

KHẢ NĂNG KÍCH THÍCH MIỄN DỊCH CỦA ARABINOXYLAN TÁCH CHIẾT TỪ CẨM GẠO VIỆT NAM

Trịnh Tất Cường¹, Giang Huy Diễm¹,

Hoàng Thị Mỹ Nhung², Nguyễn Thị Cúc¹, Nguyễn Thị Vân Anh¹

¹Phòng Thí nghiệm Trọng điểm Công nghệ Enzyme và Protein

²Khoa Sinh học - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên

Arabinoxylan sản xuất từ cẩm gạo Việt Nam đã được đánh giá hoạt tính kích hoạt tế bào lymphocyte của chuột khi sử dụng cho chuột ở bốn liều lượng 50, 75, 100 và 200 mg/kg/ngày trong 30 ngày. Nghiên cứu này nhằm chứng minh khả năng kích hoạt tế bào lymphocyte của Arabinoxylan từ cẩm gạo Việt Nam. Liều lượng 200 mg/kg/lần đã kích thích tiết INF (interferon)- γ ở nồng độ cao nhất trong huyết thanh chuột là 340 pg/ml. Liều lượng 100 mg/kg/lần đã kích hoạt tế bào giết tự nhiên ở mức độ cao nhất dẫn tới tỉ lệ giết tế bào Sarcoma 180 chết là 183% so với đối chứng. Như vậy, Arabinoxylan tách chiết từ cẩm gạo Việt Nam có thể được xem như một chất tiềm năng có khả năng kích thích hoạt động của hệ thống miễn dịch thông qua việc kích hoạt tế bào giết tự nhiên và tăng quá trình tiết INF- γ .

Từ khóa: Arabinoxylan, tế bào lymphocyte, tế bào Sacroma 180, INF- γ

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Arabinoxylan chiết xuất từ cẩm gạo đã được một số nhóm nghiên cứu ở Hoa Kỳ và Nhật Bản chứng minh có khả năng tăng cường miễn dịch ở chuột và người với hiệu quả cao hơn nhiều chất khác có trong tự nhiên hoặc ở dạng tổng hợp [1, 2, 3, 4]. Mặc dù cho tới nay chưa được nhận biết chính xác về cơ chế tác động của Arabinoxylan nhưng các kết quả nghiên cứu đều chứng minh Arabinoxylan có khả năng giúp cơ thể tăng cường quá trình sinh các cytokine giống như interferon (IFN), interleukin [1]. Do vậy, Arabinoxylan có khả năng giúp cơ thể phá hủy một số tế bào bị hỏng và virus. Ngoài ra, Arabinoxylan có khả năng kích thích hệ thống miễn dịch làm tăng cường hoạt động của tế bào lymphocyte. Trong hệ thống miễn dịch, tế bào lympho B

giúp cho cơ thể sản xuất ra kháng thể. Trong khi đó, tế bào lympho T và tế bào giết tự nhiên (NK) trực tiếp tham gia vào phá hủy virus hoặc các tế bào bị nhiễm vi khuẩn và các tế bào có khả năng phát triển thành tế bào ung thư [3]. Một số công trình nghiên cứu đã chứng minh được vai trò quan trọng của Arabinoxylan trong khả năng kích hoạt quá trình hoạt động của tế bào NK và điều khiển các thụ thể ở trên dòng tế bào này thông qua việc đánh giá khả năng tiết INF- γ . Tuy nhiên, hiện nay vẫn chưa có công trình nghiên cứu nào đánh giá được vai trò của Arabinoxylan tách chiết từ cẩm gạo Việt Nam đối với hệ thống miễn dịch. Do vậy, mục tiêu của nghiên cứu này nhằm chứng minh được khả năng kích hoạt tế bào lymphocyte của Arabinoxylan từ cẩm gạo Việt Nam. Từ các kết quả nghiên cứu này đã cho thấy khả năng kích thích quá trình tiết ra INF- γ trong huyết thanh chuột và kích hoạt tế bào lymphocyte khi chuột được uống Arabinoxylan tách chiết từ nguồn cẩm gạo Việt Nam.

Địa chỉ liên hệ: Trịnh Tất Cường, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên

Email: cuongtnnhtal@gmail.com

Ngày nhận: 23/9/2013

Ngày được chấp thuận: 28/4/2014

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

- Chuột nhắt trắng dòng Swiss (*Mus musculus*) có trong lượng trung bình từ 27 - 30 g/ con do viên Vệ sinh dịch tễ cung cấp

- Dòng tế bào ung thư mô liên kết Sarcoma 180 do nhóm nghiên cứu Ung thư thực nghiệm, trường Đại học Khoa học Tự nhiên cung cấp.

- Chế phẩm Lentin plus 1000 (Nhật Bản) là dạng Arabinoxylan thương phẩm đã được bán trên thị trường, được ký hiệu LP

- Chế phẩm Arabinoxylan có kích thước 30 - 50 kDa, tách chiết từ cám gạo Việt Nam do nhóm nghiên cứu thuộc phòng Thí nghiệm Trong điểm Công nghệ Enzyme và Protein, trường Đại học Khoa học Tự nhiên thực hiện (5). Được ký hiệu là HA.

2. Phương pháp

- Phân lập tế bào lympho từ hạch bạch huyết của chuột

Tiến hành gây mê chuột bằng ether và mổ bóc lộ toàn bộ xoang bụng và xoang ngực. Sau đó, thu lấy các hạch bạch huyết ở vị trí chân và cổ. Các hạch bạch huyết sau khi thu được sẽ được chuyển vào đĩa nuôi cấy đã có sẵn PBS 1X vô trùng. Tiếp tục nghiền nhẹ nhàng các hạch bạch huyết và đếm tế bào lymphocyte thu được dưới kính hiển vi soi ngược. Sau đó, ly tâm và thu tế bào lymphocyte

- Phương pháp gây u bàng trên chuột:

Dòng tế bào Sarcoma 180 đã rẽ đông được chuyển vào ống ly tâm chứa sẵn 10ml môi trường RPMI. Trộn đều hỗn hợp rồi ly tâm loại bỏ dịch nổi. Bổ sung môi trường nuôi cấy mới rồi để tế bào sinh trưởng trong tủ nuôi ở 37°C và 5% CO₂. Khi tế bào phát triển tốt, tiến hành cấy truyền tế bào ung thư lên chuột bằng cách đưa vào xoang bụng mỗi chuột thí

nghiệm 10⁶ tế bào ung thư.

- Phương pháp tách lấy tế bào ung thư Sarcoma 180 từ bụng bàng của chuột:

Gây mê chuột bằng ether, khử trùng toàn thân bằng cồn 70°C. Tiến hành mổ bóc lộ toàn bộ khoang bụng của chuột. Dùng bơm tiêm nước sạch, hút lấy dịch bàng trong xoang bụng của chuột, chuyển dịch bàng vào đĩa nuôi cấy đã có sẵn môi trường và ly tâm để loại hồng cầu. Tế bào vừa tách ra được bổ sung môi trường mới, nuôi qua đêm trong tủ nuôi ở 37°C và 5% CO₂.

- Quy trình tách chiết Arabinoxylan từ cám gạo Việt Nam

Sản phẩm HA được tách chiết từ cám gạo Việt Nam như mô tả chi tiết trong công bố khoa học do tác giả Đinh Thị Hương và cộng sự [5]. Cám gạo được sấy ở 120°C trong 30 phút để bất hoạt các enzyme có sẵn trong cám gạo và giết vi khuẩn. Sau đó bột cám gạo đã sấy được trộn với dung dịch đệm pH 6,0 với tỷ lệ 1 cám 7 thể tích đệm. Các bước tiền xử lý enzyme được tiến hành với các enzyme (i) amylase để thủy phân tinh bột, (ii) với cellulase để thủy phân cellulose, (iii) với protease để thủy phân protein, (iv) xử lý nhiệt để bất hoạt toàn bộ các enzyme. Cám gạo sau đó được ly tâm loại dịch chứa các sản phẩm thủy phân, thu bã để tiếp tục thủy phân bằng enzyme endoxylase. Nồng độ endoxylase được sử dụng để thủy phân là 0,04 Unit/g cám gạo, đệm pH 5, nồng độ muối NaCl 120 mM, nhiệt độ 55°C, thời gian 5 giờ. Sản phẩm sau thủy phân lại được ly tâm loại bỏ bã để thu dịch chiết thô Arabinoxylan. Dịch chiết thô tiếp tục được lọc qua cột lọc cut-off 300 kDa để thu lấy dịch qua cột chứa arabinoxylan và tiếp tục cho qua cột lọc cut-off 10 kDa để cô đặc Arabinoxylan kích thước khoảng 30 - 50 kDa và loại bỏ các đường đơn phân từ lượng nhỏ. Arabinoxylan cô đặc sau đó được đông khô.

lưu mẫu cho các thử nghiệm tiếp theo đánh giá chất lượng. Sản phẩm sau đó được kiểm định chất lượng tại khoa Thực phẩm - Vệ sinh an toàn thực phẩm, viện Dinh dưỡng Quốc gia. Các thử nghiệm đánh giá chất lượng bao gồm: (i) hàm lượng Arabinoxylan mạch dài (tổng hàm lượng arabinose và xylose mạch dài, không kể đường đơn, là 7,62 g/100 g bột), kích thước của Arabinoxylan (> 80% đạt kích thước 30 - 50 kDa) Ngoài ra còn một số chỉ tiêu như protein tổng số, đường tổng số, độ ẩm, nhiễm asen, tổng số vi khuẩn hiếu khí, vi khuẩn gây bệnh *E. coli* và coliform đều nằm trong khoảng cho phép của an toàn vệ sinh thực phẩm

- Phương thức và liều tác động

Phân chia chuột một cách ngẫu nhiên thành các lô như sau

Đối chứng sinh học: nuôi bình thường (ki hiệu ĐCSH)

Đối chứng dung môi: mỗi ngày uống 0,15 ml nước (ki hiệu ĐCDM)

Lô uống LP hoặc HA liều 50 mg/kg/ngày mỗi ngày uống 0,15ml nồng độ 10 mg/ml, ký hiệu LP(L1) hoặc HA (A1)

Lô uống LP hoặc HA liều 75 mg/kg/ngày mỗi ngày uống 0,15 ml nồng độ 15 mg/ml, ký hiệu LP(L2) hoặc HA (A2)

Lô uống LP hoặc HA liều 100 mg/kg/ngày mỗi ngày uống 0,15 ml nồng độ 20 mg/ml, ký hiệu LP(L3) hoặc HA (A3)

Lô uống LP hoặc HA liều 200 mg/kg/ngày mỗi ngày uống 0,15 ml nồng độ 40 mg/ml, ký hiệu LP(L4) hoặc HA (A4).

Chuột được cho uống chế phẩm một lần/ngày, hàng ngày vào cùng một thời điểm và kéo dài trong 30 ngày

- Enzyme - linked immunosorbent assay (ELISA)

Máu của chuột thu được đem ly tâm để thu huyết thanh. Sau đó, phân tích mức độ của

INF- γ tiết ra trong dịch huyết thanh bằng kit ELISA của hãng BD Bioscience. Tất cả các bước phân tích được thực hiện như chỉ dẫn của nhà sản xuất.

- Phương pháp nhuộm tế bào chết.

PI (Propidium iodide) là loại thuốc nhuộm huỳnh quang có khả năng liên kết với axit nucleic mạch đôi, do vậy thường được sử dụng để nhuộm DNA/RNA. Tế bào nhuộm với PI ở nồng độ 1 μ g/ml trong 10' phút (tránh ánh sáng)

- Phương pháp xác định tỷ lệ tế bào chết:

Hỗn hợp tế bào sau khi nhuộm với PI sẽ được đếm bằng máy FACS Canto II (BD) để xác định tỷ lệ tế bào chết. PI được kích thích tại bước sóng 488 nm và bước sóng phát ra khoảng 615nm. Các tế bào được phân loại theo kích thước (FSC) và độ phức tạp (SSC). Sau đó được phân loại theo độ phát quang (PE). Tỷ lệ các loại tế bào được xử lý bằng phần mềm BD Canto Diva.

- Phân tích thống kê

Đối với phân tích thống kê, các số liệu được lấy từ các kết quả độc lập, được thể hiện ý nghĩa bằng \pm SD và được phân tích bằng student's t-test cùng với điều chỉnh Bonferroni hoặc ANOVA đối với nhiều phép so sánh. Sự khác nhau có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

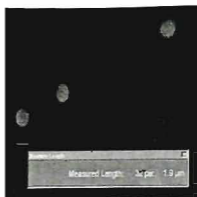
III. KẾT QUẢ

1. Tế bào lymphocyte tách ra từ hạch bạch huyết của chuột

Lượng tế bào NK trong hạch bạch huyết chiếm khoảng 41 - 43% tổng số tế bào lymphocyte. Do vậy, các hạch bạch huyết của chuột đã được tách ra để thu nhận các tế bào lymphocyte. Các tế bào sau khi tách ra có dạng hình tròn, với đường kính trung bình khoảng 2 μ m (hình 1)

A

B



Hình 1. Tế bào lymphocyte sau 2h tách từ hạch bạch huyết

(A) Các tế bào lymphocyte sau khi tách từ hạch lymphocyte. Ảnh chụp bằng kính hiển vi soi ngược Axiovert 40 CFL (Zeiss), độ phóng đại 200x. (B) Tế bào lymphocyte sau khi nhuộm với kháng thể kháng CD8 gắn thuốc nhuộm huỳnh quang R-PE. Đường kính tế bào khoảng 2μm. Ảnh chụp bằng kính hiển vi huỳnh quang Axioplan FL (Zeiss).

z. Arabinoxylan tăng nhẹ trọng lượng chuột

Để đánh giá được tác động của Arabinoxylan đến sự phát triển của chuột, chuột được cân 3 ngày một lần ở mỗi lô sau khi được uống chế phẩm HA và LP. Đồng thời, theo dõi các biểu hiện về hoạt động ăn, uống, vận động cơ học của chuột. Kết quả cân trọng lượng chuột được thể hiện ở bảng 1 cho thấy trong lượng của chuột khi cho uống HA tăng 10% và khi cho uống LP tăng 15% so với lô đối chứng. Chuột ở các lô đều khỏe mạnh, ăn uống và vận động bình thường (kết quả không trình bày ở đây).

Bảng 1. Tình hình cân nặng của chuột ở thí nghiệm

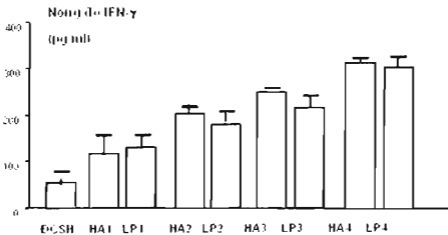
Lần cân	HA 1	HA2	HA3	HA4	LP1	LP2	LP3	LP4	ĐCSH	ĐCDM
1	20,54 ± 2	19,444 ± 2,5	20,088 ± 0,5	19,174 ± 2	20,172 ± 1,9	18,216 ± 2,3	20,72 ± 3,3	18,402 ± 0,5	20,974 ± 1,7	20,526 ± 1,7
2	24,626 ± 5,2	23,4 ± 4,5	24,506 ± 2,7	22,956 ± 3,5	24,108 ± 2,9	22,606 ± 4,7	26,314 ± 3,8	23,148 ± 2,8	23,96 ± 2	25,762 ± 1,8
3	27,126 ± 6,7	27,344 ± 4,3	28,924 ± 3,1	28,062 ± 4,1	30,852 ± 4,2	28,67 ± 5,4	31,036 ± 4,9	26,706 ± 6,8	24,824 ± 2,6	27,14 ± 1,9
4	27,974 ± 5,9	27,128 ± 3,5	28,84 ± 3,1	28,744 ± 3,8	28,272 ± 5,8	27,386 ± 5,3	29,748 ± 5,6	25,646 ± 7	23,692 ± 2,5	25,752 ± 2,3
5	30,942 ± 6	30,59 ± 3,8	30,744 ± 3,4	30,01 ± 3,3	29,644 ± 7	27,364 ± 5,8	30,752 ± 7,5	28,024 ± 8,2	28,542 ± 2,9	31,104 ± 4,2
6	31,966 ± 6,5	32,522 ± 4,6	33,062 ± 4	32,64 ± 3,6	32,964 ± 7,7	30,716 ± 7,2	33,902 ± 8,2	30,9 ± 8,5	32,77 ± 2,7	33,202 ± 5,3

Lần cân	HA 1	HA2	HA3	HA4	LP1	LP2	LP3	LP4	ĐCSH	ĐCDM
7	35,582 ± 6,8	34,806 ± 5,9	37,272 ± 4,7	37,492 ± 4,3	39,114 ± 8,2	33,386 ± 8,2	35,874 ± 9,5	36,786 ± 9,3	34,228 ± 7,3	38,214 ± 7,6
8	38,082 ± 6,1	35,476 ± 8,4	38,252 ± 5,3	39,264 ± 4,9	41,462 ± 8,1	36,195 ± 4,6	38,272 ± 9,3	39,51 ± 10	32,976 ± 6,2	36,18 ± 5,5
9	35,812 ± 5,2	33,284 ± 7,9	35,75 ± 4,3	33,608 ± 4,9	36,616 ± 6,8	32,924 ± 7,9	32,856 ± 8,5	35,642 ± 10	29,068 ± 5,7	33,985 15,8
10	38,894 ± 5,4	34,724 ± 9,1	38,704 ± 3,3	34,906 ± 6,3	40,354 ± 6,7	35,756 ± 8,6	37,834 ± 10,1	40,016 ± 10	30,778 ± 8,3	36,4125 ± 16,7

* ĐCSH: đối chứng sinh học; ĐCDM: đối chứng dung môi

3. Khả năng kích thích tiết ra INF- γ của Arabinoxylan trong huyết thanh chuột

Để đánh giá khả năng kích hoạt tế bào NK, huyết thanh của các lô chuột được uống HA và LP với liều lượng 50 - 200 mg/kg/ngày sau 30 ngày được phân tích nồng độ INF- γ . Kết quả đã chỉ ra trên hình 2, lượng INF- γ trong các lô chuột được uống HA và LP ở các nồng độ khác nhau đều tăng so với đối chứng. Nồng độ INF- γ trong các lô chuột được uống với HA và LP cùng liều lượng không có sự khác biệt nhiều. Khi tăng liều lượng HA hoặc LP thì khả năng sinh INF- γ được tăng lên rất có ý nghĩa. Nồng độ INF- γ tăng cao nhất, đạt khoảng gấp 3 lần so với lô đối chứng khi cho chuột uống HA ở liều lượng 200 mg/kg/ngày.



Hình 2. Mức độ biểu hiện INF- γ của các lô chuột sử dụng các chế phẩm với liều lượng khác nhau

ĐCSH: đối chứng sinh học, HA1- HA4 lần lượt là các liều cho chuột uống của Arabinoxylan sản xuất, LP1 - LP4 lần lượt là các liều cho chuột uống của Lentin plus 1000. Các mẫu được lặp lại ba lần.

4. Kết quả vùng mẫu chuẩn và các thông số chuẩn để phân tích mẫu

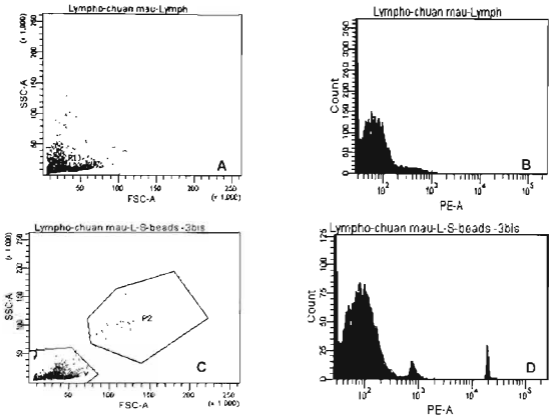
Để đánh giá được khả năng giết tế bào Sarcoma 180 của tế bào lymphocyte bằng máy BD FACS canto II, tế bào lymphocyte được tách ra ở các lô (đối chứng và thí nghiệm) đều được ủ với tế bào ung thư Sarcoma với tỷ lệ 100/1 trong 12h. Các mẫu sau đó được nhuộm PI để xác định tỷ lệ tế bào ung thư chết.

Các kết quả phân tích đã được chỉ ra trên hình 3. Kết quả thu được đối với tế bào lymphocyte không nhuộm PI cho thấy phần lớn quần thể mẫu tập trung tại vùng có giá trị SSC và FSC nhỏ (hình 3A). Đồng thời, tín hiệu huỳnh quang thu được khi nhuộm PI với tế bào lymphocyte cũng tập trung ở vùng giá trị nhỏ hơn 10^3 (hình 3B). Để tăng độ chính xác, hỗn hợp tế bào lymphocyte và Sarcoma 180 với tỷ lệ 100/1 được trộn với các hạt bead chuẩn của hãng có kích thước là 2 và 3 μm và gắn huỳnh quang PE với hai cường độ phát quang (yếu và mạnh). Kết quả thu được cho thấy ngoài vùng phân bố của tế bào lymphocyte xuất hiện thêm một vùng tế bào có kích thước lớn hơn và độ phức tạp cao hơn chính là tế bào Sarcoma 180, ký hiệu là P2 (hình 3C). Điều này hoàn toàn phù hợp vì các tế bào Sarcoma 180 có kích thước lớn hơn nhiều so với tế bào lymphocyte và các tế bào Sarcoma này có nhân phân thùy (hay còn gọi là nhân quái). Quan trọng hơn nữa là khi quan sát tín hiệu huỳnh quang nhân thấy trong quần thể mẫu xuất hiện thêm hai đỉnh tín hiệu một

đỉnh tại giá trị 10^3 và một đỉnh tín hiệu tại giá trị lớn hơn 10^4 . Đây chính là hai vùng tín hiệu huỳnh quang của hạt bead (hình 3D). Vùng tế bào Sarcoma 180 xác định tín hiệu huỳnh quang và nhận thấy giá trị cũng nhỏ hơn 10^4 tương tự như tế bào lymphocyte. Như vậy, từ kết quả này đã xác định được vùng mẫu chuẩn và các thông số chuẩn để đo mẫu thí nghiệm. Giá trị tín hiệu huỳnh quang phải lớn hơn 10^3 mới được xác định là có tín hiệu huỳnh quang, cũng có nghĩa là các tế bào ở vùng này được xác định là tế bào có PI hay là các tế bào chết trong mẫu thí nghiệm.

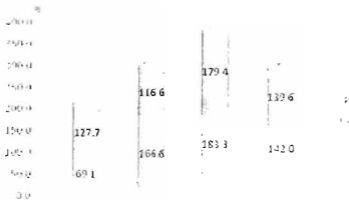
5. Tế bào lymphocyte đã gây chết tế bào Sarcoma 180 dưới tác động của Arabinoxylan

Sau khi đã xác định được các thông số chuẩn (SSC, FSC, PE), tỉ lệ chết của tế bào Sarcoma 180 đã được phân tích. Tỷ lệ chết của tế bào Sarcoma 180 sẽ chính là % các tế bào có tín hiệu huỳnh quang trong vùng mẫu P2 (là vùng tế bào ung thư, 3C) do phần mềm Diva tính toán. Từ các giá trị xác định được % tỷ lệ chết tăng ở mẫu thí nghiệm so với đối chứng. Kết quả được chỉ ra ở hình 4 cho thấy tỷ lệ tế bào Sarcoma 180 chết tăng dần khi tăng liều lượng HA và LP và đạt tỷ lệ chết cao nhất tăng 183% so với đối chứng ở liều 100 mg/kg/ngày. Tỷ lệ tế bào Sarcoma 180 chết trong các lô chuột được uống với HA và LP cùng liều lượng không có sự khác quá lớn, ngoại trừ ở nồng độ 50 mg/kg/ngày thì LP cho kết quả tốt hơn.



Hình 3. Kết quả phân tích vùng phân bố của tế bào lymphocyte và tế bào Sarcoma 180 không nhuộm và nhuộm huỳnh quang PI

(A): Các tế bào tập trung tại vùng có giá trị SSC và FSC nhỏ (B) Các tế bào có tín hiệu huỳnh quang nhỏ hơn 10³ (C) Xuất hiện vùng phân bố của các tế bào Sarcoma với các giá trị SSC và FSC lớn. (D): Xuất hiện hai đỉnh huỳnh quang của hạt bead chuẩn trong hỗn hợp mẫu



Hình 4. Tỷ lệ (%) tế bào Sarcoma 180 chết sau khi được ủ cùng với tế bào lymphocyte tách ra từ chuột uống HA hoặc LP

Tỷ lệ tế bào Sarcoma 180 chết so với các lò chuột được uống HA (màu xanh) và chuột uống LP (màu đỏ) 1 HA1, LP1, 2 HA2, LP2, 3 HA3, LP3, 4 HA4, LP4

IV. BÀN LUẬN

Đối với chuột ở các lô được uống HA hoặc LP phần lớn đều tăng sau mỗi lần cân, không có sự chênh lệch nhiều về tốc độ tăng trong giữa các lô. Kết quả này cũng giống như đã được chỉ ra ở các công bố trước [6]. Tuy nhiên, các lần cân thứ 4 và thứ 9 có sự giảm trong lượng chuột ở tất cả các lô, kể cả lô đối chứng. Tốc độ tăng trọng trung bình theo các lần cân không có sự khác biệt đáng kể giữa các lô (bảng 1). Ở giai đoạn sau của quá trình uống thuốc, tốc độ tăng trong ở các lô thí nghiệm HA3 và LP3 đều có xu hướng cao hơn so với đối chứng, khoảng 10 - 15%. Chuột ở các lô được uống chế phẩm không có dấu hiệu hoạt động khác thường so với lô đối chứng. Từ kết quả này cho thấy chế phẩm không có ảnh hưởng gì đến hoạt động sống của chuột.

Phân tích nồng độ INF- γ trong huyết thanh của các lô chuột đã xử lý với HA hoặc LP đều cho thấy nồng độ INF- γ tăng dần từ 120 pg/ml đến 340 pg/ml phụ thuộc vào liều lượng tăng dần của Arabinoxylan (hình 2). Từ kết quả này cho thấy Arabinoxylan là chất có tiềm năng kích thích sinh ra INF- γ , điều này đã được chứng minh ở mức *in vitro* ở dòng tế bào macrophage của người U937, macrophage ở chuột và dòng tế bào RAW 264 7 [3]. Với hàm lượng INF- γ tăng lên trong huyết thanh chuột đã kích hoạt một số tế bào thuộc tế bào lymphocyte như tế bào T, tế bào giết tự nhiên. INF- γ được biết là có độc tính mạnh đối với dòng tế bào ung thư [3]. Từ đó gợi ý rằng tế bào lymphocyte đã được kích hoạt và gây độc tố đối với tế bào Sarcoma 180. Trong bốn liều sử dụng (50, 75, 100 và 200 mg/kg thể trọng), tỷ lệ chết tăng cao nhất (so với đối chứng) là 183.3% tại nồng độ uống là 100mg/kg/lần (hình 4). Như vậy, đây là liều phù hợp nhất để

đạt kết quả gây chết tế bào ung thư tốt nhất. Tiếp tục tiến hành so sánh tỷ lệ chết của tế bào Sarcoma 180 giữa các lô uống HA và LP. Kết quả cho thấy, cả hai chế phẩm đều có tác dụng làm tăng tỷ lệ chết của tế bào ung thư so với mẫu đối chứng không uống chế phẩm. Cả hai chế phẩm đều đạt giá trị gây chết cao nhất tại nồng độ HA3 hoặc LP3. Tuy nhiên, tỷ lệ tế bào chết ở lô chuột uống HA cao hơn so với lô chuột uống chế phẩm thương mại LP (hình 4) (khác biệt có ý nghĩa với $p < 0,05$).

V. KẾT LUẬN

Chế phẩm Arabinoxylan tách chiết từ cám gạo Việt Nam (HA) có khả năng làm tăng trong lượng của chuột thí nghiệm. Quan trọng hơn, chế phẩm Arabinoxylan đã kích thích quá trình sinh ra INF- γ dẫn tới kích hoạt dòng tế bào lymphocyte gây độc tố tiêu diệt tế bào ung thư Sarcoma 180 giảm đi đáng kể. Liều uống có tác dụng tăng hoạt tính cao nhất của chế phẩm Arabinoxylan để các tế bào lymphocyte hoạt động có hiệu quả nhất là 100mg/kg thể trọng/lần.

Lời cảm ơn

Các tác giả chân thành cảm ơn Bộ Công thương đã tài trợ kinh phí (Đề tài mã số ĐT 02 11/CNSHCB, thuộc Đề án phát triển và ứng dụng công nghệ sinh học trong lĩnh vực công nghiệp chế biến đến năm 2020) để thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Badr El-Din NK, Noaman E, and Ghoneum M (2008) In vivo tumor inhibitory effects of nutritional rice bran supplement MGN-3/Biobran on Ehrlich carcinoma-bearing mice *Nutrition and Cancer*, (60), 235 - 244
2. Ghoneum M and A. Jewett (2000) Production of tumor necrosis factor-and inter-

feron from human peripheral blood lymphocytes by MGN-3, a modified arabinoxylan from rice bran, and its synergy with interleukin-2 in vitro *Cancer Detec Prev*, (24), 314.

3. Ghoneum M, and Matsuura M (2004). Augmentation of macrophage phagocytosis by modified arabinoxylan rice bran (MGN-3/biobran) *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*. (17), 283 - 292

4. Ghoneum M, and Gollapudi S (2003). Modified arabinoxylan rice bran (MGN-3/Biobran) sensitizes human T cell leukemia

cells to death receptor (CD95)-induced apoptosis. *Cancer Letter*. (201), 41 - 49.

5. Đinh Thị Hương, Nguyễn Minh Ngọc, Ngô Thị Huyền Trang và cộng sự (2012). Xây dựng quy trình tách chiết arabinoxylan từ cám gạo. *Tạp chí Khoa học Đại học Quốc gia*, (28), 129 - 136

6. Ogawa K, Takeuchi M, Nakamura N (2005). Immunological effects of partially hydrolyzed arabinoxylan from corn husk in mice. *Biosci Biotechnol Biochem*, 69 (1), 19 - 25

Summary

IMMUNOSTIMULATING ACTIVITY OF ARABINOXYLAN EXTRACTED FROM VIETNAMESE RICE BRAN

Arabinoxylan extracted from Vietnamese rice bran was examined for its effect on murine lymphocyte activity. The mice were administered orally at four different doses: 50, 75, 100, 200 mg/kg/day for 30 days. The highest secretion of INF- γ in mouse serum was 340 pg/ml at 200 mg/kg/day dosage. However, the maximum increasing rate in mortality of Sarcoma 180 cell line was 183.3% at a dose of 100 mg/kg/day, in comparison to the control. Thus, Arabinoxylan from Vietnamese rice bran acts as a potential immunomodulator to stimulate the immune system through stimulating the natural killer cell activity and secretion of INF- γ .

Keywords: Arabinoxylan, Lymphocyte cell, Sarcoma 180 cell, INF- γ .