

KHẢO SÁT ĐỘC TÍNH CỦA ASEN LÊN SỐ LƯỢNG TẾ BÀO MÁU VÀ CẤU TRÚC MÔ HỌC CỦA GAN, THẬN CHUỘT NHẮT TRẮNG

Nguyễn Thị Thương Huyền^{1*}, Đỗ Ngọc Mai Khanh², Trương Văn Trí¹

¹ Khoa Sinh học - Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh

² Trường chuyên Lê Hồng Phong, Thành phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện ở quy mô phòng thí nghiệm nhằm đánh giá độc tính của As lên sự biến động số lượng tế bào máu và sự tổn thương mô học ở gan, thận của chuột nhắt trắng theo sự biến động của liều phơi nhiễm. 72 chuột đực 6 tuần tuổi (19 - 21g) được chọn cho nghiên cứu, chia làm 6 nghiệm thức tương ứng với 5 nồng độ As (40, 80, 120, 160 và 200 µg/L) và đối chứng. Chuột được cho uống nước nhiễm As với các nồng độ tương ứng. Sau mỗi 4 tuần, xác định số lượng tế bào máu, sau 16 tuần thí nghiệm, đánh giá mức độ tổn thương mô học của gan và thận thông qua nhuộm H&E. Kết quả cho thấy, số lượng hồng cầu tăng tỉ lệ thuận với sự tăng dần nồng độ gây nhiễm As và thời gian gây nhiễm; số lượng bạch cầu tăng sau 4 tuần gây nhiễm, nhưng sau đó làm giảm theo sự tăng dần nồng độ và thời gian khảo sát; số lượng tiểu cầu chuột tăng trong 4 tuần nuôi đầu và sau đó bắt đầu giảm sau 8 tuần nuôi trở đi, việc tăng dần nồng độ gây nhiễm As và càng kéo dài thời gian gây nhiễm thì số lượng tiểu cầu càng giảm mạnh; As gây ảnh hưởng đến cấu trúc mô học của gan và thận chuột một cách rõ rệt.

Từ khóa: Độc tính của asen, tế bào máu chuột, cấu trúc mô học, chỉ số huyết học.

MỞ ĐẦU

Asen (As) là một trong những chất độc phổ biến nhất trong môi trường và độc tính của nó đối với sức khỏe con người đang là mối quan tâm hàng đầu. Hàng ngày, mọi người dân trên thế giới đang phải tiếp xúc thường xuyên với lượng lớn As trong không khí, thực phẩm, nguồn nước và đất, trong đó, nguồn nước uống là con đường chính để con người phơi nhiễm với As. Gần đây, tình trạng nước dưới đất bị nhiễm độc As đã được báo động, không chỉ ở các quốc gia như Bangladesh, Ấn Độ, Trung Quốc,... mà ở Việt Nam cũng đã bắt đầu xuất hiện ngày càng nhiều. Hầu hết các mẫu nước giếng khoan sử dụng cho ăn uống tại xã Chuyên Ngoại, huyện Duy Tiên, tỉnh Hà Nam đều bị ô nhiễm As (98,7% mẫu trước lọc và 80,4% mẫu sau lọc) vượt mức cho phép 30 lần so với quy định của Bộ Y tế. Hàng triệu cư dân đồng bằng sông Hồng sống trong khu vực sử dụng giếng nước khoan có hàm lượng As cao hơn 10 µg/L (Khải *et al.*, 2010; Tùng *et al.*, 2013). Con người tiếp xúc lâu dài với As sẽ có nguy cơ bị các biến chứng, các bệnh nguy hiểm như: thiếu máu cục bộ, tiểu đường, cao huyết áp, thần kinh,... và thậm chí cả ung thư. Ngoài ra, As còn gây nhiễm độc hệ thống tuần hoàn khi uống phải nguồn nước có hàm lượng As 0,1 mg/L (Flora, 2015).

Khi vào trong cơ thể, As thường sản sinh ra các chất oxy hóa (gốc tự do, hydroxyl peroxide,...), sự methyl hóa làm hư hỏng các đại phân tử hoặc hoạt động như chất truyền tin thứ hai, dẫn đến thay đổi sự biểu hiện gene và tăng cường sự tăng sinh tế bào sau đó (Amer *et al.*, 2016). Bên cạnh đó, một số nghiên cứu cũng cho thấy khi vào trong cơ thể, As còn làm tổn thương cấu trúc mô học của gan, thận và một số nội quan khác, đồng thời gây rối loạn chức năng sinh lí và chức năng khử độc của hai cơ quan này nghiêm trọng (Amer *et al.*, 2016; Chowdhury *et al.*, 2016; Flora, 2015). Các biểu hiện lâm sàng ngộ độc As là vô số, rất khó chẩn đoán sớm vì các triệu chứng không đặc hiệu dễ nhầm lẫn với biểu hiện của nhiều bệnh khác. Hiện nay, những thông số huyết học và các cấu trúc mô học được xem là tiêu chuẩn vàng để phát hiện các tổn thương mô học của các nội quan trong cơ thể khi tiếp xúc với các kim loại nặng, trong đó bao gồm cả As. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện ở quy mô phòng thí nghiệm nhằm đánh giá độc tính của As lên sự biến động số lượng tế bào máu và sự tổn thương mô học ở gan, thận chuột nhắt trắng theo sự biến động của liều phơi nhiễm. Kết quả của đề tài ở mô hình chuột sẽ rất hữu ích trong việc hướng tới tìm các giải pháp hữu hiệu để khử các độc tính của As.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Hóa chất

Hóa chất gây nhiễm độc cho chuột: As₂O₃ (Sigma); hóa chất để chuẩn pH: NaOH 1N (Merck), HCl 1N (Merck). Nước uống cho chuột trong toàn bộ thí nghiệm là nước máy được để bay hơi, khử sạch clo trước khi sử dụng và tiến hành gây nhiễm As tại các nồng độ khảo sát.

Vật liệu

Chuột nhắt trắng được 4 tuần tuổi, sạch bệnh và thức ăn tổng hợp cho chuột được mua từ viện Pasteur (167 Pasteur, phường 8, Quận 3, Thành phố Hồ Chí Minh) chuyển về phòng thí nghiệm nuôi ổn định theo chu kỳ 12 sáng - 12 giờ tối (light - dark cycle) ở nhiệt độ phòng (27 - 28°C) cho đến 6 tuần tuổi mới tiến hành thí nghiệm. Trong quá trình nghiên cứu, chuột được cho ăn ngày 2 lần, sử dụng thức ăn tổng hợp dành cho chuột.

Phương pháp

Nghiên cứu được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Giải phẫu - Sinh lý người và động vật, Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh. Mẫu gan và thận được nhuộm H&E tại khoa Giải phẫu bệnh của bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

Bố trí thí nghiệm

72 chuột được cân nặng từ 19 - 21 g được sử dụng cho nghiên cứu, chia làm 6 nghiệm thức tương ứng với 5 nồng độ As (40, 80, 120, 160 và 200 µg/L) và đối chứng (không có As). Mỗi nghiệm thức bố trí 4 chuột, lặp lại 3 lần (3 đợt thí nghiệm). Số chuột trong từng nghiệm thức (4 con) được nhốt trong cùng một chuồng có kích thước 30 x 20 x 15 cm, dưới chuồng lót trấu, bên trên đặt bằng lưới sắt. Mỗi ngày cho ăn thức ăn tổng hợp vào lúc 07 giờ và 17 giờ, nước uống để sẵn trong chai thủy tinh (đã nhiễm As ở các nồng độ khảo sát). Mỗi đợt thí nghiệm thực hiện trong 16 tuần.

Phương pháp gây nhiễm As cho chuột

Cân 1,3203g As₂O₃ pha trong 500 mL nước cất được stock A (2 g/L). Dùng stock A để pha ra các nồng độ thí nghiệm (0, 40, 80, 120, 160 và 200 µg/L). Nước uống của chuột uống hàng ngày được cho vào bình thủy tinh loại 250 mL và bổ sung các nồng độ As khảo sát tương ứng, nước uống được thay 2 ngày/lần.

Phương pháp lấy máu chuột

Trước khi gây nhiễm As, chuột được lấy máu để xác định số lượng tế bào máu (hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu) ban đầu. Tiến hành thu máu sau mỗi 4 tuần để khảo sát số lượng tế bào máu. Cho chuột vào 1 falcon nhựa 50 mL, để lộ đuôi chuột ra phía ngoài; dùng bông gòn tẩm cồn 70° sát trùng, dùng kim trích máu để trích máu ở tĩnh mạch đuôi của chuột.

Phương pháp xác định số lượng tế bào máu

Máu được thu nhận ở tĩnh mạch đuôi, xác định số lượng tế bào máu bằng buồng đếm tế bào cải tiến. Đối với tế bào hồng cầu, dùng ống trộn hồng cầu hút máu đến vạch 0,5, tiếp tục hút dung dịch hồng cầu đến vạch 101, trộn đều, dàn mẫu máu pha loãng (vừa trộn) vào buồng đếm; đếm số lượng hồng cầu trong 5 ô vuông trung bình (80 ô vuông nhỏ) ở buồng đếm; mỗi mẫu máu được đếm 3 lần, sau đó lấy số trung bình của các lần đếm (A). Số lượng hồng cầu/mm³ máu (N) được tính theo công thức: $N = A \times 10.000$. Đối với tế bào bạch cầu, dùng ống trộn bạch cầu hút máu đến vạch 0,5, tiếp tục hút dung dịch bạch cầu đến vạch 11, trộn đều, dàn mẫu máu pha loãng (vừa trộn) vào buồng đếm; đếm số lượng bạch cầu trong 25 ô vuông trung bình (400 ô vuông nhỏ) ở buồng đếm; mỗi mẫu máu được đếm 3 lần, sau đó lấy số trung bình của các lần đếm (B). Số lượng bạch cầu/mm³ máu (M) được tính theo công thức: $M = B \times 200$. Đối với tế bào tiểu cầu, các bước thực hiện tương tự như các bước ở phương pháp xác định số lượng bạch cầu, chỉ thay hút dung dịch tiểu cầu thay cho dung dịch bạch cầu và đếm trong 5 ô vuông trung bình (80 ô vuông nhỏ) ở buồng đếm, mỗi mẫu máu được đếm 3 lần, sau đó lấy số trung bình của các lần đếm (C). Số lượng tiểu cầu/mm³ máu (L) được tính theo công thức: $L = C \times 1.000$.

Phương pháp thu nhận mẫu gan và thận

Ở đợt lấy máu cuối cùng (sau 16 tuần thí nghiệm), giải phẫu chuột, thu nhận gan và thận của từng nồng độ khảo sát, đem cố định trong dung dịch formal 10% và gửi mẫu đến phòng Giải phẫu bệnh của Trường Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh nhuộm H&E. Đánh giá mức độ tổn thương mô học của tiêu bản dưới kính hiển vi quang học.

Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả số liệu của đề tài được xử lý theo các thuật toán xác suất thống kê trên máy vi tính bằng phần mềm Minitab 18. Các số liệu trung bình được trình bày ở dạng Mean ± SE. Mức ý nghĩa được sử dụng để kiểm định sai khác có ý nghĩa giữa các nghiệm thức là 0,05 ($p < 0,05$ thì sự sai khác có ý nghĩa thống kê). Xử lý sai khác về số lượng tế bào máu bằng phương pháp phân tích phương sai một nhân tố: ANOVA - One Way. Phân tích phương sai hai yếu tố (Two - way Anova) về thời gian và nghiệm thức thí nghiệm (các nồng độ khảo sát).

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ảnh hưởng của As lên số lượng tế bào máu

Độc tính của As tác động lên số lượng tế bào máu chuột nhắt trắng ở các nồng độ: 0, 40, 80, 120, 160 và 200

µg/L sau mỗi 4 tuần và kéo dài 16 tuần được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Số lượng tế bào máu ở các nồng độ As khảo sát qua các mốc thời gian

Số lượng tế bào máu	Thời gian (tuần)	ĐC	Các nồng độ As (µg/L)				
			40	80	120	160	200
Hồng cầu ($\times 10^6$ tế bào/mm ³ máu)	0	7,27 ± 0,36 ^{a,A}	7,21 ± 0,21 ^{a,A}	7,15 ± 0,17 ^{a,A}	7,18 ± 0,28 ^{a,A}	7,12 ± 0,18 ^{a,A}	7,42 ± 0,41 ^{a,A}
	4	7,47 ± 0,22 ^{a,A}	7,78 ± 0,26 ^{ab,A}	8,85 ± 0,37 ^{b,B}	8,70 ± 0,49 ^{ab,AB}	8,36 ± 0,28 ^{ab,AB}	8,20 ± 0,27 ^{ab,A}
	8	6,92 ± 0,16 ^{a,A}	7,24 ± 0,52 ^{a,A}	6,21 ± 0,29 ^{a,A}	7,38 ± 0,52 ^{a,A}	7,49 ± 0,33 ^{a,AB}	7,59 ± 0,21 ^{a,A}
	12	7,55 ± 0,34 ^{a,A}	8,04 ± 0,43 ^{ab,A}	8,92 ± 0,34 ^{ab,B}	9,43 ± 0,26 ^{b,BC}	8,77 ± 0,43 ^{ab,B}	11,16 ± 0,51 ^{c,B}
	16	7,31 ± 0,38 ^{a,A}	10,34 ± 0,31 ^{b,B}	10,75 ± 0,13 ^{b,C}	10,58 ± 0,42 ^{b,C}	11,75 ± 0,41 ^{b,C}	11,43 ± 0,39 ^{b,B}
Bạch cầu ($\times 10^3$ tế bào/mm ³ máu)	0	9,42 ± 1,11 ^{a,A}	9,67 ± 0,68 ^{a,AB}	9,58 ± 1,20 ^{a,A}	9,25 ± 0,33 ^{a,A}	9,42 ± 0,71 ^{a,A}	9,25 ± 0,65 ^{a,A}
	4	8,92 ± 0,67 ^{a,A}	12,67 ± 1,44 ^{ab,A}	10,75 ± 1,48 ^{ab,A}	10,83 ± 0,41 ^{ab,AB}	14,08 ± 0,61 ^{b,B}	14,42 ± 0,78 ^{b,B}
	8	9,50 ± 0,56 ^{ab,A}	11,25 ± 0,84 ^{abc,AB}	9,17 ± 0,47 ^{a,A}	12,42 ± 0,68 ^{c,B}	9,58 ± 0,48 ^{ab,A}	11,83 ± 0,53 ^{bc,C}
	12	9,75 ± 0,48 ^{ab,A}	11,25 ± 0,48 ^{ab,AB}	8,50 ± 0,50 ^{b,A}	10,42 ± 0,96 ^{ab,AB}	8,83 ± 0,35 ^{b,A}	8,50 ± 0,50 ^{b,A}
	16	9,36 ± 0,41 ^{a,A}	8,42 ± 0,54 ^{a,B}	8,18 ± 0,44 ^{a,A}	9,00 ± 0,39 ^{a,A}	8,25 ± 0,39 ^{a,A}	8,36 ± 0,47 ^{a,A}
Tiểu cầu ($\times 10^3$ tế bào/mm ³ máu)	0	422,6 ± 11,2 ^{a,A}	417,4 ± 8,7 ^{a,A}	418,5 ± 14,3 ^{a,A}	420,2 ± 17,4 ^a	417,9 ± 5,7 ^{a,A}	402,6 ± 31,7 ^{a,AB}
	4	604,8 ± 26,6 ^{a,B}	466,8 ± 20,6 ^{b,A}	465,6 ± 17,9 ^{b,A}	686,8 ± 24,6 ^a	667,3 ± 20,1 ^{a,C}	618,1 ± 23,0 ^{a,C}
	8	597,2 ± 17,2 ^{a,B}	453,1 ± 28,5 ^{b,A}	453,4 ± 12,3 ^{b,AB}	507,9 ± 30,8 ^{ab}	498,6 ± 22,1 ^{ab,B}	508,6 ± 47,1 ^{ab,B}
	12	540,2 ± 18,7 ^{a,B}	401,3 ± 29,6 ^{b,A}	387,3 ± 14,6 ^{b,B}	384,3 ± 13,1 ^b	347,5 ± 23,4 ^{b,A}	370,1 ± 25,6 ^{b,A}
	16	565,2 ± 19,0 ^{a,B}	382,3 ± 9,0 ^{b,A}	383,2 ± 12,4 ^{b,B}	348,1 ± 19,5 ^{bc}	321,5 ± 8,9 ^{c,A}	361,9 ± 12,6 ^{bc,A}

a,b,c thể hiện sự khác biệt theo hàng với $\alpha < 0,01$; A, B, C thể hiện sự khác biệt theo cột của từng loại tế bào máu với $\alpha < 0,01$.

Bảng 1 cho thấy, số lượng hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu ở lô đối chứng cũng như trong lần lấy máu đầu tiên ở các nồng độ As khảo sát lần lượt dao động trong khoảng 6,92 - 7,55 $\times 10^6$ tế bào/mm³ máu; 9.250 - 9.670 tế bào/mm³ máu và (402,6 - 604 $\times 10^3$ tế bào/mm³), ($p > 0,05$), tương ứng. Như vậy số chuột đưa vào thí nghiệm có chỉ số tế bào máu ban đầu tương đương nhau và nằm trong ngưỡng dưới của thang tham chiếu (7 - 11 $\times 10^6$ tế bào/mm³); (2.000 - 10.000 tế bào/mm³); (300 - 1.000 $\times 10^3$ tế bào/mm³ máu), tương ứng (James G. Fox, 2007; Michael P. McGarry, 2010; Treuting *et al.*, 2018).

Số lượng hồng cầu chuột có sự thay đổi theo chiều hướng tăng dần theo sự tăng các nồng độ As ($p < 0,01$). Trong khoảng thời gian 4 và 8 tuần đầu tiên, số lượng hồng cầu ở các nghiệm thức nhiễm As đều có sự biến động so với đối chứng và có dấu hiệu khôi phục số lượng hồng cầu trở lại ở nồng độ 120 µg/L trở đi. Nhưng sau 12 tuần trở đi, số lượng hồng cầu gia tăng nhanh chóng với sự tăng dần nồng độ nhiễm As. Khi xử lí cả hai yếu tố về thời gian và nồng độ gây nhiễm As, kết quả cho thấy cả hai yếu tố này đều ảnh hưởng lên số lượng hồng cầu chuột ($p < 0,001$). Kết quả của nghiên cứu này có phần phù hợp với các kết quả nghiên cứu đề cập đến ảnh hưởng của As lên số lượng hồng cầu ở chuột: số lượng hồng cầu trong máu chuột tăng nhẹ khi nhiễm độc As trong 15 ngày và vẫn không khác biệt so với lô đối chứng (Yasmin.S, 2011). Điều này có thể là do trong khoảng thời gian đầu bị nhiễm As, gây hiện tượng tán huyết làm thiếu máu cung cấp cho cơ thể nên tủy xương sản xuất nhiều hồng cầu non đáp ứng lại nhu cầu của cơ thể. Sau 6-8 tuần gây nhiễm, số lượng hồng cầu chuột giảm nhẹ so với các tuần trước đó, kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Goupta và Flora (2006); Chowdhury và đồng tác giả (2016). Điều này có thể là do khả năng liên kết của As với liên kết -SH của hemoglobin dẫn đến sự ức chế con đường tổng hợp nhân heme. Lúc này As đã vận chuyển theo máu đến tủy xương, tích lũy và phá hủy tủy xương làm cho hồng cầu tán huyết, từ đó làm giảm số lượng hồng cầu (Chowdhury *et al.*, 2016; Flora, 2015; Gupta *et al.*, 2006). Tuy nhiên, sau 10-16 tuần gây nhiễm As, số lượng hồng cầu tăng dần theo thời gian và nồng độ khảo sát. Điều này có thể là do, sau thời gian dài bị nhiễm, As tiếp tục gây hiện tượng tán huyết và gây thiếu máu cục bộ. Lúc này, nhờ hoạt động của ALAD (Amino levalinic acid dehydratase) làm tăng số lượng hồng cầu non và giúp cho sự tồn tại của phản ứng tái sinh bù lại số lượng hồng cầu bị tán huyết. Vì vậy, số lượng hồng cầu chuột dần ổn định và tăng dần. Bên cạnh đó, khi bị cơ thể nhiễm As sẽ làm giảm glutathione-một peptid đóng vai trò như một coenzyme - có vai trò loại bỏ As ra khỏi các vị trí của tế bào và giảm độc tính của As nên gây rối loạn của trình chuyển hóa trong cơ thể. Lúc này thể cơ thể đã bắt đầu có dấu hiệu của bệnh đa hồng cầu và có thể gây nên một số dấu hiệu rối loạn cũng như các bệnh như các bệnh về thận, gan (được đề cập ở phần ảnh hưởng của As lên một số nội quan chuột) (Flora, 2015; Gupta *et al.*, 2006).

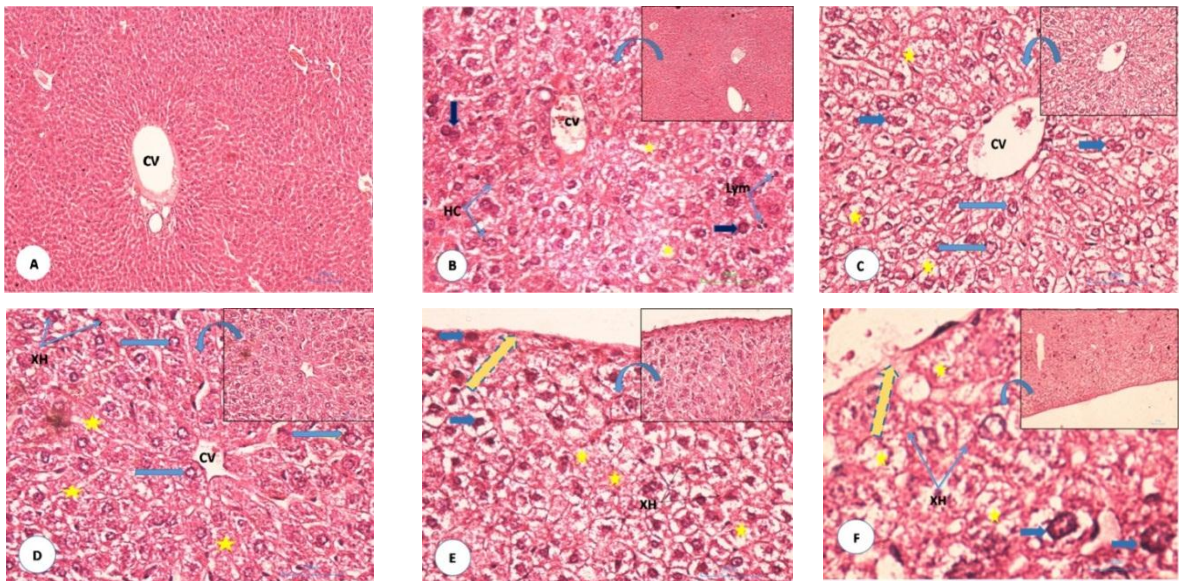
Số lượng bạch cầu chuột có sự thay đổi rõ rệt. Trong thời gian đầu (4 tuần) gây nhiễm, As làm tăng số lượng bạch cầu, nhưng sau đó làm giảm số lượng bạch cầu chuột theo sự tăng dần nồng độ và thời gian khảo sát. Khi

xử lí cả hai yếu tố về thời gian và nồng độ gây nhiễm As, kết quả cho thấy cả hai yếu tố này đều ảnh hưởng lên số lượng bạch cầu chuột ($p < 0,001$). Kết quả của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của Yasmin (2011), Amer và đồng tác giả (2016) và các nghiên cứu hiện nay. Các nhóm nghiên cứu này cho rằng số lượng bạch cầu máu chuột tăng nhẹ khi nhiễm As trong 15-30 ngày và sau đó giảm nhẹ rồi ổn định khi nhiễm ở liều cao. Kết quả này có thể do lượng bạch cầu tăng để chống lại những tác động độc hại của As. Nhưng khi ở liều cao (160 - 200 $\mu\text{g/L}$) và kéo dài thời gian gây nhiễm gây độc cấp tính, có thể gây hiện tượng hiệu ứng apoptosis của As lên các tế bào huyết tương làm cho các tế bào bạch cầu tự chết nên số lượng giảm xuống. Một lí do khác, có thể do sự trưởng thành của bạch cầu giảm xuống khi tiếp xúc với As ở nồng độ cao và trong thời gian dài (Amer *et al.*, 2016; Flora, 2015; Michael P. McGarry, 2010; Sharma and Singh, 2014; Yasmin.S, 2011). Ngoài ra, As được biết đến là một chất độc có thể làm tiêu hủy tế bào máu, trong đó có cả bạch cầu (Flora *et al.*, 2005).

Số lượng tiểu cầu chuột có sự thay đổi rõ rệt. Trong khoảng thời gian 4 và 8 tuần nuôi đầu tiên, so với lô đối chứng thì số lượng tiểu cầu có xu hướng giảm ở các nghiệm thức nhiễm As với nồng độ 40 và 80 $\mu\text{g/L}$; và có dấu hiệu khôi phục số lượng trở lại ổn định ở nồng độ 120 $\mu\text{g/L}$ trở đi. Trong khi đó, việc kéo dài thời gian gây nhiễm đến tuần 12 trở đi thì số lượng tiểu cầu giảm tuyến tính với sự tăng dần nồng độ gây nhiễm và không có dấu hiệu hồi phục trở lại như 8 tuần đầu. Khi xử lí cả hai yếu tố về thời gian và nồng độ gây nhiễm As, kết quả cho thấy cả hai yếu tố này đều ảnh hưởng lên số lượng tiểu cầu chuột ($p < 0,001$). Kết quả của chúng tôi phù hợp với công bố của Ferzand và đồng tác giả (2008), (Ferzand *et al.*, 2008). Nguyên nhân gây suy giảm tiểu cầu có thể là do As có khả năng liên kết với ADP cản trở sự hình thành ATP, ADP – As không ổn định, dễ thủy phân trở lại, vì vậy, nồng độ ADP sẽ tăng cao (Flora, 2015). Quan trọng hơn, ADP lại có tác dụng thúc đẩy sự ngưng kết tiểu cầu, tạo cục máu đông, chính vì vậy, làm giảm mật độ tế bào tiểu cầu trong máu. Ngoài ra, có thể là do ảnh hưởng của As gây nên hiện tượng cường lách dẫn đến số lượng tiểu cầu giảm (Flora, 2015; James G. Fox, 2007; Michael P. McGarry, 2010). Khi nhiễm As ở nồng độ cao làm ảnh hưởng đến tủy xương, từ đó, có thể gây hiện tượng tiểu cầu tăng giảm bất thường (Flora, 2015).

Ảnh hưởng của As lên mô gan chuột nhắt trắng

Đánh giá cấu tạo mô gan chuột nhắt trắng thông qua nhuộm H&E, ta có thể thấy cấu tạo vi thể gan có sự khác biệt giữa các nghiệm thức. Ở nghiệm thức đối chứng (hình 1A), có thể thấy rõ các cấu tạo như tĩnh mạch trung tâm, các tế bào nhu mô gan bao gồm dây tế bào, các tế bào biểu mô dài bám vào thành mạch, tế bào Kupffer có kích thước lớn, mỗi tế bào có 1 hoặc 2 nhân và tế bào chất đồng nhất,... và không thấy dấu hiệu bất thường trên kết quả mô gan. Ở nồng độ gây nhiễm 40 $\mu\text{g/L}$ (hình 1B): thấy xuất hiện tế bào lympho từ bờ gan vào; tế bào biến đổi từng vùng, bào tương bị hủy, mất enzyme (hình sao); nhân tế bào to, tăng sắc, cô đặc, đậm màu; xuất hiện hiện tượng viêm cấp. Ở nồng độ gây nhiễm 80 $\mu\text{g/L}$ (hình 1C): mức độ tế bào bị phá hủy trầm trọng, bào tương bị phân hủy nặng, nhân tăng sắc đều, đậm (mũi tên ngắn). Ở nồng độ gây nhiễm 120 $\mu\text{g/L}$ (hình 1D): bào tương bị phân hủy trầm trọng, hồng cầu tràn vào tế bào gây xuất huyết. Ở nồng độ gây nhiễm 160 $\mu\text{g/L}$ – 200 $\mu\text{g/L}$ (hình 1E, F): Nhân đậm màu rõ rệt và vón cục đều; có hiện tượng xuất huyết trong mô, cấu trúc tế bào bị tổn thương nhiều, bờ gan bị phân hủy.



Hình 1. Cấu tạo vi thể của gan chuột bị nhiễm As ở các nồng độ khảo sát

(A): lô đối chứng; (B): nồng độ 40 $\mu\text{g/L}$; (C): nồng độ 80 $\mu\text{g/L}$; (D): nồng độ 120 $\mu\text{g/L}$; (E): nồng độ 160 $\mu\text{g/L}$; (F): nồng độ 200 $\mu\text{g/L}$. Hình sao: tế bào bị hủy hoại; mũi tên dài: nhân to; mũi tên ngắn: nhân đậm màu; mũi tên nét đứt: bờ gan bị phân hủy; CV: tĩnh mạch trung tâm; Lym: tế bào lympho; HC: tế bào gan; XH: xuất huyết.

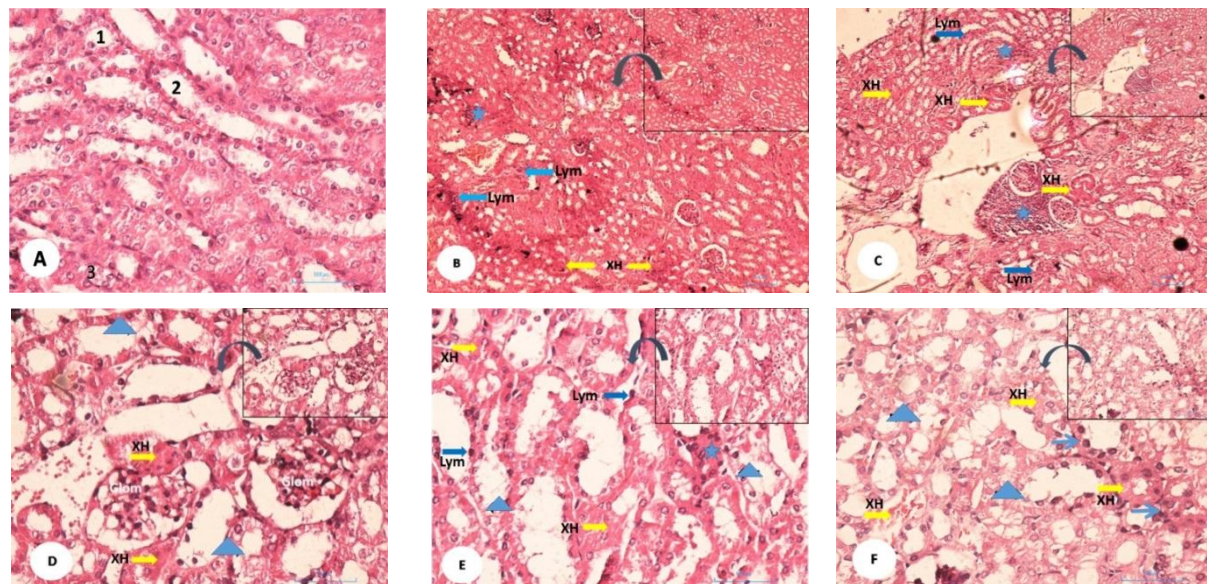
Kết quả qua mô tả của chúng tôi tương đồng với những mô tả mà nghiên cứu của Amer và đồng tác giả (2016),

Chowdhury và đồng tác giả (2016). Kết quả này cho thấy As đã ảnh hưởng đến cấu trúc mô học của gan, trong các nghiệm thức khảo sát, nồng độ gây nhiễm càng cao càng ảnh hưởng xấu đến cấu trúc gan. Khi As được hấp thụ vào cơ thể thông qua đường tiêu hóa (đường uống) sẽ gây tổn thương đường tiêu hóa. Những tổn thương này làm tăng tính thấm của các mạch máu nhỏ, thông qua đó, As xâm nhập vào máu rồi đi đến gan gây ảnh hưởng đến gan (Amer *et al.*, 2016; Chowdhury *et al.*, 2016; Flora, 2015).

Ảnh hưởng của asen lên mô thận chuột nhắt trắng

Quan sát các hình ảnh cấu tạo mô thận thông qua nhuộm H&E, ta có thể thấy rõ ảnh hưởng của As đến cấu tạo vi thể thận nghiêm trọng hơn so với cấu tạo vi thể của gan và giữa các nghiệm thức. Ở nghiệm thức đối chứng (hình 2A), các cấu tạo vi thể thận bình thường và có thể thấy rõ các cấu trúc như tiểu cầu thận, ống thận, bể thận. Ở nghiệm thức 40 µg/L và 80 µg/L (hình 2B, C), tiểu cầu thận có dấu hiệu xuất huyết kẽ, xuất hiện hồng cầu trong tiểu cầu thận, các tế bào lympho nhiều và tụ thành từng đám, xuất hiện các ổ viêm khu trú (hình sao). Ở nghiệm thức 120 µg/L và 160 µg/L (hình 2D, E), xuất hiện nhiều ổ viêm, xuất huyết từ vùng vỏ vào vùng tủy, màng tế bào bị rách. Ở nghiệm thức 200 µg/L (hình 2F), tế bào bị tiêu hủy, hoại tử trầm trọng, nhân tăng sắc và to, nhỏ bất thường, xuất huyết nhiều.

Các mô tả trên phù hợp với mô tả ở nghiên cứu của Amer và đồng tác giả (2016), Chowdhury và đồng tác giả (2016). Các nhóm nghiên cứu này cho thấy thận của chuột được xử lí nhiễm As trong thời gian dài bị thay đổi mô học từ vừa đến nặng. Cấu trúc biểu mô bị hoại tử, tăng số lượng tế bào viêm, xuất huyết (Amer *et al.*, 2016; Chowdhury *et al.*, 2016). Từ đó, ta có thể thấy độc tính mà As gây ra trên cấu tạo vi thể thận là làm tăng sự xâm nhập của các tế bào lympho và sự xuất hiện các dấu hiệu hoại tử ở các tế bào quanh ống thận. Trong các nồng độ khảo sát, mức độ tổn thương càng tăng khi tăng dần các nồng độ As khảo sát.



Hình 2. Cấu tạo vi thể của thận chuột bị nhiễm As ở các nồng độ khảo sát

(A): lô đối chứng; (B): nồng độ 40 µg/L; (C): nồng độ 80 µg/L; (D): nồng độ 120 µg/L; (E): nồng độ 160 µg/L; (F): nồng độ 200 µg/L. Glom: tiểu cầu thận; hình sao: ổ viêm; XH: xuất huyết; Lym: lympho; tam giác: màng tế bào bị phân hủy; mũi tên mỏng: nhân tăng sắc to nhỏ bất thường.

KẾT LUẬN

As làm tăng số lượng hồng cầu so với nghiệm thức đối chứng, số lượng hồng cầu tăng tỉ lệ thuận với sự tăng dần nồng độ gây nhiễm As và thời gian gây nhiễm. As làm tăng số lượng bạch cầu sau 4 tuần gây nhiễm, nhưng sau đó làm giảm số lượng bạch cầu chuột theo sự tăng dần nồng độ và thời gian khảo sát. As làm tăng số lượng tiểu cầu chuột trong 4 tuần nuôi đầu tiên và sau đó bắt đầu giảm sau 8 tuần nuôi trở đi; việc tăng dần nồng độ gây nhiễm As và càng kéo dài thời gian gây nhiễm thì số lượng tiểu cầu càng giảm mạnh. As gây ảnh hưởng đến cấu trúc mô học của gan và thận chuột một cách rõ rệt: tăng sự xâm nhập của tế bào lympho, sự hoại tử từ nhẹ đến nặng và hiện tượng xuất huyết tăng dần ở các vùng tế bào khi tăng dần nồng độ As gây nhiễm.

Lời cảm ơn: Cảm ơn Khoa Sinh và Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh; Khoa Giải phẫu bệnh, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh đã tạo điều kiện cho nhóm chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Amer SA, AL-Harbi MS, Saad DY, Mahdi EA, Saleh DI, Alkafafy ME, AL-Zahrani YA (2016) Protective role of some antioxidants on arsenic toxicity in male mice: physiological and histopathological perspectives. *Biol Med* 8(1): 1.
- Chowdhury DUS, Islam S, Akter R, Khaleda L, Rahman Z, Al-Forkan M (2016) A study on the effect of arsenic on tissue histology and its deposition pattern in various organs of *Wistar albino* rat. *Ejprnr* 3(5): 580-587.
- Ferzand R, Gadahi JA, Saleha S, Ali Q (2008) Histological and haematological disturbance caused by arsenic toxicity in mice model. *Pak J Biol Sci* 11(11): 1405-1413.
- Flora SJ, Bhadauria S, Pant SC, Dhaked RK (2005) Arsenic induced blood and brain oxidative stress and its response to some thiol chelators in rats. *Life Sci* 77(18): 2324-2337.
- Flora SJS (2015) Handbook of Arsenic Toxicology: Academic Press.
- Gupta R, Dubey DK, Kannan GM, Flora SJ (2006) Concomitant administration of Moringa oleifera seed powder in the remediation of arsenic-induced oxidative stress in mouse. *Cell Biol Int* 31(1): 44-56.
- James G. Fox SWB, Muriel T. Davisson, Christian E. Newcomer, Fred W. Quimby, Abigail L. Smith, (2007) The Mouse in Biomedical Research: Elsevier Inc.
- Khải NM, Huân NX, Anh LTN (2010) Nghiên cứu xử lý Asen trong nước ngầm ở một số vùng nông thôn bằng hydroxit sắt (III) *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ* 26: 165-171.
- Michael P McGarry CAP, James J Lee (2010) Mouse Hematology: A Laboratory Manual: Hardcover.
- Sharma V, Singh M (2014) Attenuation of N-nitrosodimethylamine induced hepatotoxicity by Operculina turpethum in Swiss Albino mice. *Iran J Basic Med Sci* 17(1): 73-80.
- Treuting PM, Dintzis SM, Montine KS (2018) Comparative anatomy and histology a mouse, rat and human atlas: Academic Press.
- Tùng BH, Hạnh TTT, Hùng NV (2013) Đánh giá nguy cơ sức khỏe do ăn uống nước giếng khoan nhiễm asen ở Hà Nam. *Y học dự phòng* 13, số 4 (140): 36-47.
- Yasmin S Das J, Stuti M, Rani M and D'Souza D (2011) Sub chronic toxicity of arsenic trioxide on Swiss albino mice. *Int J Environ Sci* 1(7): 1640-1647.

EXAMINE THE ARSENIC TOXICITY ON THE BLOOD CELLS COUNT AND HISTOPATHOLOGICAL PERSPECTIVES OF THE LIVER AND KIDNEY OF *Mus musculus* var. *albino*

Nguyen Thi Thuong Huyen^{1*}, Do Ngoc Mai Khanh², Truong Van Tri¹

¹ Biology Faculty - Ho Chi Minh City University of Education

² Le Hong Phong Hight School for the Gifted, Ho Chi Minh City

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the arsenic toxicity on the blood cells count and histopathological damage in liver and kidney of *Mus musculus* var. *albino* in dose-dependent manner. Seventy-two male mice (six-week-old, body weight 19 - 21 g) had been supplied for 16 weeks with arsenic solution of different concentrations: 40, 80, 120, 160, 200 µg/L and control. The blood cell counts were determined every 4 weeks. After 16 weeks, liver and kidney were carefully collected and stained with hematoxylin and eosin to assess of their histological damages. The results showed: (1) the significant correlation between the number of red blood cells and increasing concentration and the time of arsenic exposure; (2) the number of white blood cells increased in first 4 weeks, then anticorrelated with the increasing concentration and the time of arsenic exposure; (3) the number of platelets increased in first 4 weeks, then decreased slightly in 8 weeks. Since the 8th week, the number of platelets anticorrelated with the increasing concentration and the time of arsenic exposure; (4) the histological structure of mouse liver and kidney were also severely affected by the arsenic exposure.

Keywords: Arsenic toxicity, mouse blood cell, histopathological perspectives, hematology.

* Author for corresspondence: Tel: +84-918 605 081; Email: huyennth@hcmue.edu.vn