \pm 6.68$; 2.8 ATA: $77.63\% \pm 5.3$; 3.0 ATA: $76.58\% \pm 4.48$.

Activity of enzyme SOD of women was as same as SOD of men; however activity of SOD was slightly lower

Activity of enzyme SOD rised to the highest at a pressure level of 2.8 ATA; and at pressure level of 3.0 ATA, it had slight decrease however approximate at 2.0 ATA.

Conclude:

Initial research found that there was a change in activity of SOD when the pressure increased from 1 ATA to 2 ATA, kept at the pressure of 2.8 ATA, and tended to decrease when the pressure was 3.0 ATA

Key words: *activity of SOD, superoxide dismutase, hyperbaric oxygen, hyperbaric environment.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gốc tự do là phân tử hóa học mang một điện tử duy nhất. Theo các nhà khoa học gốc tự do hủy hoại tế bào bằng cách: ô xy hóa màng tế bào gây cản trở việc thải chất cặn bã và hấp thu dinh dưỡng của tế bào, sau đó gốc tự do tấn công ty lạp thể - nơi xảy ra các chuyển hóa tạo năng lượng do đó phá vỡ nguồn năng lượng của cơ thể. Bác sĩ Denham Harman thuộc Đại học Berkeley, California, là nhà khoa học đầu tiên nhận ra gốc tự do gây tổn thương tế bào và là một trong nhiều nguyên nhân gây sự lão hóa, lão suy, Alzheimer, tăng huyết áp vô căn, đái tháo đường, bệnh xơ vữa động mạch, ung thư.

Có nhiều loại gốc tự do nguy hiểm như: superoxide (O_2^-), ozon (O_3), hydrogen peroxid (H_2O_2), peroxy lipid, hydroxyl radical gây ra nhiều tổn thương tế bào. Nó có thể là hậu quả của sự căng thẳng kéo dài, mệt mỏi, ô nhiễm môi trường, thuốc lá, tia phóng xạ, thực phẩm có chất màu tổng hợp, hóa chất công nghiệp, nước có nhiều chlorin.

Để chống lại các gốc tự do, trong cơ thể có một hệ thống các chất chống oxy hóa (antioxidant) có vai trò khử các chất ô xy hóa và gốc tự do gây hại đến tế bào để duy trì hiệu quả của cân bằng trong cơ thể. Chất chống ô xy hóa được chia thành 2 loại:

- Các chất chống ô xy hóa không có bản chất enzym: đó là các vitamin C, E, A, B₂ có khả năng chống ô xy hóa do chúng có thể phân hủy được peroxid, ô xy đơn bội, gốc tự do khác, ngăn chặn gốc tự do hoặc ngăn chặn quá trình oxy hóa sinh học do một cơ chế gián tiếp nào khác. Có thể có sẵn trong cơ thể hoặc từ một loại thuốc nào đó.

- Các chất chống ô xy hóa có bản chất là enzym: enzym chuyên thu dọn các gốc tự do sinh ra từ các phản ứng sinh hóa của tế bào. Thông thường các enzyme chống ô xy hóa có ở huyết tương, dịch mô, dịch tủy sống như glutathione peroxidase, catalase và SOD (Superoxide dismutase).

Trong cơ thể, gốc tự do O_2^- là gốc tự do nguy hiểm được SOD chuyển thành O_2 và H_2O_2 (là gốc tự do ít nguy hiểm hơn), sau đó Catalase và Glutathion peroxidase chuyển H_2O_2 thành nước và O_2 . Trong cơ thể, SOD đặc biệt quan trọng trong quá trình antioxidant.

SOD có 3 loại cơ bản: MnSOD, ZnCu SOD và EC SOD trong đó chủ yếu là ZnCu SOD chiếm 90% trong bào tương tế bào. Trong đó có 2% có trong màng ty thể, điều này quan trọng để ty thể tránh khỏi tác hại của gốc tự do. EC SOD cũng gắn Zn và Cu nó là đồng phân của SOD. EC SOD có ở ngoài tế bào và ở nhiều tổ chức: phổi, tim, thận, huyết tương, dịch não tủy. Mn SOD tìm thấy trong ty thể, nó quan trọng trong việc chống gốc tự do trong Stress. Người ta đã thấy Mn SOD giảm trong các loại ung thư tế bào và mức tăng MnSOD tỷ lệ nghịch với mức độ ác tính của ung thư.

Trị liệu ô xy cao áp bao gồm việc cho người điều trị thở các loại khí y học dùng để điều trị (chủ yếu là ô xy) dưới một áp suất cao hơn áp suất khí quyển. Ô xy cao áp có hai tác dụng chính lên cơ thể con người: thứ nhất là nó làm giảm kích thước bóng khí trong cơ thể (tai biến trong lặn...); thứ hai là nó làm tăng áp lực riêng phần của ô xy ở tất cả các mô của cơ thể. Do có áp lực cao hơn bình thường nên nó cung cấp lượng ô xy với những đặc tính khác so với ô xy ở áp suất khí quyển. Ô xy cao áp có nhiều tác dụng đối với các cơ quan, mô và với các chuyển hóa trong cơ thể.

Vậy trong điều kiện ô xy cao áp sự biến đổi của SOD như thế nào? Đã có nhiều tác giả nghiên cứu về sự biến đổi của SOD trong viêm gan mạn, trong quá trình lão hóa và bệnh tật, nhưng chưa có tác giả nào nghiên cứu sự biến đổi của SOD trong điều kiện ô xy cao áp. Chính vì vậy chúng tôi thực hiện đề tài “*Bước đầu nghiên cứu hoạt độ Enzym Superoxide Dismutase (SOD) trên người khỏe mạnh ở các áp suất khác nhau trong điều kiện cao áp*” nhằm mục tiêu:

Mô tả sự biến đổi hoạt độ của Enzym SOD trong điều kiện ô xy cao áp với áp suất khác nhau tại Viện Y học biển năm 2018, trên cơ sở đó xác định áp suất tối ưu và áp suất cực hạn cho việc bài tiết SOD.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Những người bình thường, được chọn ngẫu nhiên từ sinh viên đang học tại trường Đại học Y Dược Hải Phòng; hiện tại không mắc các bệnh cấp tính, mạn tính, không có các chống chỉ định đối với HBOT.

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian: năm 2018.

- Địa điểm: tại Trung tâm Y học dưới nước và Ô xy cao áp và Khoa XNTH Viện Y học biển Việt Nam

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp nghiên cứu: mô tả cắt ngang

2.3.2. Cỡ mẫu: gồm 120 sinh viên gồm 60 sinh viên nam và 60 sinh viên nữ

- Phương pháp chọn mẫu có chủ đích:

+ Chọn ngẫu nhiên theo phương pháp lập danh sách toàn bộ lớp sinh viên chia thành 2 nhóm nam và nữ, sau đó chọn các sinh viên có số thứ tự là số lẻ để tham gia nghiên cứu. Các sinh viên này sau đó được khám lâm sàng và lấy máu xét nghiệm hoạt độ SOD trước khi vào buồng ô xy cao áp tại Trung tâm Y học dưới nước và Ô xy cao áp. Sau khi vào buồng các đối tượng sẽ được thử nghiệm với các mức áp suất 2,0 ATA; 2,8 ATA; 3,0 ATA.

+ Tiến hành tăng áp phối hợp với thở ô xy cao áp ngắt quãng theo phác đồ VINIMAM 1A (2 ô xy x 30 phút, ngắt quãng 5 phút sau lần thở ô xy 1), các thời điểm áp suất khác nhau đối tượng sẽ được lấy máu rồi chuyển về labo xét nghiệm tổng hợp để định lượng hoạt độ enzym SOD.

2.3.3. Nội dung và các chỉ tiêu nghiên cứu

* Nội dung nghiên cứu:

- Đối tượng nghiên cứu được lấy máu xét nghiệm enzym SOD ở các thời điểm khác nhau (trước khi vào buồng, ở các thời điểm áp suất khác nhau là 2,0 ATA; 2,8 ATA; 3,0 ATA và sau khi ra khỏi buồng cao áp).

* Các chỉ tiêu nghiên cứu:

- Hoạt độ Enzym SOD trước khi vào chạy ô xy cao áp.
- Hoạt độ Enzym SOD tại thời điểm áp suất 2,0 ATA.
- Hoạt độ Enzym SOD tại thời điểm áp suất 2,8 ATA.
- Hoạt độ Enzym SOD tại thời điểm áp suất 3,0 ATA.

* Thiết bị, hóa chất, nguyên lý xét nghiệm sử dụng trong đề tài:

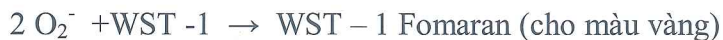
+ Dàn ELISA của hãng BioTex - Đức.

+ Các kit hóa chất của hãng Sigma - SOD Assay Kit của Nhật.

+ Nguyên lý của xét nghiệm: Phương pháp gián tiếp sử dụng WST - 1, đo màu.



+ *Nếu không có SOD*: O_2^- sẽ phản ứng với WST-1:



+ *Nếu có SOD*: O_2^- kết hợp với nước dưới tác dụng của SOD



Trong thời gian 20 phút O_2^- còn lại do không được SOD xử lý hết nó sẽ kết hợp với WST-1 cho sản phẩm WST-1 Fomaran màu vàng.

$$\% = \frac{\text{WST-1 Fomaran không có SOD} - \text{WST-1 Fomaran còn lại khi có SOD}}{\text{WST-1 Fomaran khi không có SOD}} \times 100$$

Đánh giá hoạt độ SOD: gián tiếp qua tỷ lệ %

% càng cao hoạt độ Enzym SOD càng mạnh.

2.4. Phương pháp hạn chế sai số

- Đối với nhân viên Trung tâm Y học dưới nước và Ô xy cao áp: đảm bảo thực hiện đúng các quy trình kỹ thuật theo quy định.

- Đối với nhân viên khoa Xét nghiệm: thành thạo thao tác kỹ thuật, đảm bảo đúng quy trình làm xét nghiệm.

- Trang thiết bị: chuẩn hoá máy bằng huyết thanh chuẩn của hãng, hoá chất xét nghiệm cung cấp đồng bộ theo máy.

2.5. Xử lý số liệu

Các số liệu nghiên cứu được xử lý trên phần mềm thống kê y sinh học.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

Bảng 3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Chỉ tiêu nghiên cứu	Kết quả nghiên cứu		
	Nam	Nữ	Tổng
Số lượng	60	60	120
Tuổi đời trung bình	30,8 ±4,0	29,8 ± 4,0	30,45±4,0

Tổng số đối tượng nghiên cứu là 120 người, trong đó có 60 nam và 60 nữ, với tuổi đời trung bình là 30,45 ± 4,0 tuổi. Lứa tuổi của đối tượng nghiên cứu còn khá trẻ.

Bảng 3.2. Kết quả hoạt độ enzym SOD trong máu của đối tượng nghiên cứu ở các thời điểm áp suất khác nhau của nam giới

KQ	ĐTNC	Áp suất (ATA)	Nam (%)
		Khí quyển	71,49 ± 5,11
Hoạt độ trung bình		2	76,94 ± 6,68
Hoạt độ trung bình		2,8	77,63 ± 5,3
Hoạt độ trung bình		3,0	76,58 ± 4,48

Bảng 3.3. Kết quả trung bình hoạt độ Enzym SOD trong máu nghiên cứu tại thời điểm áp suất khác nhau của nữ giới

KQ	ĐTNC	Áp suất (ATA)	Nữ
		Khí quyển	70,20 ± 4,91
Hoạt độ trung bình		2	75,55 ± 5,95
Hoạt độ trung bình		2,8	76,56 ± 5,72
Hoạt độ trung bình		3,0	76,38 ± 4,98

Kết quả đo hoạt độ của enzym SOD trước khi chạy ô xy cao áp (ở mức áp lực khí quyển) của nam giới trung bình là 71,49 % ± 5,11, hoạt độ enzym SOD của nữ giới từ 70,20% ± 4,91 ở áp suất 1 ATA. Khi tăng áp suất lên 2 ATA hoạt độ enzym SOD tăng lên rõ rệt (từ 71,49% tăng lên 76,94%), điều này có một ý nghĩa hết sức quan trọng trong việc chống lại các gốc tự do, nhất là các gốc tự do có nguồn gốc ô xy hóa khử và rõ ràng trị liệu ô xy cao áp có tác dụng chống lại các gốc tự do vì rằng dưới điều kiện kích thích của ô xy cao áp màng tế bào tăng cường sản xuất SOD và ATP, chất vận tải vật chất qua màng do đó nó vừa có tác dụng phục hồi chức năng của màng tế bào vừa có tác dụng trung hòa các gốc tự do do quá trình ô xy hóa sinh ra. Kết quả nghiên cứu

của chúng tôi cho thấy khi tăng áp suất từ 1 ATA đến 2 ATA thì hoạt độ enzym SOD tăng lên cao nhất ở áp suất 2 ATA. Đến mức áp suất O₂ là 2,8 ATA và 3,0 ATA hoạt độ enzym SOD xu hướng giảm, thấp nhất là ở áp suất 3,0 ATA. Trong khi đó quá trình ô xy hóa ở các mô, tế bào vẫn tiếp tục tăng trong điều kiện ô xy cao áp, nên nếu tiếp tục thở ô xy cao áp nguy cơ ngộ độc ô xy sẽ rất cao. Vì lẽ đó theo Ủy ban trị liệu ô xy cao áp quốc tế (UHMS) trong trị liệu ô xy cao áp trong lâm sàng áp suất an toàn tối đa chỉ cho phép chạy đến mức áp suất là 2,8 ATA.

Khi chạy oxy cao áp đến mức áp suất là 2,0 ATA, hoạt độ SOD trung bình ở nam $76,94\% \pm 6,68$; trung bình của nữ giới là $75,55\% \pm 5,95$

Bảng 3.4. So sánh sự thay đổi hoạt độ enzym SOD trong máu của đối tượng nghiên cứu trong quá trình chạy ô xy cao áp

ĐTNC \ KQNC	Trước điều trị HBO (a)	Điều trị ở các chế độ P khác nhau			p
		2,0 ATA (b)	2,8 ATA (c)	3,0 ATA (d)	
Nam	71,49 ± 5,11	76,94 ± 6,68	77,63 ± 5,30	76,58 ± 4,48	p(a,b) < 0,05; p(b,d) < 0,05
Nữ	70,20 ± 4,91	75,55 ± 5,95	76,56 ± 5,72	76,38 ± 4,98	p(a,b) < 0,05; p(b,d) < 0,05

Khi tiến hành so sánh hoạt độ SOD của nam giới trước khi vào buồng chạy ô xy cao áp thấy có sự thay đổi từ $71,49\% \pm 5,11$ tăng lên $76,68\% \pm 5,30$ ở mức áp suất là 2,0 ATA, và $77,63\% \pm 5,30$ ở áp suất 2,8 ATA; đến áp suất 3,0 ATA hoạt độ này bắt đầu không thấy tăng lên nữa mà có xu hướng giảm xuống mức $76,58\% \pm 4,48$. Sự khác biệt tăng lên của kết quả SOD trước khi chạy ô xy cao áp và khi chạy đạt mức áp suất 2,0 ATA, 2,8 ATA là có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Với áp suất 2,8 ATA hoạt độ SOD tăng cao nhất so với trước khi vào buồng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Còn khi đạt mức áp suất là 3,0 ATA, hoạt độ SOD tuy vẫn ở mức cao nhưng giá trị không cao bằng mức áp suất 2,8 ATA và vẫn cao hơn nhiều lúc ban đầu trước khi vào buồng cao áp. Có thể nói khi tăng ô xy sẽ làm tăng hoạt động của enzym SOD, nhưng khi tăng đến áp suất 3,0 ATA thì hoạt độ SOD không tăng và bằng giá trị ở mức áp suất 2,8 ATA. Kết quả đo hoạt độ enzym SOD ở nữ giới cũng cho kết quả tương tự như nam giới.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 120 người bình thường kết quả thu được như sau:

- Hoạt độ SOD của nam giới trước khi chạy ô xy cao áp là $71,49\% \pm 5,11$; và khi tiến hành chạy ô xy cao áp với áp suất là 2,0 ATA hoạt độ SOD đạt được là $76,94\% \pm 6,68$, áp suất 2,8 ATA là $77,63\% \pm 5,3$, và với áp suất 3,0 ATA là $76,58\% \pm 4,48$.

- Đối với nữ giới biến đổi hoạt độ enzym SOD cũng tương tự nam giới nhưng hơi thấp hơn.

- Hoạt độ enzym SOD tăng lên đỉnh cao nhất khi áp suất đạt đỉnh 2,8 ATA; và khi tăng đến mức áp suất 3,0 ATA hoạt độ SOD bắt đầu giảm xuống nhưng vẫn ở mức xấp xỉ mức áp suất 2,0 ATA.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Trường Sơn (2010), Y học cao áp lâm sàng, Y học dưới nước và cao áp, sách Bài giảng Y học biển T2, NXBYH, Hà Nội 2010.

2. Nguyễn Trường Sơn, Trần Thanh Cảng, Phạm Văn Non, Nguyễn Bảo Nam (2014), Nhân một trường hợp ngộ độc khí Các bon Monoxide (CO) nặng được Viện Y học biển Việt Nam cấp cứu thành công; Hội thảo chuyên đề y học biển, đảo Quốc gia lần thứ 4, *Tổng hội Y học Việt Nam xuất bản, Hà Nội, 2014*, trang: 3-7.

3. Nguyễn Trường Sơn, Phạm Văn Non (2014), Đánh giá kết quả bước đầu trong điều trị nhồi máu não bằng trị liệu ô xy cao áp tại Viện Y học biển Việt Nam, Hội thảo chuyên đề y học biển, đảo Quốc gia lần thứ 4, *Tổng hội Y học Việt Nam xuất bản, Hà Nội, 2014*, trang:47-54.

4. Michael Bennett Franzca (2008), The evidence basis of diving and hyperbaric Medicine, Prince of Wales Hospital and the University of NSW.

5. Eric P. Kindwall (1995), Hyperbaric medicine Practice, Best Publishing Company,, Aizona 86003-0100 USA