



## KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA ASEN LÊN SỐ LƯỢNG TẾ BÀO MÁU CHUỘT NHẮT TRẮNG (*Mus musculus var. albino*)

Đỗ Ngọc Mai Khanh<sup>1</sup>, Vũ Trương Chiêu Hạ<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Thương Huyền<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Trường THPT chuyên Lê Hồng Phong – TP Hồ Chí Minh

<sup>2</sup> Khoa Sinh học – Trường Đại học Sư phạm TP Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài: 26-5-2017; ngày nhận bài sửa: 17-7-2017; ngày duyệt đăng: 20-12-2017

### TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của nồng độ asen lên số lượng tế bào máu chuột nhắt trắng. Chuột 6 tuần tuổi, được nhiễm asen liên tục trong 12 tuần tại 3 nồng độ (40, 80 và 160  $\mu\text{g/L}$ ). Kết quả cho thấy: Hồng cầu giảm mạnh sau 6 tuần nhiễm asen tại nồng độ 80  $\mu\text{g/L}$ , sau đó tăng gần đạt mức ban đầu theo thời gian gây nhiễm; bạch cầu tăng sau 2 tuần nhiễm asen ở nồng độ 40  $\mu\text{g/L}$  trong khi 2 nồng độ 80 và 160  $\mu\text{g/L}$  có xu hướng giảm nhẹ; số lượng tiểu cầu tăng sau 2 tuần nhiễm asen, sau đó giảm dần theo thời gian gây nhiễm.

**Từ khóa:** độc tính của asen, tế bào máu chuột, hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, chuột nhắt trắng.

### ABSTRACT

**Examine the influences of arsenic (As) on the blood cells of *Mus. musculus var. albino***

The study was to evaluate the influences of arsenic on a number of the blood cells of mouse. Mice (six-week-old) had been supplied for 12 weeks with arsenic solution of different concentrations: 40, 80, 160  $\mu\text{g/L}$ . The results show: red blood cells decreased sharply after 6 weeks supplied with 80  $\mu\text{g/L}$  arsenic solution, then increased to the normal level when the exposure time is the longer. White blood cells increased after 2 weeks supplied with 40  $\mu\text{g/L}$  arsenic solution and decrease slightly with 80 and 160  $\mu\text{g/L}$  arsenic solution. After increasing during two first weeks of arsenic exposure, the number of platelets decreased gradually over time.

**Keywords:** arsenic toxicity, mouse blood cell, red blood cell, white blood cell, platelet.

### 1. Giới thiệu

Asen (thạch tín) là một trong những kim loại nặng gây ô nhiễm phổ biến nhất trong nguồn nước. Nó có khả năng gây tác động xấu đến sức khỏe ở người và động vật. Theo thống kê của Bộ Y tế, hiện nay, 21% dân số Việt Nam đang dùng nguồn nước nhiễm asen vượt quá mức cho phép và tình trạng nhiễm độc asen ngày càng rõ rệt và nặng nề trong dân cư. Theo Nguyễn Mạnh Khải và cs. (2010), Nguyễn Việt Hùng (2011), hàng triệu cư dân đồng bằng sông Hồng sống trong khu vực sử dụng giếng nước khoan có hàm lượng asen cao hơn 10  $\mu\text{g/L}$  đang có nguy cơ bị nhiễm độc asen mãn tính. Hầu hết các mẫu nước

\* Email: huyenntth@hcmup.edu.vn

giếng khoan sử dụng cho ăn uống tại xã Chuyên Ngoại đều bị ô nhiễm asen (98,7% mẫu trước lọc và 80,4% mẫu sau lọc), vượt mức cho phép 40 lần [1], [2]. Asen được hấp thu vào cơ thể theo đường hô hấp, tiêu hóa hoặc qua da. Người sử dụng nguồn nước hoặc thực phẩm có nhiễm asen trong thời gian dài có thể mắc các chứng bệnh nguy hiểm như: Ung thư, rối loạn chức năng gan, các vấn đề về tim mạch, phân giải hồng cầu... thậm chí gây tử vong. Các kết quả nghiên cứu thực nghiệm đều cho thấy asen thúc đẩy quá trình phát triển khối u, làm rối loạn quá trình tổng hợp DNA, đặc biệt là trong các nguyên bào sợi và các tế bào tủy xương dòng bạch cầu, làm giảm số lượng bạch cầu lympho ngoại vi, thay đổi khả năng miễn dịch và làm giảm sức đề kháng của cơ thể chống lại tế bào ung thư. Vì vậy, việc khảo sát ảnh hưởng của asen lên sự sinh trưởng và phát triển của sinh vật cũng như ảnh hưởng đến sức khỏe của con người đang được nhiều nhà khoa học quan tâm và nghiên cứu.

Việc nghiên cứu ảnh hưởng của chất độc, đặc biệt là asen lên cơ thể người không được tiến hành trực tiếp. Bên cạnh đó, việc sử dụng các động vật có xương sống để nghiên cứu thường khó thực hiện vì chi phí lớn và liên quan đến vấn đề nhân đạo. Ngoài ra, chúng ta không thể sử dụng động vật không xương sống để thí nghiệm vì mức độ tương quan về di truyền không cao. Chuột nhắt trắng (chuột bạch) là đối tượng làm thí nghiệm truyền thống đã được các nhà khoa học sử dụng nhiều lĩnh vực nghiên cứu: Ung thư, miễn dịch học, chất độc, sự trao đổi chất, các bệnh về tim mạch, các bệnh về máu... Đây là đối tượng có mức độ tương quan về di truyền đối với con người tương đối cao và kinh phí vừa phải. Trên cơ sở đó, nghiên cứu này được hiện nhằm bước đầu đánh giá ảnh hưởng của nồng độ asen lên số lượng tế bào máu (hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu) chuột nhắt trắng.

## **2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu**

### **2.1. Hóa chất**

Hóa chất gây nhiễm độc cho chuột:  $As_2O_3$  (Sigma); hóa chất để chuẩn pH: NaOH 1N (Merck), HCl 1N (Merck).

Dung dịch stock As được pha ra nồng độ 2 g/L, sử dụng stock này để pha ra các nồng độ thí nghiệm (40, 80 và 160  $\mu$ g/L).

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.

### **2.2. Vật liệu**

Chuột nhắt trắng 6 tuần tuổi, sạch bệnh được nhiễm As liên tục trong 12 tuần.

Nghiên cứu được thực hiện tại Phòng Thí nghiệm Giải phẫu - Sinh lí Người và Động vật - Khoa Sinh học - Trường Đại học Sư phạm TPHCM. Chuột ở (đề 3 tuần tuổi) mua từ viện Pasteur (167 Pasteur, phường 8, Quận 3, TP Hồ Chí Minh) chuyển về phòng thí nghiệm nuôi ổn định cho đến 6 tuần tuổi mới tiến hành thí nghiệm.

Mỗi nồng độ chia làm 3 lô, 4 con/lô và lô đối chứng, lặp lại 3 lần. Số chuột trong từng lô được nhốt trong 01 chuồng có kích thước 30 x 20 x 15 cm, dưới chuồng lót trấu,

bên trên đây bằng lưới sắt. Mỗi ngày cho ăn vào lúc 16-17 giờ, thức ăn gồm thóc và giá, nước uống để sẵn trong chai thủy tinh (đã nhiễm As ở các nồng độ khảo sát). Mỗi ngày đều vệ sinh chuồng chuột.

### **2.3. Phương pháp nghiên cứu**

#### **2.3.1. Phương pháp gây nhiễm As**

Nước uống của chuột uống hàng ngày được cho vào bình thủy tinh 250 ml và bổ sung các nồng độ As khảo sát tương ứng, nước uống được thay 2 ngày/lần.

#### **2.3.2. Phương pháp lấy máu chuột**

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 lấy máu ở tĩnh mạch đuôi của chuột.

#### **2.3.3. Phương pháp xác định số lượng hồng cầu**

Dùng kim trích lấy máu ở đuôi chuột, bỏ giọt máu đầu tiên; hút máu vào ống trộn hồng cầu (pipette hồng cầu, Haemocytometer-set, 1999991, Đức) đến vạch 0,5; hút dung dịch pha loãng hồng cầu vào trong ống trộn đến vạch 101, lúc này máu được pha loãng 200 lần; lắc đều ống trộn hồng cầu trong 2 phút để trộn đều máu và dung dịch pha loãng; châm đầy 2 buồng đếm (bỏ 4-8 giọt đầu tiên trước khi cho vào buồng đếm); đưa buồng đếm lên kính hiển vi, kiểm tra sự phân bố hồng cầu dưới vật kính 10 (nếu chưa phân bố đều thì thao tác lại); đếm số lượng hồng cầu trong 5 ô vuông lớn (80 ô vuông nhỏ). Mỗi mẫu máu được đếm tối thiểu 2 lần, sau đó lấy số trung bình của các lần đếm (A). Số lượng hồng cầu/mm<sup>3</sup> máu (N) được tính theo công thức:

$$N = (A \times 4000 \times 200): 80 = A \times 10.000$$

#### **2.3.4. Phương pháp xác định số lượng bạch cầu**

Dùng kim trích lấy máu ở đuôi chuột, bỏ giọt máu đầu tiên; hút máu vào ống trộn bạch cầu (pipette bạch cầu, Haemocytometer-set, 1999991, Đức) đến vạch 0,5; hút dung dịch pha loãng bạch cầu vào trong ống trộn đến vạch 11, lúc này máu được pha loãng 20 lần; lắc đều ống trộn bạch cầu trong 2 phút để trộn đều máu và dung dịch pha loãng; châm đầy 2 buồng đếm (bỏ 4-8 giọt đầu tiên trước khi cho vào buồng đếm); đưa buồng đếm lên kính hiển vi kiểm tra sự phân bố bạch cầu dưới vật kính 10 (nếu chưa phân bố đều thì thao tác lại); đếm bạch cầu trong 5 ô vuông lớn (80 ô vuông nhỏ). Mỗi mẫu máu được đếm tối thiểu 2 lần, lấy chỉ số trung bình của các lần đếm (B). Số lượng bạch cầu được tính theo công thức:

$$N = (B \times 4000 \times 20): 80 = B \times 1000$$

#### **2.3.5. Phương pháp xác định số lượng tiểu cầu**

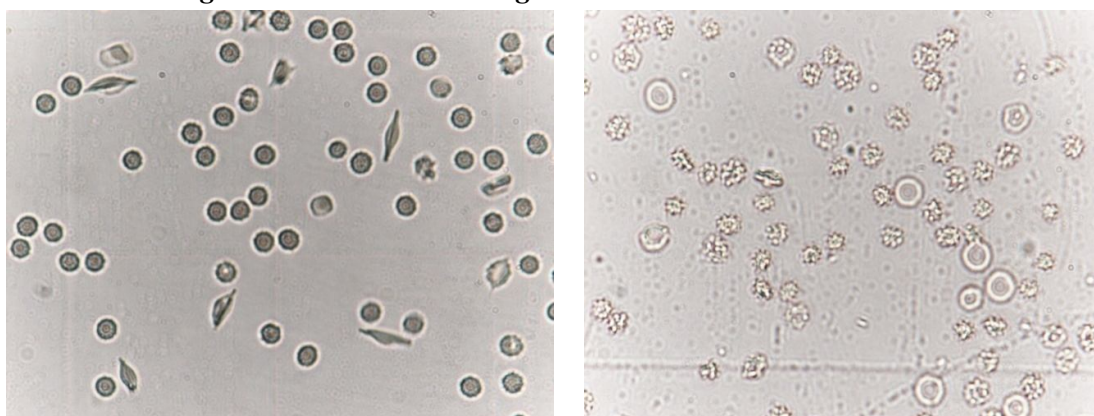
Các bước làm tương tự như các bước ở phương pháp xác định số lượng bạch cầu (xem 2.3.4), chỉ có bước 3 ta hút dung dịch tiểu cầu thay cho dung dịch bạch cầu. Cách tính số lượng tiểu cầu cũng giống với công thức tính số lượng bạch cầu.

### 2.3.6. Phương pháp xử lý thống kê

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 16. Các số liệu trung bình được trình bày ở dạng  $\bar{X} \pm SE$ . Mức ý nghĩa được sử dụng để kiểm định sai khác có ý nghĩa giữa các nghiệm thức là 0,05. Xử lý sai khác về số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu bằng phương pháp phân tích phương sai một nhân tố: ANOVA - One Way.

## 3. Kết quả và thảo luận

### 3.1. Ảnh hưởng của asen lên tế bào hồng cầu



(A)

(B)

Hình 1. Hồng cầu non (A) hồng cầu bị tán huyết (B) (x40)

Số lần TN	Số lượng hồng cầu của chuột tại các nồng độ thí nghiệm ( $\times 10^4$ tế bào/mm <sup>3</sup> máu)			
	ĐC	40	80	160
Lần 1	727,3 $\pm$ 35,9 <sup>a.α</sup>	720,8 $\pm$ 21,4 <sup>a.α</sup>	714,6 $\pm$ 18,6 <sup>a.βγ</sup>	711,7 $\pm$ 17,8 <sup>a.βγ</sup>
Lần 2	735,9 $\pm$ 36,8 <sup>ab.α</sup>	688,9 $\pm$ 33,6 <sup>b.α</sup>	823,5 $\pm$ 36,8 <sup>a.αβ</sup>	780,6 $\pm$ 26,4 <sup>ab.αβ</sup>
Lần 3	746,7 $\pm$ 21,6 <sup>b.α</sup>	788,0 $\pm$ 26,0 <sup>ab.α</sup>	884,7 $\pm$ 37,2 <sup>a.α</sup>	835,7 $\pm$ 27,5 <sup>ab.αβ</sup>
Lần 4	727,0 $\pm$ 40,3 <sup>a.α</sup>	806,9 $\pm$ 48,3 <sup>a.α</sup>	553,2 $\pm$ 29,4 <sup>b.σ</sup>	669,4 $\pm$ 41,1 <sup>ab.γ</sup>
Lần 5	692,2 $\pm$ 15,6 <sup>a.α</sup>	724,0 $\pm$ 52,0 <sup>a.α</sup>	621,3 $\pm$ 29,1 <sup>a.γσ</sup>	748,7 $\pm$ 33,4 <sup>a.αβ</sup>
Lần 6	695,8 $\pm$ 42,8 <sup>a.α</sup>	792,8 $\pm$ 36,0 <sup>a.α</sup>	772,3 $\pm$ 38,1 <sup>a.αβ</sup>	845,2 $\pm$ 45,6 <sup>a.αβ</sup>
Lần 7	755,4 $\pm$ 34,4 <sup>a.α</sup>	803,8 $\pm$ 42,5 <sup>a.α</sup>	892,1 $\pm$ 34,0 <sup>a.α</sup>	876,6 $\pm$ 43,1 <sup>a.α</sup>

*a, b: thể hiện sự khác biệt theo hàng ở độ tin cậy 95%*  
*α, β, γ, σ: thể hiện sự khác biệt theo cột ở độ tin cậy 95%*  
 TN: thí nghiệm; ĐC: đối chứng

Bảng 1 cho thấy, số lượng hồng cầu ở lô đối chứng và lần lấy máu đầu tiên dao động ổn định trong khoảng 6,922 – 7,554  $\times 10^6$  tế bào/mm<sup>3</sup> máu ( $p > 0,05$ ), như vậy số chuột đưa vào thí nghiệm có chỉ số hồng cầu ban đầu tương đương nhau và nằm trong ngưỡng phía dưới của giới hạn cho phép ( $7 - 11 \times 10^6$  tế bào/mm<sup>3</sup>) [3].

Ở lần lấy máu thứ 2 (sau khi chuột bị nhiễm arsen 2 tuần), số lượng hồng cầu chuột có sự khác biệt so với lô đối chứng, sự khác biệt này có ý nghĩa về mặt thống kê ( $p < 0,05$ ). Cụ thể: Số lượng hồng cầu cao nhất ở nồng độ 80  $\mu\text{g/L}$  (chênh lệch  $0,876 \times 10^6$  tế bào/ $\text{mm}^3$  máu so với lô đối chứng), thấp nhất ở nồng độ 40  $\mu\text{g/L}$  (chênh lệch  $0,47 \times 10^6$  tế bào/ $\text{mm}^3$  máu so với lô đối chứng). Nguyên nhân là do số lượng hồng cầu chuột tăng cao trong khoảng 7 – 10 tuần tuổi. Bên cạnh đó arsen vào cơ thể chuột, di chuyển từ ruột qua gan, thấm vào máu và được thải ra ngoài qua nước tiểu ở thời gian đầu. Vì vậy, trong thời gian này, arsen chưa tích trữ nhiều trong máu nên chưa quan sát được sự ảnh hưởng lên hồng cầu [3].

Ở lần lấy máu thứ 3 (sau 4 tuần chuột bị nhiễm arsen), số lượng hồng cầu ở các nồng độ nhiễm As tăng cao so với nồng độ đối chứng và cao nhất ở nồng độ 80  $\mu\text{g/L}$  (chênh lệch  $1,38 \times 10^6$  tế bào/ $\text{mm}^3$  máu so với lô đối chứng,  $p < 0,05$ ). Sự khác biệt này là do chuột đang trong thời gian 7 – 10 tuần tuổi và ở giai đoạn này arsen vẫn chưa tích lũy nhiều trong hồng cầu.

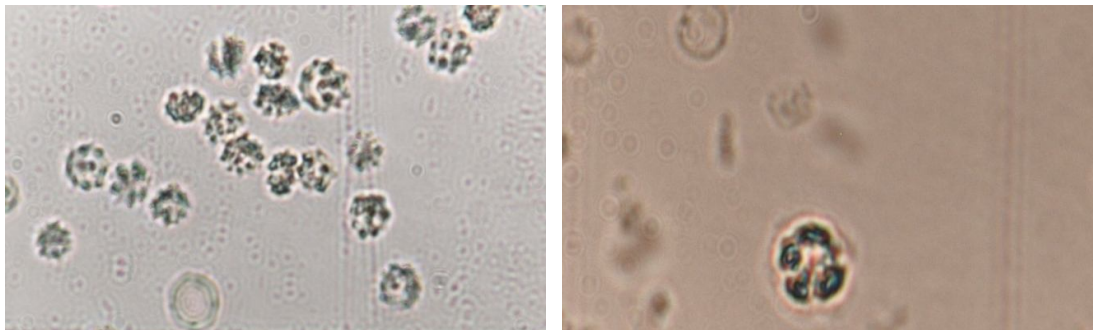
Trong lần lấy máu thứ 4 (sau 6 tuần chuột bị nhiễm arsen), số lượng hồng cầu có sự khác biệt so với lô đối chứng, ( $p < 0,05$ ). Cụ thể: Số lượng hồng cầu ở nồng độ 40  $\mu\text{g/L}$  tăng cao (chênh lệch  $0,799 \times 10^6$  tế bào/ $\text{mm}^3$  máu) và giảm ở nồng độ 80  $\mu\text{g/L}$ , 160  $\mu\text{g/L}$ , thấp nhất ở nồng độ 80  $\mu\text{g/L}$  (chênh lệch  $1,738 \times 10^6$  tế bào/ $\text{mm}^3$  máu) so với lô đối chứng. Nguyên nhân có thể do arsen ở nồng độ 80  $\mu\text{g/L}$  và 160  $\mu\text{g/L}$  đã phá hủy tủy xương gây nên hiện tượng tán huyết làm cho số lượng hồng cầu giảm mạnh. Ở nồng độ 40  $\mu\text{g/L}$  arsen tồn tại trong hồng cầu nhưng chưa ảnh hưởng đến tủy xương, chưa gây sự tán huyết nên số lượng hồng cầu vẫn tăng. Như vậy, nồng độ 80  $\mu\text{g/L}$  đã ảnh hưởng mạnh đến tế bào tủy xương. Điều này phù hợp với nghiên cứu của H. L. Hong và cs. khi nghiên cứu ảnh hưởng của arsen lên hồng cầu chuột [4], [5].

Ở lần lấy máu 5, 6, 7 (sau khi chuột bị nhiễm arsen từ 8-12 tuần), số lượng hồng cầu tăng so với lô đối chứng vì arsen 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, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Điều này phù hợp với nghiên cứu của Brair và cs. khi nghiên cứu ảnh hưởng của arsen lên hồng cầu chuột [6], [7]

Như vậy, ở lần lấy máu thứ 4 (tương ứng với tuần thứ 6) tại nồng độ 80  $\mu\text{g/L}$ , số lượng hồng cầu đạt giá trị thấp nhất ( $5,532 \times 10^6$  tế bào/ $\text{mm}^3$  máu) so với những lần lấy máu khác và so với các nồng độ thí nghiệm. Cũng ở nồng độ 80  $\mu\text{g/L}$ , trong lần lấy máu cuối cùng số lượng hồng cầu đạt giá trị cao nhất ( $8,921 \times 10^6$  tế bào/ $\text{mm}^3$  máu). Điều này chứng tỏ sau 6 tuần gây nhiễm ở nồng độ 80  $\mu\text{g/L}$  đã ảnh hưởng mạnh đến tủy xương chuột, gây nên hiện tượng tán huyết làm số lượng hồng cầu chuột giảm xuống đáng kể và nằm ngoài chỉ tiêu cho phép. Sau đó, 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 lại so

với ban đầu do tủy xương sản xuất hồng cầu đáp ứng lại nhu cầu của cơ thể chuột [3], [6-10]. Kết quả của nghiên cứu này phù hợp với nghiên cứu của Gupta và Flora (2007), Yasmin và cs. (2010) số lượng hồng cầu giảm khi nồng độ asen tăng cao [9-11]. Khi xét sự tương quan giữa nồng độ và thời gian gây nhiễm asen lên số lượng hồng cầu chuột, cho thấy cả hai yếu tố này có tương tác với nhau cùng ảnh hưởng lên số lượng hồng cầu của chuột thí nghiệm với độ tin cậy rất cao ( $p < 0,001$ ).

### 3.2. Ảnh hưởng của asen lên số lượng bạch cầu



Hình 2. Bạch cầu bị tán huyết (x100)

**Bảng 2.** Số lượng bạch cầu ở các nồng độ khảo sát qua các lần thí nghiệm

Số lần TN	Số lượng bạch cầu của chuột tại các nồng độ thí nghiệm ( $\times 10^4$ tế bào/ $\text{mm}^3$ máu)			
	ĐC	40	80	160
Lần 1	$9,42 \pm 1,11^{a,\alpha}$	$9,667 \pm 0,678^{a,\beta}$	$9,58 \pm 1,20^{a,\alpha}$	$9,500 \pm 0,754^{a,\alpha}$
Lần 2	$9,83 \pm 1,10^{ab,\alpha}$	$14,92 \pm 1,46^{a,\alpha}$	$11,33 \pm 2,01^{ab,\alpha}$	$8,42 \pm 1,39^{b,\alpha}$
Lần 3	$8,917 \pm 0,668^{ab,\alpha}$	$12,67 \pm 1,44^{a,\alpha\beta}$	$10,75 \pm 1,48^{ab,\alpha}$	$8,083 \pm 0,830^{b,\alpha}$
Lần 4	$9,583 \pm 0,583^{a,\alpha}$	$11,333 \pm 0,569^{a,\alpha\beta}$	$8,58 \pm 1,60^{a,\alpha}$	$7,75 \pm 1,14^{a,\alpha}$
Lần 5	$9,500 \pm 0,557^{a,\alpha}$	$12,08 \pm 1,00^{a,\alpha\beta}$	$9,50 \pm 0,821^{a,\alpha}$	$9,333 \pm 0,801^{a,\alpha}$
Lần 6	$9,667 \pm 0,620^{ab,\alpha}$	$11,58 \pm 1,11^{a,\alpha\beta}$	$10,00 \pm 1,67^{ab,\alpha}$	$7,083 \pm 0,821^{b,\alpha}$
Lần 7	$9,750 \pm 0,617^{a,\alpha}$	$11,917 \pm 0,981^{a,\alpha\beta}$	$8,50 \pm 1,20^{a,\alpha}$	$8,833 \pm 0,767^{a,\alpha}$

*a, b: thể hiện sự khác biệt theo hàng ở độ tin cậy 95%*

*$\alpha, \beta$ : thể hiện sự khác biệt theo cột ở độ tin cậy 95%*

*TN: thí nghiệm; ĐC: đối chứng*

Bảng 2 cho thấy số lượng bạch cầu ở lô đối chứng và lần lấy máu đầu tiên dao động trong khoảng 8917 – 9750 tế bào/ $\text{mm}^3$  máu ( $p > 0,05$ ), như vậy số chuột đưa vào thí nghiệm có chỉ số bạch cầu ban đầu tương đương nhau và nằm trong giới hạn cho phép của các chủng chuột (2000 – 10000 tế bào/ $\text{mm}^3$ ) [3]. Tuy nhiên, số lượng bạch cầu của nhóm chuột thí nghiệm trong đề tài này ở mức cao.

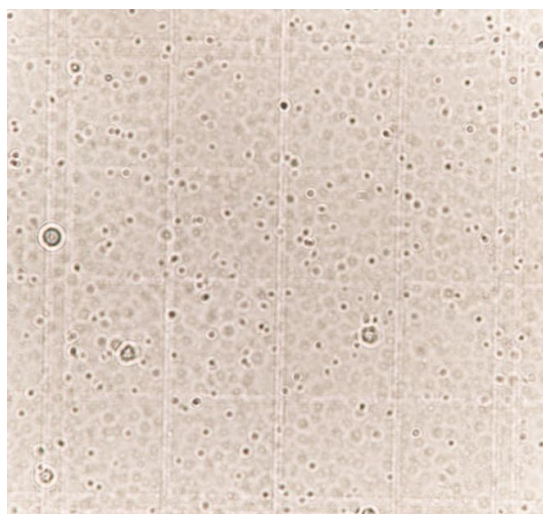
Số lượng bạch cầu ở lần lấy máu thứ 4, 5, 7 của các nồng độ nhiễm As có sự khác biệt so với nồng độ đối chứng, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa về mặt thống kê ( $p > 0,05$ ). Ở lần lấy máu thứ 2, 3, 6 số lượng bạch cầu ở nồng độ nhiễm As 40  $\mu\text{g/L}$

tăng cao và giảm dần theo nồng độ 80  $\mu\text{g/L}$ , 160  $\mu\text{g/L}$ , đạt giá trị thấp nhất ở nồng độ 160  $\mu\text{g/L}$  so với nồng độ đối chứng ( $p < 0,05$ ).

Ở nồng độ 40  $\mu\text{g/L}$ , số lượng bạch cầu cao hơn lô đối chứng ( $p < 0,05$ ) giữa các lần lấy máu; ở lần lấy máu thứ 2 (sau 4 tuần gây nhiễm arsen cho chuột) tăng cao so với lần lấy máu đối chứng (chênh lệch 52510 tế bào/ $\text{mm}^3$  máu). Số lượng bạch cầu đạt giá trị cao nhất ở lần lấy máu thứ 2 tại nồng độ 40  $\mu\text{g/L}$  (14920 tế bào/ $\text{mm}^3$  máu) và đạt giá trị thấp nhất ở lần lấy máu thứ 4 của nồng độ 160  $\mu\text{g/L}$  (7750 tế bào/ $\text{mm}^3$  máu) ( $p < 0,05$ ). Như vậy, với nồng độ nhiễm As thấp (40  $\mu\text{g/L}$ ) làm số lượng bạch cầu tăng so với giới hạn cho phép, trong khi 2 nồng độ còn lại có xu hướng làm giảm số lượng bạch cầu so với ban đầu, nhưng vẫn nằm trong giới hạn cho phép [3].

Khi xét sự tương quan giữa nồng độ và thời gian gây nhiễm arsen lên số lượng bạch cầu chuột, cho thấy chỉ có yếu tố nồng độ ảnh hưởng lên số lượng bạch cầu của chuột thí nghiệm với độ tin cậy rất cao ( $p < 0,001$ ). Khi xét riêng từng yếu tố thì thời gian đầu (sau 2 tuần gây nhiễm arsen) có ảnh hưởng đến số lượng bạch cầu và yếu tố nồng độ cũng ảnh hưởng đến số lượng bạch cầu chuột thí nghiệm (nồng độ 40  $\mu\text{g/L}$ ). Từ đó cho thấy, trong các nồng độ khảo sát, nồng độ 40  $\mu\text{g/L}$  ảnh hưởng rõ nhất đến số lượng bạch cầu chuột thí nghiệm. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Yasmin (2010), Xu (2004) và Sayed (2015), các nhóm nghiên cứu này cho rằng số lượng bạch cầu máu chuột tăng nhẹ khi nhiễm arsen trong 2 tuần đầu và sau đó hơi giảm rồi ổn định khi nhiễm ở liều cao [10]. Kết quả này có thể do lượng bạch cầu tăng để chống lại những tác động độc hại của arsen. Nhưng khi ở liều cao (80, 160  $\mu\text{g/L}$ ) có thể do hiện tượng hiệu ứng apoptosis của arsen lên các tế bào huyết tương [3], [8], [10], [12], [13].

### 3.3. Ảnh hưởng của arsen lên tế bào tiểu cầu



**Hình 3.** Tiểu cầu máu chuột (x100)

**Bảng 3.** Số lượng tiểu cầu ở các nồng độ khảo sát qua các lần thí nghiệm

Số lần TN	Số lượng tiểu cầu của chuột tại các nồng độ thí nghiệm ( $\times 10^3$ tế bào/mm <sup>3</sup> máu)			
	ĐC	40	80	160
Lần 1	422,6 ± 11,2 <sup>a.β</sup>	417,4 ± 8,74 <sup>a.β</sup>	481,5 ± 14,3 <sup>a.αγ</sup>	417,92 ± 5,70 <sup>a.βγσ</sup>
Lần 2	606,5 ± 28,2 <sup>b.α</sup>	695,8 ± 11,5 <sup>a.α</sup>	664,5 ± 11,2 <sup>ab.α</sup>	488,4 ± 22,3 <sup>c.βγ</sup>
Lần 3	604,8 ± 26,6 <sup>a.α</sup>	466,8 ± 20,6 <sup>b.β</sup>	465,6 ± 17,9 <sup>b.β</sup>	667,3 ± 20,1 <sup>a.α</sup>
Lần 4	589,8 ± 21,3 <sup>a.α</sup>	465,5 ± 26,3 <sup>b.β</sup>	455,6 ± 14,3 <sup>b.β</sup>	391,4 ± 30,9 <sup>b.γσ</sup>
Lần 5	597,2 ± 17,2 <sup>a.α</sup>	453,1 ± 28,5 <sup>b.β</sup>	453,4 ± 12,3 <sup>b.β</sup>	498,6 ± 22,1 <sup>b.β</sup>
Lần 6	559,8 ± 15,7 <sup>a.α</sup>	420,3 ± 31,6 <sup>c.β</sup>	455,7 ± 10,2 <sup>bc.β</sup>	509,3 ± 26,9 <sup>ab.β</sup>
Lần 7	540,2 ± 18,7 <sup>a.α</sup>	384,6 ± 37,3 <sup>b.β</sup>	387,3 ± 14,6 <sup>b.γ</sup>	347,5 ± 23,4 <sup>b.σ</sup>

*a, b, c: thể hiện sự khác biệt theo hàng ở độ tin cậy 95%*  
*α, β, γ, σ: thể hiện sự khác biệt theo cột ở độ tin cậy 95%*  
*TN: thí nghiệm; ĐC: đối chứng*

Ở lần lấy máu thứ nhất (chuẩn bị đưa vào thí nghiệm), số lượng tiểu cầu tương đương nhau ( $4,174 \times 10^5 - 4,815 \times 10^5$  tế bào/mm<sup>3</sup> máu),  $p > 0,05$ . Điều này chứng tỏ số lượng tiểu cầu chuột thí nghiệm tương đương nhau ở đầu vào. Số lượng này nằm trong mức cho phép của các chủng chuột ( $3 \times 10^5 - 10 \times 10^5$  tế bào/mm<sup>3</sup> máu) [3], [8].

Ở lần lấy máu thứ 2 (sau 2 tuần nhiễm As liên tục), số lượng tiểu cầu tăng cao ở nồng độ 40 μg/L, 80 μg/L ( $0,58 - 0,89 \times 10^5$  tế bào/mm<sup>3</sup> máu) và giảm thấp ở nồng độ 160 μg/L ( $2,07 \times 10^5$  tế bào/mm<sup>3</sup> máu) ( $p < 0,001$ ) so với lô đối chứng.

Ở lần lấy máu thứ 3-7 (sau 4-12 tuần gây nhiễm As), số lượng tiểu cầu có sự thay đổi rõ rệt so với lô đối chứng ( $p < 0,01$ ) và so với các lô còn lại ( $p < 0,05$ ). Ở nồng độ 40 μg/L, 80 μg/L số lượng tiểu cầu giảm so với lô đối chứng và so với tuần thứ 2; đồng thời sự giảm này có xu hướng giảm dần theo sự gia tăng thời gian và theo sự tăng dần của nồng độ gây nhiễm ( $p < 0,01$ ), và ở tuần thí nghiệm thứ 12, số lượng tiểu cầu giảm xuống gần như mức thấp nhất ngưỡng cho phép của các chủng chuột [3], [8]. Ở nồng độ 160 μg/L, số lượng tiểu cầu có sự biến động phi tuyến tính theo sự tăng dần thời gian gây nhiễm: sau 4 tuần thí nghiệm, số lượng tiểu cầu tăng  $1,79 \times 10^5$  tế bào/mm<sup>3</sup> máu so với sau 2 tuần thí nghiệm ( $p < 0,01$ ), tăng  $2 \times 10^5$  tế bào/mm<sup>3</sup> máu với 2 nồng độ còn lại ( $p < 0,05$ ) và tăng  $0,625 \times 10^5$  tế bào/mm<sup>3</sup> máu so với lô đối chứng; sau 6 tuần thí nghiệm số lượng tiểu cầu giảm  $2,76 \times 10^5$  tế bào/mm<sup>3</sup> máu so với sau 4 tuần thí nghiệm ( $p < 0,01$ ) và giảm so với các lô còn lại cũng như so với lô đối chứng ( $p < 0,05$ ); bước qua tuần thí nghiệm thứ 8 và 10, số lượng tiểu cầu lại tăng so với tuần thí nghiệm thứ 6 ( $p < 0,01$ ), nhưng lại giảm không khác biệt so với 2 lô còn lại và lô đối chứng; ở tuần thí nghiệm thứ 12, số lượng tiểu cầu lại giảm xuống đột ngột cách biệt so với lần thí nghiệm thứ 10 ( $p < 0,01$ ), và cũng đạt đến gần mức thấp nhất ngưỡng tiểu cầu cho phép của các chủng chuột (chỉ còn  $3,48 \times 10^5$  tế bào/mm<sup>3</sup> máu). Nguyên nhân là do ảnh hưởng của arsen ở nồng độ 40 μg/L, 80 μg/L gây nên hiện tượng cường lách dẫn đến số lượng tiểu cầu giảm [3], [14]. Khi nhiễm arsen ở nồng độ cao làm



ảnh hưởng đến tủy xương, từ đó thay đổi chức năng sản sinh tiểu cầu của tủy xương. Do đó, có hiện tượng tiểu cầu tăng giảm bất thường. Như vậy, số lượng tiểu cầu chuột tăng sau 2 tuần nhiễm asen sau đó giảm dần theo thời gian gây nhiễm và nồng độ asen càng cao càng làm giảm tiểu cầu chuột thí nghiệm.

#### 4. Kết luận

Asen vào trong máu chuột làm ảnh hưởng đến số lượng tế bào máu:

- Số lượng hồng cầu giảm mạnh sau 6 tuần nhiễm asen tại nồng 80  $\mu\text{g/L}$ , sau đó số lượng hồng cầu tăng gần đạt mức ban đầu theo thời gian gây nhiễm;
- Số lượng bạch cầu tăng sau 2 tuần nhiễm asen ở nồng độ 40 $\mu\text{g/L}$  trong khi 2 nồng độ cao hơn (80 và 160  $\mu\text{g/L}$ ) có xu hướng giảm nhẹ.
- Số lượng tiểu tăng sau 2 tuần nhiễm asen, sau đó giảm dần theo thời gian gây nhiễm và nồng độ asen càng cao càng làm giảm tiểu cầu chuột thí nghiệm.

❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Việt Hùng, *Ô nhiễm asen trong nước giếng khoan dùng cho ăn uống và nguy cơ sức khỏe của người dân xã Chuyên Ngoại, Duy Tiên, Hà Nam*, Đề tài cấp cơ sở, Trung tâm nghiên cứu Y tế công cộng và sinh thái, 9-2011, <http://nckh.huph.edu.vn/vi/node/115>.
- [2] Nguyễn Mạnh Khải, Nguyễn Xuân Huân và Lê Thị Ngọc Anh, "Nghiên cứu xử lý Asen trong nước ngầm ở một số vùng nông thôn bằng hydroxit sắt (III)," *Tạp chí Khoa học ĐHQG Hà Nội, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, vol. 26, pp. 165-171, 2010.
- [3] C. A. P. Michael P. McGarry, James J. Lee, *Mouse Hematology: A Laboratory Manual: Hardcover*, 2010.
- [4] H. L. Hong, B. A. Fowler, and G. A. Boorman, "Hematopoietic effects in mice exposed to arsine gas," *Toxicol Appl Pharmacol*, vol. 97, pp. 173-82, Jan 1989.
- [5] W. T. Klimecki and D. E. Carter, "Arsine toxicity: chemical and mechanistic implications," *J Toxicol Environ Health*, vol. 46, pp. 399-409, Dec 1995.
- [6] P. C. Blair, M. B. Thompson, M. Bechtold, R. E. Wilson, M. P. Moorman, and B. A. Fowler, "Evidence for oxidative damage to red blood cells in mice induced by arsine gas," *Toxicology*, vol. 63, pp. 25-34, Jul 1990.
- [7] P. C. Blair, M. B. Thompson, R. E. Morrissey, M. P. Moorman, R. A. Sloane, and B. A. Fowler, "Comparative toxicity of arsine gas in B6C3F1 mice, Fischer 344 rats, and Syrian golden hamsters: system organ studies and comparison of clinical indices of exposure," *Fundam Appl Toxicol*, vol. 14, pp. 776-87, May 1990.
- [8] S. W. B. James G. Fox, Muriel T. Davisson, Christian E. Newcomer, Fred W. Quimby, Abigail L. Smith, *The Mouse in Biomedical Research*, vol. III: Elsevier Inc, 2007.

- [9] Sayed A. M. Amer, M. S. A.-H. and, and Y. A. A. AL-Zahrani, "Protective Role of Some Antioxidants on Arsenic Toxicity in Male Mice: Physiological and Histopathological Perspectives," *Biology and Medicine* vol. 8(1), pp. 1-8, 2016.
- [10] Das J. Yasmin.S, Stuti M, Rani M and D'Souza D, "Sub chronic toxicity of arsenic trioxide on Swiss albino mice," *International Journal of Environmental Sciences*, vol. 1(7), pp. 1640-1647, 2011.
- [11] R. Gupta, D. K. Dubey, G. M. Kannan, and S. J. Flora, "Concomitant administration of Moringa oleifera seed powder in the remediation of arsenic-induced oxidative stress in mouse," *Cell Biol Int*, vol. 31, pp. 44-56, Jan 2007.
- [12] S. Sayed, N. Ahsan, M. Kato, N. Ohgami, A. Rashid, and A. A. Akhand, "Protective effects of phyllanthus emblica leaf extract on sodium arsenite-mediated adverse effects in mice," *Nagoya J Med Sci*, vol. 77, pp. 145-53, Feb 2015.
- [13] H. Y. Xu, Y. L. Yang, S. M. Liu, L. Bi, and S. X. Chen, "Effect of arsenic trioxide on human hepatocarcinoma in nude mice," *World J Gastroenterol*, vol. 10, pp. 3677-9, Dec 15 2004.
- [14] C. O. A. W.R. Chappell, R.L. Calderon, D.J. Thomas, *Arsenic Arsenic Exposure and Health Effects V: Proceedings of the fifth international conference on Arsenic Exposure and Health Effects V*, July 14-18, 2002, San Diego California, 2002.