

Bài báo nghiên cứu

**KHẢO SÁT KHẢ NĂNG KHÁNG ĐỘC TÍNH ASEN CỦA DỊCH ÉP TỎI LÝ SƠN
THÔNG QUA SỐ LƯỢNG TẾ BÀO MÁU, HÌNH DẠNG HỒNG CẦU
VÀ CẤU TRÚC MÔ LÁCH CHUỘT NHẮT TRẮNG ĐỤC**

Nguyễn Thị Thương Huyền^{1*}, Nguyễn Thị Kiều Linh^{1,2}, Trương Văn Trí¹

¹Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

^{*}Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Thương Huyền – Email: huyennth@hcmue.edu.vn

Ngày nhận bài: 27-8-2020; ngày nhận bài sửa: 20-9-2020; ngày duyệt đăng: 28-12-2020

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm đánh giá vai trò bảo vệ của dịch ép tỏi Lý Sơn với liều độc Asen 450 $\mu\text{g/L}$ thông qua số lượng tế bào máu, hình dạng hồng cầu và sự tổn thương mô học của lách chuột. 48 chuột đực 6 tuần tuổi chia làm 4 nghiệm thức: NT1-ĐC; NT2-As; NT3-T250 (As và dịch ép tỏi 250 mg/kg/ngày); NT4-T500 (As và dịch ép tỏi 500 mg/kg/ngày). Chuột được uống As và dịch ép tỏi trong 60 ngày. Số lượng tế bào máu và hình dạng hồng cầu được xác định vào ngày 0, 30 và 60; sau 60 ngày, đánh giá mức độ tổn thương mô học của lách thông qua nhuộm H&E. Kết quả cho thấy dịch ép tỏi có tiềm năng trong việc giữ ổn định tế bào máu và hình dạng hồng cầu trong quá trình phơi nhiễm As: ngày thứ 30, số lượng hồng cầu giảm ở cả hai nghiệm thức (T250 và T500) trong khi số lượng bạch cầu và tiểu cầu ổn định ở nghiệm thức T250; ngày thứ 60, số lượng hồng cầu được khôi phục trở về mức bình thường ở cả hai nghiệm thức T250 và T500, trong khi số lượng bạch cầu và tiểu cầu giảm ở cả hai nghiệm thức (T250 và T500). Phân tích mô học cho thấy: As làm cho cấu trúc của lách bị tổn thương nặng; dịch ép tỏi Lý Sơn có tiềm năng trong việc bảo vệ lách khi bị phơi nhiễm As.

Từ khóa: độc tính của asen; cấu trúc mô học; số lượng tế bào máu chuột; tỏi Lý Sơn

1. Giới thiệu

Hiện nay, ở Việt Nam rất nhiều khu vực có nguồn nước bị nhiễm asen (As) rất cao như các vùng đồng bằng châu thổ sông Hồng, sông Đồng Nai và đồng bằng sông Cửu Long. Theo báo cáo của Bộ Y tế, nguồn nước ngầm tại các tỉnh Hà Tây, Hà Nam, An Giang, Long An và Đồng Tháp có mức độ ô nhiễm As trong nguồn nước ngầm rất nghiêm trọng (Department of water resources management, 2008). Đặc biệt, 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

Cite this article as: Nguyen Thi Thuong Huyen, Nguyen Thi Kieu Linh, & Truong Van Tri (2020). Examination of protective role of Ly Son garlic juice on arsenic toxicity on the blood cells count, erythrocyte shape and histopathological perspectives of the spleen of male albino mouse. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 17(12), 2173-2187.

với quy định của Bộ Y tế (Bui, Tran, & Nguyen, 2013). Người uống nước bị nhiễm As lâu ngày gây nên những hậu quả nặng nề: da mặt xám, rụng tóc, giảm trí nhớ, mạch máu bị tổn thương, bệnh rối loạn nhịp tim, đau mắt, đau tai, bệnh viêm dạ dày và ruột làm kiệt sức, tiểu đường, ung thư, ảnh hưởng đến khả năng sinh sản, gây độc tính thần kinh... thậm chí gây tử vong (Flora, 2015). Khi vào cơ thể, As sẽ liên kết với nhóm sulfhydryl của các enzyme trong chu trình đường phân và các enzyme trong chu trình tricarboxylic acid để ức chế quá trình của chúng; các As (V) có thể cản trở hoạt động của enzyme phosphoryl hóa oxi hóa ở ti thể. Con đường oxi hóa của As là do sự sản xuất các gốc tự do giống như super oxide và hydrogen peroxide – những gốc khởi đầu cho lipid peroxidation. As gây ra sự oxi hóa, làm tổn thương các đại phân tử trong tế bào hoặc hoạt động như chất truyền tin thứ 2 gây ảnh hưởng lên sự biểu hiện của gene sau đó làm tăng cường sự phát triển của tế bào (Amer et al., 2016).

Các nghiên cứu gần đây ở trên thế giới cho thấy các chất chống oxi hóa như tỏi, trà xanh, vitamin C, các loại trái cây chứa nhiều vitamin C có khả năng làm giảm độc tính của As (Amer, Al-Zahrani, & AL-Harbi, 2019; Gupta, Dubey, Kannan, & Flora, 2006; Qureshi, Tahir, & Sami, 2009; Singh, & Rana, 2007). Hiện tại, việc đánh giá thông qua chỉ số huyết học và mô học cụ thể của các cơ quan được xem là tiêu chuẩn vàng để phát hiện những tổn thương của các cơ quan đó khi tiếp xúc với kim loại nặng (Chowdhury, 2016). Tuy nhiên, nồng độ các chất khảo sát cũng như thời gian thực nghiệm của mỗi nghiên cứu không giống nhau. Bên cạnh đó, nguy cơ có liên quan đến As đối với lách – một cơ quan tạo máu – cũng như hiệu quả của một số chất kháng độc tính As có nguồn gốc tự nhiên vẫn đang được các nhà khoa học trên thế giới quan tâm.

Tỏi là một loại thực phẩm giàu chất kháng oxi hóa và chứa nhiều loại hợp chất hóa học; được sử dụng phổ biến trong dân gian và y tế bởi do có nhiều dược tính, trong đó phải kể đến allicin, liallyl sulfide và ajoene. Ngoài ra, tỏi còn có khả năng kích thích miễn dịch, giải độc và kháng khuẩn. Một số nghiên cứu cũng cho thấy vai trò của tỏi trong việc làm giảm độc tính asen (Alhamami, Al-Mayah, Al-Mousawi, & Al-Aoboodi, 2006; Amer et al., 2016; Amer et al., 2019; Chowdhury et al., 2008; Flora, Mehta, & Gupta, 2009). Tại Việt Nam, tỏi được trồng rất phổ biến và có nhiều giống khác nhau, nhưng nổi bật nhất là tỏi Lý Sơn trồng ở Huyện đảo Lý Sơn. Tỏi Lý Sơn nổi tiếng về chất lượng, mang những đặc trưng riêng so với giống tỏi khác: thơm dịu, cay dịu và có hàm lượng tinh dầu cao. Vì vậy, trong nghiên cứu này sử dụng dịch ép tỏi Lý Sơn để khảo sát vai trò của chúng trong việc làm giảm độc tính As trên mô hình chuột nhắt trắng.

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm đánh giá vai trò bảo vệ của dịch ép tỏi Lý Sơn chống lại độc tính của As thông qua số lượng tế bào máu, hình dạng hồng cầu và cấu trúc mô học của lách chuột nhắt trắng.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Hóa chất

As₂O₃ (Sigma), Na₂SO₄, NaCl, HgCl₂, (NH₄)₂C₂O₄.2H₂O, Axit acetic nguyên chất các được mua từ hãng Scharlab S.L. Tây Ban Nha; thuốc nhuộm HE (Sigma), formalin (Sigma), KH₂PO₄ và Na₂HPO₄ (Merck).

2.2. Vật liệu và bố trí thí nghiệm

Chuột nhắt trắng đực 4 tuần tuổi (12-15 g), sạch bệnh và thức ăn tổng hợp được mua từ Viện Pasteur Thành phố Hồ Chí Minh. Chuột được nuôi ổn định tại phòng thí nghiệm với chu kỳ 12 giờ sáng/12 giờ tối, nhiệt độ phòng (27-28°C) để đạt 6 tuần tuổi (19-21 g). 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 Thành phố Hồ Chí Minh. Mẫu lách được nhuộm H&E tại Khoa Giải phẫu bệnh của Bệnh viện Quận 2, Thành phố Hồ Chí Minh. Trong suốt quá trình thí nghiệm, chuột được cho ăn bằng thức ăn tổng hợp dành riêng cho chuột, nước uống là nước sinh hoạt hàng ngày.

48 chuột đực có cân nặng từ 19-21 g được sử dụng cho nghiên cứu, chia làm 4 nghiệm thức (NT) với các kí hiệu cụ thể, trong đó NT1 (ĐC): chuột được uống nước bình thường (đối chứng âm); NT2 (As): chuột được uống nước nhiễm As với nồng độ 450 µg/L (đối chứng dương); NT3 (T250): chuột được uống nước nhiễm As với nồng độ 450 µg/L và dịch ép tỏi với nồng độ 250 mg/kg/ngày; NT4 (T500): chuột được uống nước nhiễm As với nồng độ 450 µg/L + dịch ép tỏi với nồng độ 500 mg/kg/ngày. Chuột được uống As và dịch ép tỏi ở các nghiệm thức tương ứng trong suốt thời gian thí nghiệm. 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 thủy tinh (đường kính 20 cm) và đánh dấu từng con, dưới chuồng lót trấu, bên trên đặt bằng lưới sắt. Mỗi ngày cho ăn thức ăn tổng hợp vào lúc 07 giờ và 17-18 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 60 ngày.

Cơ sở chọn nồng độ gây nhiễm As và dịch ép tỏi:

Theo Bùi Huy Tùng và cộng sự (2013), mẫu nước giếng khoan sử dụng cho sinh hoạt hằng ngày ở xã Chuyên Ngoại, huyện Duy Tiên, tỉnh Hà Nam nhiễm As vượt mức cho phép 30 lần (Bui, Tran, Nguyen, 2013); theo quy chuẩn Việt Nam, nồng độ As cho phép hiện diện trong nước sinh hoạt mức A1 là 10 µg/L, mức A2 là 20 µg/L (Ministry of Natural Resources and Environment, 2015); và theo công bố của Đỗ Ngọc Mai Khanh và cộng sự (2017), trong 3 nồng độ As khảo sát (40, 80 và 160 µg/L), nồng độ 160 µg/L gây ảnh hưởng lên các tế bào máu rõ nhất (Do, Vu, & Nguyen, 2017). Trên cơ sở đó, chúng tôi chọn nồng độ As gây nhiễm cho chuột là 450 µg/L trong 60 ngày thí nghiệm.

Theo công bố của Flora và cộng sự (2009), chiết xuất tỏi (500 mg/kg/ngày và 250 mg/kg/ngày) có chứa các chất chống oxi hóa mạnh, có khả năng ngăn ngừa quá trình chết theo chu trình (apoptosis) của tế bào, từ đó có thể hữu ích trong việc ngăn ngừa độc tính

gây ra bởi As. Vì vậy, chúng tôi chọn 2 nồng độ dịch ép tỏi là 500 mg/kg/ngày và 250 mg/kg/ngày cho mô hình nghiên cứu trong 60 ngày thí nghiệm (Flora, Mehta, & Gupta, 2009).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp tạo dịch ép tỏi

Tỏi Lý Sơn được mua từ siêu Co.opmart, lột vỏ (30 g), nghiền nát trong nước cất (60 mL) và vắt qua 2 lớp giấy lọc Whatman thu được dịch ép tỏi và được bảo quản ở nhiệt độ -20°C cho đến khi sử dụng (trong thời gian 2 ngày). Mỗi mL dịch ép thu được tương đương với khoảng 500 mg tỏi (Flora, Mehta, & Gupta, 2009). Dịch ép này được pha để đạt hai nồng độ là 250 mg/kg và 500 mg/kg thể trọng của chuột.

2.3.2. Phương pháp gây nhiễm As và uống dịch ép tỏi

Nước nhiễm As với nồng độ tương ứng từng giai đoạn được chứa trong bình nước uống hằng ngày của chuột, theo dõi lượng nước chuột uống trung bình mỗi ngày. Để tránh gây sốc cho chuột khi nhiễm As, tiến hành bố trí gây nhiễm bằng cách tăng dần nồng độ As sau mỗi 2 tuần thí nghiệm tương ứng với độ tăng trọng của chuột. Cụ thể các nồng độ bố trí lần lượt sau mỗi 2 tuần là 250 $\mu\text{g/L}$, 350 $\mu\text{g/L}$, 500 $\mu\text{g/L}$ và 700 $\mu\text{g/L}$. Như vậy, trong 60 ngày thí nghiệm, nồng độ As đạt trung bình 450 $\mu\text{g/L}$.

Buổi sáng (7 giờ), trước giờ khi cho ăn 30 phút, cho chuột uống dịch ép tỏi bằng cách dùng xi lanh bơm trực tiếp qua đường miệng xuống thực quản với các nồng độ tương ứng của từng nghiệm thức. Sau khi cho uống, quan sát biểu hiện, tập tính của chuột trong 30 phút và ghi vào sổ theo dõi mỗi ngày.

2.3.3. 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 tại thời điểm 30 và 60 ngày thí nghiệm để khảo sát số lượng tế bào máu. Cách thu mẫu 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.

2.3.4. 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 (dung dịch Hayem) 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/ mm^3 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 (dung dịch Lazarus) 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/ mm^3 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 (dung dịch Amonioxalat) thay cho dung dịch bạch cầu (Nguyen, & Vo, 2019).

2.3.5. Phương pháp xác định hình dạng hồng cầu chuột

Chuẩn bị mẫu máu như ở phần xác định số lượng hồng cầu, chụp hình các buồng đếm có tế bào hồng cầu trong 1 phút, nhận dạng các loại bất thường về hình thái: hồng cầu hình môi, hồng cầu hình liềm, hồng cầu hình răng cưa, hồng cầu hình cầu trong tổng số 200 tế bào hồng cầu, đếm số lượng tế bào của từng dạng bất thường đó bằng máy đếm tế bào phân tích bạch cầu và ghi nhận kết quả (Marshall A. Lichtman, 2010). Ở mỗi chuột, đếm độc lập 3 lần ở 3 mẫu máu khác nhau (600 tế bào), sau đó, tính giá trị trung bình (lấy phần nguyên). Mỗi nghiệm thức đếm 5 chuột.

2.3.6. Phương pháp đánh giá mẫu mô lách

Sau 60 ngày thí nghiệm, giải phẫu chuột bằng cách kéo dẫn đốt sống cổ, mở khoang bụng, thu nhận lách của từng nghiệm thức, cố định trong dung dịch formalin 10% và gửi mẫu đến Khoa Giải phẫu bệnh của Bệnh viện Quận 2, Thành phố Hồ Chí Minh để nhuộm H&E. Mỗi nghiệm thức chọn 6 con chuột ngẫu nhiên để thực hiện nhuộm mẫu mô lách, đánh giá trên 3 lát cắt. Đánh giá mức độ tổn thương mô học lách qua tiêu bản cố định dưới kính hiển vi đảo ngược tại Phòng Thí nghiệm Giải phẫu – Sinh lý Người và Động vật.

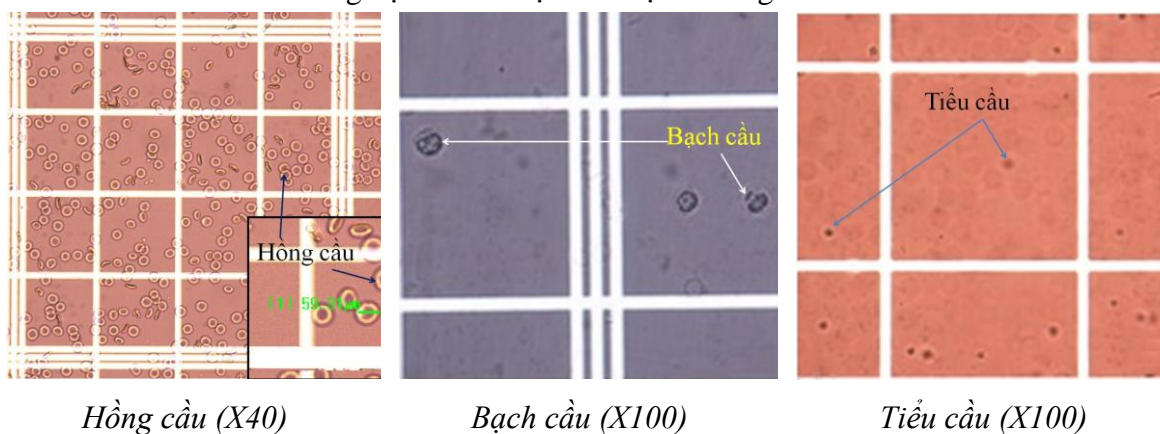
2.3.7. Phương pháp xử lý số liệu thống kê

Tất cả số liệu của đề tài được xử lý thống kê bằng phần mềm Minitab 18 như sau: Phân tích phương sai một yếu tố (One – way Anova), các số liệu được trình bày ở dạng $\bar{X} \pm 95\% \text{ CI}$. Mức ý nghĩa được sử dụng để kiểm định sai khác có ý nghĩa các nghiệm thức là 0,05.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Khả năng kháng độc tính As của dịch ép tỏi lên số lượng tế bào máu chuột

Hình ảnh tế bào máu chuột thu nhận trong đề tài được thể hiện ở Hình 1 và số lượng của các tế bào máu ở các nghiệm thức được thể hiện ở Bảng 1.



Hình 1. Tế bào máu chuột

Bảng 1. Số lượng tế bào máu của các nghiệm thức dưới tác dụng của dịch ép tỏi

Tế bào máu	Nghiệm thức	Thời điểm lấy máu		
		Ngày 0	Ngày 30	Ngày 60
Hồng cầu ($\times 10^6$ TB/mm ³)	ĐC	9,40 ± 0,24 ^{aA}	9,52 ± 0,17 ^{aA}	9,44 ± 0,20 ^{aA}
	As	9,54 ± 0,43 ^{aA}	8,06 ± 0,42 ^{bB}	8,38 ± 0,64 ^{bB}
	T250	9,42 ± 0,33 ^{aA}	8,11 ± 0,34 ^{bB}	9,78 ± 0,35 ^{aA}
	T500	9,44 ± 0,29 ^{aA}	8,05 ± 0,53 ^{bB}	9,51 ± 0,49 ^{aA}
Bạch cầu ($\times 10^3$ TB/mm ³)	ĐC	7,15 ± 0,15 ^{aA}	7,16 ± 0,23 ^{aA}	7,12 ± 0,20 ^{aA}
	As	6,99 ± 0,18 ^{aA}	8,13 ± 0,46 ^{bB}	6,04 ± 0,48 ^{aC}
	T250	6,84 ± 0,06 ^{aA}	7,21 ± 0,23 ^{aB}	5,63 ± 0,27 ^{bC}
	T500	6,87 ± 0,10 ^{aA}	5,79 ± 0,36 ^{bB}	5,99 ± 0,37 ^{bC}
Tiểu cầu ($\times 10^3$ TB/mm ³)	ĐC	408,26 ± 12,13 ^{aA}	406,17 ± 11,40 ^{aA}	403,58 ± 11,31 ^{aA}
	As	404,56 ± 14,29 ^{aA}	366,39 ± 22,09 ^{bB}	265,56 ± 19,01 ^{bC}
	T250	407,89 ± 9,06 ^{aA}	419,72 ± 14,11 ^{aA}	333,53 ± 8,80 ^{bC}
	T500	409,56 ± 14,72 ^{aA}	452,22 ± 10,02 ^{bC}	357,75 ± 18,48 ^{cC}

a, b, c: thể hiện sự khác biệt theo cột trong cùng một loại tế bào máu với độ tin cậy 95%

A, B, C: thể hiện sự khác biệt theo hàng ở độ tin cậy 95%

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy: số lượng tế bào hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu chuột ở lần lấy máu đầu tiên (trước khi đưa vào bố trí thí nghiệm) ở lô đối chứng và các nghiệm thức dao động trong khoảng $9,40-9,54 \times 10^6$; $6,84-7,16 \times 10^3$; $402,25-409,56 \times 10^3$ tế bào/mm³ máu, tương ứng ($p > 0,05$). Như vậy, số chuột đưa vào thí nghiệm có chỉ số hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu ban đầu tương đương nhau và nằm trong khoảng giới hạn tham chiếu ($7-11 \times 10^6$ tế bào/mm³, $2-10 \times 10^3$ tế bào/mm³, $3-10 \times 10^5$ tế bào/mm³ tương ứng) (James et al., 2007; McGarry, Protheroe, & Lee, 2010; Treuting, Dintzis, & Montine, 2018). Kết quả này khẳng định các chuột đưa vào thí nghiệm có chỉ số tế bào máu tương đồng nhau và giúp cho các kết quả về sau của thí nghiệm có độ tin cậy cao.

• Số lượng hồng cầu

Số lượng hồng cầu chuột tại các nghiệm thức và các mốc thời gian thí nghiệm có sự khác biệt rõ rệt so với lô đối chứng. Ở nghiệm thức chỉ uống As, số lượng hồng cầu giảm cách biệt tại thời điểm ngày thí nghiệm thứ 30 ($p < 0,05$) và số lượng này tương đối ổn định đến thời điểm 60 ngày thí nghiệm ($p > 0,05$). Trong khi đó, ở 2 nghiệm thức có uống dịch ép tỏi, số lượng hồng cầu cũng giảm cách biệt so với lô đối chứng ($p < 0,05$), nhưng số lượng hồng cầu được khôi phục tương đương với lô đối chứng tại thời điểm kết thúc thí nghiệm ($p > 0,05$) và có xu hướng tăng nhẹ. Tuy nhiên, số lượng hồng cầu chuột giữa 2 nồng độ dịch ép tỏi tương đương nhau ($p > 0,05$). Từ kết quả này, có thể nhận định rằng dịch ép tỏi đã thể hiện được khả năng kháng độc tính As sau thời điểm 30 ngày thí nghiệm đến kết thúc thí nghiệm. Kết quả này, tương đồng với kết quả của nhóm Amer và cộng sự (2019). Nhóm này tiến hành cho chuột uống As từ (Na_3AsO_4) với liều 40 mg/kg thể trọng/ngày, As với liều trên kết hợp với dịch ép tỏi và lô đối chứng (chỉ uống nước bình thường, không có As và không có dịch chiết tỏi). Sau 30 ngày thí nghiệm, As đã làm giảm

số lượng hồng cầu so với lô đối chứng ($8,9 \pm 0,16$ so với $10,2 \pm 0,37 \times 10^6$ tế bào/mm³ máu, tương ứng và tôi đã có tác dụng giúp số lượng hồng cầu không chỉ khôi phục trở về tương ứng lô đối chứng mà còn có xu hướng gia tăng (nghiệm thức có bổ sung dịch ép tôi đạt số lượng hồng cầu là $11,1 \pm 0,2 \times 10^6$ tế bào/mm³ máu) (Amer, Al-Zahrani, & AL-Harbi, 2019). Khi xử lí cả hai yếu tố về thời gian và nghiệm thức thí nghiệm bằng hàm Two – way Anova, kết quả cho thấy cả hai yếu tố này đều ảnh hưởng lên số lượng hồng cầu chuột với độ tin cậy rất cao ($p < 0,001$). Ngoài ra, kết quả còn cho thấy có sự tương tác giữa từng nghiệm thức thí nghiệm với yếu tố thời gian gây nhiễm ($p < 0,001$) cũng ảnh hưởng đến sự biến động số lượng hồng cầu chuột. Điều này cho thấy thời gian gây nhiễm càng kéo dài thì sự khác biệt về số lượng hồng cầu giữa các nghiệm thức càng rõ rệt.

Nguyên nhân suy giảm hồng cầu có thể do As đã phá hủy tủy xương, làm cường lách, gây nên hiện tượng tán huyết; hoặc As có ái lực cao với liên kết SH của hemoglobin, từ đó gây ức chế con đường tổng hợp heme, kết quả số lượng hồng cầu giảm đáng kể (Chowdhury et al., 2016; Flora, 2015; Gupta et al., 2006). Trong 30 ngày đầu thí nghiệm, tôi chưa thể hiện được tác dụng bảo vệ cơ thể tránh được độc tính của As nên số lượng hồng cầu ở các nghiệm thức uống dịch ép tôi vẫn giảm. Nhưng tới thời điểm 60 ngày thí nghiệm, tôi đã thể hiện được tác dụng kháng độc tính của As thông qua việc thu nhận các gốc tự do từ As giải phóng. Chính điều này góp phần làm cho số lượng hồng cầu có xu hướng tăng dần về mức ban đầu hoặc tăng hơn (Amer, Al-Zahrani, & AL-Harbi, 2019). Như vậy, cả 2 nồng độ dịch ép tôi sử dụng trong thí nghiệm này đều thể hiện được vai trò bảo vệ tế bào hồng cầu trước độc tính của As tại thời điểm 60 ngày thí nghiệm.

- **Số lượng bạch cầu**

Số lượng bạch cầu ở các nghiệm thức thí nghiệm có sự thay đổi rõ rệt sau mỗi 30 ngày thí nghiệm ($p < 0,05$). Sau 30 ngày thí nghiệm, As làm cho số lượng bạch cầu tăng cách biệt ($p < 0,01$), sau đó giảm xuống thấp hơn so với thời điểm ban đầu thí nghiệm và thấp hơn so với nghiệm thức đối chứng tại thời điểm 60 ngày thí nghiệm ($p < 0,05$). Ở nghiệm thức T250, số lượng bạch cầu có tăng so với thời điểm ban đầu ($p < 0,05$) và tương đương với nghiệm thức đối chứng ($p > 0,05$); nhưng sau 60 ngày thí nghiệm, số lượng bạch cầu giảm cách biệt so với thời điểm 30 ngày và thời điểm ban đầu ($p < 0,05$). Ở nghiệm thức T500, số lượng bạch cầu sau 30 và 60 ngày thí nghiệm tương đương nhau ($p > 0,05$), nhưng giảm cách biệt so với thời điểm ban đầu và so với nghiệm thức đối chứng ($p < 0,05$). Khi xử lí cả hai yếu tố về thời gian và nghiệm thức thí nghiệm bằng hàm Two – way Anova, kết quả cho thấy cả hai yếu tố này đều ảnh hưởng lên số lượng bạch cầu chuột với độ tin cậy rất cao ($p < 0,001$). Ngoài ra, kết quả còn cho thấy có sự tương tác giữa từng nghiệm thức thí nghiệm với yếu tố thời gian gây nhiễm ($p < 0,001$) cũng ảnh hưởng đến sự biến động số lượng bạch cầu chuột. Điều này chứng minh rằng thời gian gây nhiễm càng kéo dài thì sự khác biệt về số lượng bạch cầu giữa các nghiệm thức càng thể hiện rõ.

Kết quả này có thể nhận định, nồng độ uống dịch ép tỏi 250 mg/kg thể trọng cho hiệu quả trong việc bảo vệ tế bào bạch cầu kháng độc tính của As; trong khi đó, nồng độ 500 mg/kg thể trọng chưa thể hiện tính hiệu quả trong thí nghiệm này. Kết quả này có phần tương đồng với kết quả công bố của Yasmin (2011), Amer (2019): các nhóm nghiên cứu này cho rằng, khi bị nhiễm As trong 15-30 ngày, số lượng bạch cầu máu chuột tăng nhẹ có thể do lượng bạch cầu tăng để chống lại những tác động độc hại của As. Khi nhiễm As trong thời gian dài (hơn 30 ngày) có thể gây ra hiện tượng apoptosis của các tế bào plasma, từ đó làm giảm số lượng bạch cầu. Nhưng khi cho uống As kết hợp với dịch ép tỏi, số lượng bạch cầu giảm nhẹ (Rousselot et al., 2004; Yasmin, 2011). Như vậy, với kết quả này cho thấy, nồng độ dịch ép tỏi 250 mg/kg thể trọng có vai trò trong việc bảo vệ cơ thể chống lại độc tính của As trong 30 ngày gây nhiễm. Còn nồng độ dịch ép tỏi 500 mg/kg thể trọng chưa thấy thể hiện được tác dụng kháng độc tính As.

- **Số lượng tiểu cầu**

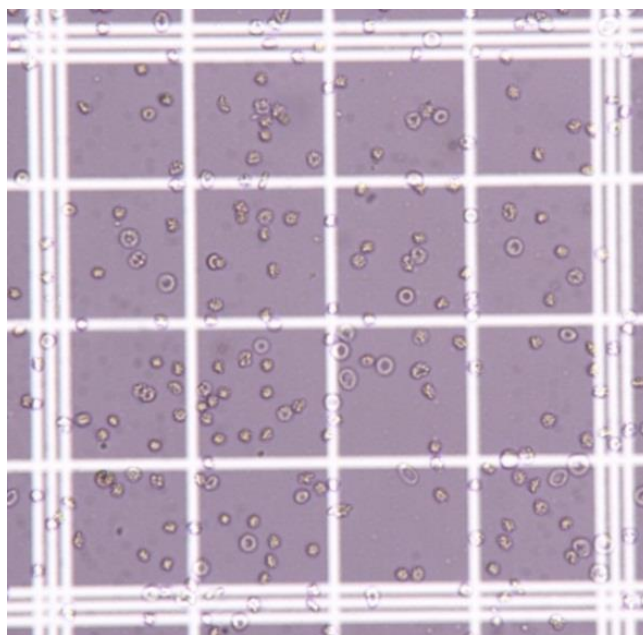
Số lượng tiểu cầu có sự thay đổi rõ rệt sau mỗi 30 ngày thí nghiệm ($p < 0,01$). Số lượng tiểu cầu giảm dần theo sự tăng dần thời gian thí nghiệm ($p < 0,01$), và giảm cách biệt so với nghiệm thức đối chứng. Ở nghiệm thức T250, số lượng tiểu cầu có xu hướng tăng so với ban đầu và so với đối chứng, nhưng chưa có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$) tại thời điểm 30 ngày thí nghiệm, nghĩa là giúp số lượng tiểu cầu ổn định trước độc tính As; sau đó số lượng này giảm cách biệt vào cuối đợt thí nghiệm ($p < 0,05$). Ở nghiệm thức T500, số lượng tiểu cầu tăng cách biệt so với ban đầu và so với đối chứng ($p < 0,05$); sau đó số lượng này giảm cách biệt vào cuối đợt thí nghiệm ($p < 0,05$). Khi xử lý cả hai yếu tố về thời gian và nghiệm thức thí nghiệm bằng hàm Two – way Anova, kết quả cho thấy cả hai yếu tố này đều ảnh hưởng lên số lượng tiểu cầu chuột với độ tin cậy rất cao ($p < 0,001$). Ngoài ra, kết quả còn cho thấy có sự tương tác giữa từng nghiệm thức thí nghiệm với yếu tố thời gian gây nhiễm ($p < 0,001$) cũng ảnh hưởng đến số lượng tiểu cầu. Điều này chứng minh rằng thời gian gây nhiễm càng kéo dài thì sự khác biệt về số lượng tiểu cầu giữa các nghiệm thức càng rõ rệt.

Kết quả này có thể nhận định, cả 2 nồng độ dịch ép tỏi sử dụng trong thí nghiệm này có vai trò trong việc bảo vệ tế bào tiểu cầu khỏi độc tính của As trong 30 ngày nhiễm. Nhưng sau 60 ngày thí nghiệm, số lượng tiểu cầu giảm hẳn ở các nghiệm thức As và dịch ép tỏi. Kết quả cuối cùng của chúng tôi có phần tương đồng với nghiên cứu của một số tác giả đã công bố: tỏi có vai trò làm giảm số lượng tiểu cầu trong máu chuột (Alhamami et al., 2006; Chowdhury et al., 2008). Nguyên nhân làm cho tiểu cầu giảm ở nghiệm thức As 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). Ngoài ra, ADP lại có tác dụng thúc đẩy sự ngưng kết tiểu cầu, tạo cục máu đông, từ đó làm giảm mật độ tế bào tiểu cầu trong máu (Lee et al., 2002). Tỏi làm giảm lượng fibrinogen mạnh sau 4 tuần xử lý nên có thể gây sự tiêu huyết, thiếu máu cục bộ, từ đó làm giảm số lượng tiểu cầu

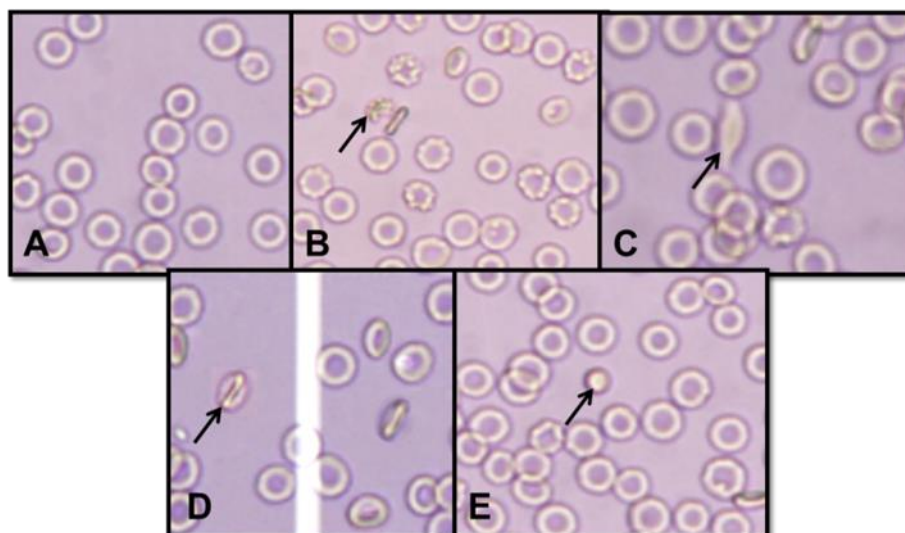
(Alhamami et al., 2006). Ngoài ra, tỏi còn ức chế ADP (adenosine diphosphate) (Apitz-Castro, Ledezma, Escalante, & Jain, 1986; Yasmin, 2011), nghĩa là tỏi giúp khắc phục sự gia tăng lượng ADP do As gây ra nên số lượng tiểu cầu tăng tại thời điểm sau 30 ngày thí nghiệm. Nhưng khi thí nghiệm kéo dài đến 60 ngày, số lượng tiểu cầu đã giảm có thể là do tỏi ức chế sự hình thành thromboxan – chất gây co mạch mạnh, gây kết tụ tiểu cầu (Apitz-Castro et al., 1986; Yasmin, 2011). Như vậy, dịch ép tỏi cũng đã thể hiện được tác dụng bảo vệ số lượng tiểu cầu khỏi độc tính As ở cả 2 nồng độ, đặc biệt là sau 30 ngày thí nghiệm với nồng độ 250 mg/kg.

3.2. Khả năng kháng độc tính As của tỏi lên hình dạng hồng cầu chuột

Dựa vào kết quả mục 3.1 có thể nhận thấy khả năng gây tán huyết ở hồng cầu một cách mạnh mẽ theo thời gian gây As nhiễm kéo dài. Từ đó, tế bào hồng cầu chuột sau khi nhiễm As khó duy trì được hình dạng bình thường ban đầu, chúng có xu hướng co lại rất nhanh, sau đó mất hoàn toàn hình dạng ban đầu (Hình 2). Do đó, việc nhận diện và phân loại các loại hình dạng tế bào hồng cầu trở nên khó khăn hơn. Kết quả hình dạng hồng cầu ghi nhận được thể hiện qua Hình 3 và Bảng 2.



Hình 2. Tế bào hồng cầu bị tán huyết (X40)



Hình 3. Các dạng hình thái của hồng cầu chuột (X40, phóng lớn)

- A. Tế bào hồng cầu bình thường; B. Tế bào hồng cầu hình răng cưa;
 C. Tế bào hồng cầu hình liềm; D. Tế bào hồng cầu hình môi; E. Tế bào hồng cầu hình cầu

Bảng 2. Số lượng hồng cầu chuột ở các loại hình dạng

Mức thời gian	Nghiệm thức	Số lượng hồng cầu ở các loại hình dạng trong tổng 200 TB				
		Bình thường	Môi	Liềm	Răng cưa	Cầu
0 ngày	ĐC	197,60	0,67	0,20	1,47	0,07
	As	198,40	0,40	0,00	1,13	0,07
	T250	197,40	0,20	0,00	1,93	0,47
	T500	199,13	0,00	0,00	0,87	0,00
30 ngày	ĐC	198,07	0,00	0,00	1,80	0,13
	As	194,67	0,00	0,00	5,33	0,00
	T250	195,93	0,40	0,00	3,40	0,27
	T500	194,40	0,00	0,60	4,80	0,20
60 ngày	ĐC	198,07	0,27	0,00	1,60	0,07
	As	188,80	0,47	0,00	8,40	2,33
	T250	192,53	0,40	0,00	6,20	0,87
	T500	188,53	0,40	0,40	6,33	4,33

TB: tế bào

Kết quả cho thấy ở lô đối chứng và lần lấy máu đầu tiên của các nghiệm thức, số lượng hồng cầu có hình dạng bình thường dao động ổn định (197,40-199,33 tế bào trên tổng số 200 tế bào). Như vậy, số chuột đưa vào ban đầu có sự đồng đều về hình thái tế bào hồng cầu. Hình dạng bình thường của tế bào chiếm tỉ lệ rất cao. Tại thời điểm 30 ngày, khi so sánh với lô đối chứng thì các nghiệm thức còn lại có xu hướng gia tăng các loại hình thái bất thường, trong đó hồng cầu hình răng cưa có số lượng tăng nhiều nhất, kể đến là

hình cầu. Giữa các nghiệm thức chưa phân biệt rõ ràng về mức độ gia tăng hình thái bất thường. Ở mốc thời gian này, số lượng tế bào hồng cầu có hình dạng bình thường đạt trung bình trong khoảng 193,3-196,8 tế bào trong tổng số 200 tế bào. Xét ở thời điểm 60 ngày, xu hướng gia tăng các hình thái bất thường thể hiện càng nhiều hơn. Trong đó, sự gia tăng hình thái răng cưa là nhiều nhất. Duy trì được tỉ lệ hình dạng bình thường cao nhất là ở các nghiệm thức T250. Trái lại, nghiệm thức As cũng như T500 cho thấy số lượng các hình thái bất thường cao nhất. Dưới tác động của As, hồng cầu tiếp tục biến đổi và gia tăng các dạng bất thường về hình thái. Như vậy, theo thời gian, mức độ As tác động đến hình thái tế bào hồng cầu càng tăng.

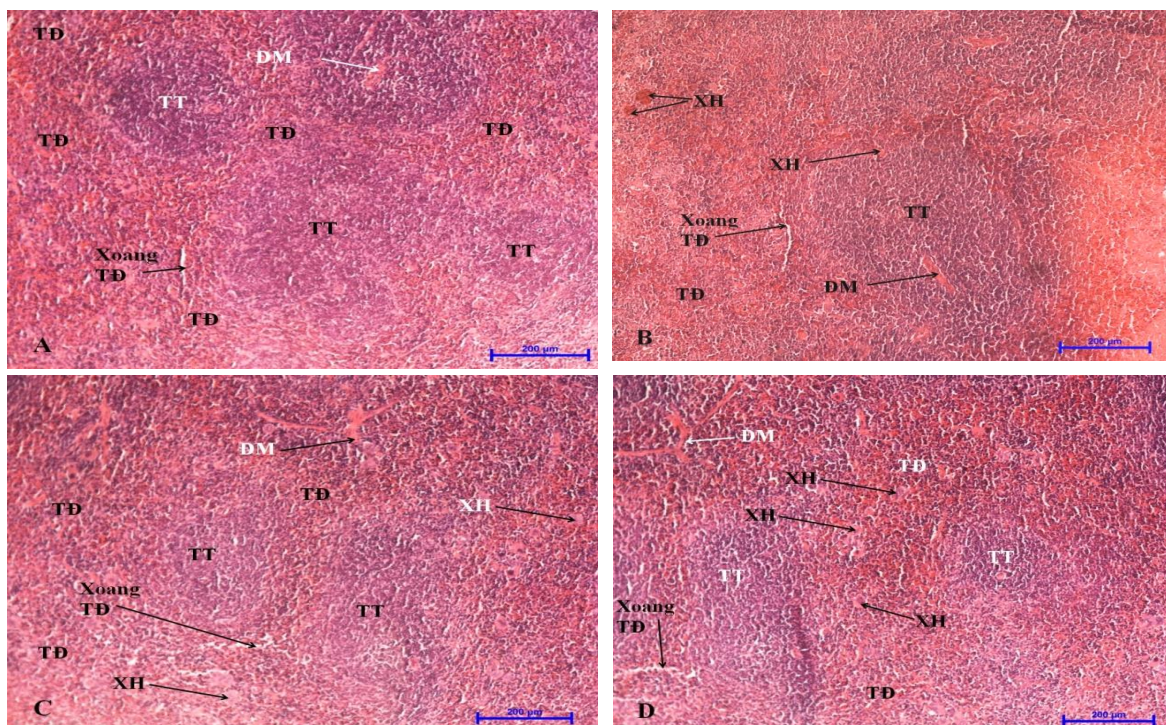
Nguyên nhân dẫn đến gia tăng các hình thái bất thường này là do độc tính As ảnh hưởng đến sự gia tăng tỉ lệ cholesterol/phospholipid, làm hạn chế tính linh hoạt của màng tế bào hồng cầu và làm cho chúng bị biến dạng. Đặc trưng của độc tính As gây ra trên hình thái hồng cầu là sự co rút tế bào. As can thiệp vào tính toàn vẹn của màng tế bào hồng cầu, đến một mức độ nào đó, cuối cùng sẽ dẫn đến màng tế bào sự mất ổn định và giải phóng hemoglobin, gây hiện tượng tán huyết mạnh (Biswas et al., 2008). Mặt khác, có thể As đã có tác động đến pH máu. Ở trạng thái bình thường, máu có pH = 7,4, có sự hiện diện của nhiều protein huyết tương (đặc biệt là albumin), tế bào hồng cầu có hình thái bình thường. Khi pH máu tăng, nồng độ albumin giảm làm cho vành hồng cầu trở nên “gập ghềnh”, tạo hình thái răng cưa, nếu điều kiện này tiếp tục kéo dài hồng cầu sẽ dần biến đổi thành dạng hình cầu (Biswas et al., 2008; Marshall A. Lichtman, 2010).

Về khả năng bảo vệ của các chất chống oxi hóa, từ kết quả đã ghi nhận có thể dự đoán và đánh giá sơ bộ rằng dịch ép tỏi có tiềm năng bảo vệ sự biến đổi bất thường hình thái tế bào hồng cầu. Trong đó, nghiệm thức T250 thể hiện hiệu quả bảo vệ tốt hơn nghiệm thức T500.

3.3. Khả năng kháng độc tính As của tỏi lên cấu trúc mô lách

Kết quả nghiên cứu khả năng kháng độc tính As của dịch ép tỏi lên cấu trúc mô học lách chuột nhất trắng được thể hiện qua Hình 4.

Khi quan sát hình ảnh mô lách được nhuộm H&E, ta sẽ thấy rõ được sự khác biệt giữa các nghiệm thức. Ở nghiệm thức đối chứng (Hình 4A), mô lách chuột có trúc bình thường, nhìn rõ tuỷ đỏ và tuỷ trắng, động mạch trung tâm cũng như xoang tuỷ đỏ. Ở nghiệm thức As (Hình 4B) có dấu hiệu cường lách, xung huyết và xuất huyết nhiều. Ở nghiệm thức có uống dịch ép tỏi 250 µg/kg (Hình 4C) đã có dấu hiệu cải thiện những tổn thương do As gây ra: không còn dấu hiệu cường lách, chỉ có hiện tượng xuất huyết nhẹ, nhưng rất ít. Riêng ở nghiệm thức uống dịch ép tỏi 500 µg/kg (Hình 4D) không còn các tổn thương do As gây ra, nhưng vẫn còn hiện tượng xuất huyết nhẹ rải rác.



Hình 4. Cấu trúc mô học của lách chuột ở các nghiệm thức (X10)

A: nghiệm thức ĐC; B: nghiệm thức As; C: nghiệm thức T250; D: nghiệm thức T500

TĐ: tủy đỏ; TT: tủy trắng; ĐM: động mạch; XH: xuất huyết; scale bar: 200 μm

Kết quả của Ferzand và cộng sự (2008) cho thấy, khi lách chuột bị nhiễm As sẽ bị xuất huyết, hoại tử, thoái hóa mỡ; tuy nhiên, nhóm này không khảo sát kháng độc tính As của chất nào cả (Ferzand, Gadahi, Saleha, & Ali, 2008). Các công trình khác chỉ đánh giá khả năng kháng độc tính As của tỏi lên cấu trúc mô học của gan và thận, không thấy báo cáo nghiên cứu trên cấu trúc mô học của lách (Amer et al., 2016; Amer et al., 2019). Vì vậy, kết quả của chúng tôi ghi nhận dịch ép tỏi Lý Sơn có thể hiện vai trò bảo vệ tế bào lách chuột khỏi độc tính của As ở cả hai nồng độ khảo sát, trong đó nồng độ 250 mg/kg hiệu quả hơn so với 500 mg/kg. Tuy nhiên, kết quả của chúng tôi mới chỉ đánh giá qua hình ảnh nhuộm H&E; vì vậy, cần thực hiện thêm các nghiên cứu ở các mức khác nhau để có kết luận chặt chẽ hơn về vai trò của dịch ép tỏi Lý Sơn trong việc bảo vệ tế bào lách chuột khỏi độc tính của As.

Tổng hợp kết quả nhuộm mẫu mô lách chuột của 6 chuột ngẫu nhiên/nghiệm thức, kết quả tổng thể được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Những dấu hiệu đánh giá mức độ tổn thương ở mô lách chuột

Nghiệm thức	Dấu hiệu biến đổi	Tần suất xuất hiện trên một lát cắt
ĐC	Không thấy dấu hiệu bất thường	Không thấy xuất hiện
As	Cường lách, xung huyết và xuất huyết	Các lát cắt đều xuất hiện nhiều
T250	Xuất huyết	6-8 vị trí
T500	Xuất huyết	3-5 vị trí

4. Kết luận

Dịch ép tỏi Lý Sơn với nồng độ 250 mg/kg/ngày đã thể hiện được tiềm năng bảo vệ số lượng tế bào máu, hình dạng hồng cầu và lách chuột trước độc tính As. Hiệu quả bảo vệ được thể hiện thông qua số lượng tế bào máu: cả 2 liều dịch ép tỏi đều giúp khôi phục số lượng hồng cầu trở về mức bình thường tại ngày thí nghiệm thứ 60 sau khi bị giảm bởi độc tính As tại ngày thí nghiệm thứ 30; nồng độ dịch ép tỏi 250 mg/kg/ngày giúp số lượng bạch và tiểu cầu giữ được mức ổn định khi bị nhiễm độc tính As trong 30 ngày thí nghiệm. Nồng độ dịch ép tỏi 250 mg/kg có tiềm năng trong bảo vệ hình dạng bình thường của hồng cầu và hạn chế tổn thương lách chuột trước độc tính của As.

Cần tiếp tục thực hiện các nghiên cứu về khả năng kháng độc tính As của tỏi Lý Sơn lên các chỉ số huyết học khác cũng như các nội quan chuột ở các mức khác (sinh học phân tử, nhuộm trichrome) để có những kết luận chặt chẽ hơn.

- ❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.
- ❖ **Lời cảm ơn:** Cảm ơn Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh; Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Quận 2, Thành phố Hồ Chí Minh đã tạo điều kiện cho nhóm chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này. Cảm ơn sinh viên Wee Lê Nguyệt Linh và sinh viên Lương Thị Thùy Dương, Khóa 40, Khoa Sinh Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh cùng hỗ trợ trong quá trình thực hiện đề tài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Alhamami, O. M., Al-Mayah, J. Y., Al-Mousawi, N. R., & Al-Aboodi, A. G. (2006). Effects of garlic on haemostatic parameters and. *Eastern Journal of Medicine*, 11(1-2), 13-18.
- Amer, S. A., AL-Harbi, M. S., Saad, D. Y., Mahdi, E. A., Saleh, D. I., Alkafafy, M. E., & AL-Zahrani, Y. A. (2016). Protective role of some antioxidants on arsenic toxicity in male mice: physiological and histopathological perspectives. *Biology and Medicine*, 8(1), 1-8. doi: 10.4172/0974-8369.1000266
- Amer, S. A., Al-Zahrani, Y. A., & AL-Harbi, M. S. (2019). The Ameliorative Effect of Green Tea, Garlic and Vitamin C on Arsenic Toxicity in Male Mice: Biochemical and Histological Forensic Perspectives. *Arab Journal of Forensic Sciences & Forensic Medicine*, 1(9), 1146-1157. doi: 10.26735/16586794.2019.001
- Apitz-Castro, R., Ledezma, E., Escalante, J., & Jain, M. K. (1986). The molecular basis of the antiplatelet action of ajoene: direct interaction with the fibrinogen receptor. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Biochem Biophys Res Commun*, 141(1), 145-150. doi: 10.1016/s0006-291x(86)80346-1
- Biswas, D., Banerjee, M., Sen, G., Das, J. K., Banerjee, A., Sau, T. J., . . . Biswas, T. (2008). Mechanism of erythrocyte death in human population exposed to arsenic through drinking water. [Clinical Trial Multicenter Study Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 230(1), 57-66. doi: 10.1016/j.taap.2008.02.003

- Bui, H. T., Tran, T. T. H., & Nguyen, V. H. (2013). Danh gia nguy co suc khoe do an uong nuoc gieng khoan nhiem asen o Ha Nam [Assessment of arsenic contamination in tube-well drinking water in hanam province]. *Vietnam Journal of Preventive Medicine*, 13, 4(140), 36-47.
- Chowdhury, D., 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 rats. *Eur. J. Pharmacol. Med. Res*, 3(5), 580-587.
- Chowdhury, R., Dutta, A., Chaudhuri, S. R., Sharma, N., Giri, A. K., & Chaudhuri, K. (2008). *In vitro* and *in vivo* reduction of sodium arsenite induced toxicity by aqueous garlic extract. *Food Chem Toxicol*, 46(2), 740-751. doi: 10.1016/j.fct.2007.09.108
- Department of water resources management (2008). Bao dong ve nguon nuoc nhiem doc thach tin, [Warning about arsenic poisoning water sources, 2008] Retrieved May 02, 2018, from <http://dwrn.gov.vn/index.php?language=vi&nv=news&op=Tai-nguyen-nuoc/Bao-dong-ve-nguon-nuoc-nhiem-doc-thach-tin-1>. *Ministry of Natural Resources and Environment*.
- Do, N. M. K., Vu, T. C. H., & Nguyen, T. T. H (2017). Khao sat anh huong cua asen len so luong te bao mau chuot nhat trang (*Mus musculus* var. *albino*) [Effects of UVA light exposure on the body weight, the blood cells and internal organs of albino mouse (*Mus musculus* var. *albino*)]. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 14(12), 91-100.
- Ferzand, R., Gadahi, J. A., Saleha, S., & Ali, Q. (2008). Histological and haematological disturbance caused by arsenic toxicity in mice model. *Pak J Biol Sci*, 11(11), 1405-1413. doi: 10.3923/pjbs.2008.1405.1413
- Flora, S. J., Mehta, A., & Gupta, R. (2009). Prevention of arsenic-induced hepatic apoptosis by concomitant administration of garlic extracts in mice. *Chem Biol Interact*, 177(3), 227-233. doi: 10.1016/j.cbi.2008.08.017
- Flora, S. J. S. (2015). *Handbook of Arsenic Toxicology* (Chapter 20: Arsenic and the Cardiovascular System, pp. 461-467). Academic Press.
- Gupta, R., Dubey, D. K., Kannan, G. M., & Flora, S. J. (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. doi: 10.1016/j.cellbi.2006.09.007
- James, G. F., Stephen W. Barthold, Muriel T. Davisson, Christian E. Newcomer, Fred W. Quimby, & Abigail L. Smith. (2007). *The Mouse in Biomedical Research* (Vol. III). Elsevier Inc.
- Kenneth Kaushansky, M. A. L., Thomas J. Kipps, Uri Seligsohn, & Josef T. Prchal. (2010). *Williams Hematology* (8th ed., Part VI: The Erythrocyte, Chapter 29 Morphology of the Erythronon, pp. 622-627). McGraw-Hill Education.
- Lee, M. Y., Bae, O. N., Chung, S. M., Kang, K. T., Lee, J. Y., & Chung, J. H. (2002). Enhancement of platelet aggregation and thrombus formation by arsenic in drinking water: A contributing factor to cardiovascular disease. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 179(2), 83-88. doi: 10.1006/taap.2001.9356
- McGarry, M. P., Protheroe, C. A., & Lee, J. J. (2010). *Mouse Hematology: A Laboratory Manual* (1 ed., p.41). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Ministry of Natural Resources and Environment (2015). Quy chuan ki thuat Quoc gia ve chat luong nuoc mat: QCVN 08-MT: 2015/BTNMT [National technical regulation on surface water quality: QCVN 08-MT: 2015/BTNMT] Ha Noi. *Labour and Social Publisher Company Limited*.

- Nguyen, T. T. H., & Vo, V. T. (2019). *Laboratory practice human and animal physiology [Thuc hanh sinh li hoc nguoi va dong vat]*. HCMC University of Education Publisher.
- Qureshi, F., Tahir, M., & Sami, W. (2009). Protective role of vitamin C and E against sodium arsenate induced changes in developing kidney of albino mice. *J Ayub Med Coll Abbottabad*, 21(4), 63-69.
- Rousselot, P., Larghero, J., Labaume, S., Poupon, J., Chopin, M., Dosquet, C., . . . Femand, J. P. (2004). Arsenic trioxide is effective in the treatment of multiple myeloma in SCID mice. *Eur J Haematol*, 72(3), 166-171. doi: 10.1046/j.0902-4441.2003.00194.x
- Singh, S., & Rana, S. (2007). Amelioration of arsenic toxicity by L-Ascorbic acid in laboratory rat. *Journal of environmental biology*, 28(2), 377.
- Treuting, P. M., Dintzis, S. M., & Montine, K. S. (2018). *Hepatobiliary system* (2nd ed., Chapter 13: Comparative anatomy and histology a mouse, rat and human atlas, pp. 230-240). Academic Press.
- Yasmin, S, Das, J., Stuti, M., Rani, M, & D' Souza, D. (2011). Sub chronic toxicity of arsenic trioxide on Swiss albino mice. *International journal of Environmental Sciences*, 1(7), 1640-1647.

**EXAMINATION OF PROTECTIVE ROLE OF LY SON GARLIC JUICE
ON ARSENIC TOXICITY ON THE BLOOD CELLS COUNT, ERYTHROCYTE SHAPE
AND HISTOPATHOLOGICAL PERSPECTIVES OF THE SPLEEN
OF MALE ALBINO MOUSE**

Nguyen Thi Thuong Huyen^{1*}, Nguyen Thi Kieu Linh^{1,2}, Truong Van Tri¹

¹Ho Chi Minh City University of Education, Vietnam

²University of Science, Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vietnam

*Corresponding author: Nguyen Thi Thuong Huyen – Email: huyennth@hcmue.edu.vn

Received: August 27, 2020; Revised: September 20, 2020; Accepted: December 28, 2020

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the protective role of Ly Son garlic juice on arsenic toxicity (450 µg/L) in male mice by the blood cell count, erythrocyte shape and spleen damages. Forty-eight male mice (six-week-old) were randomly classified into four groups: Group I (control), Group II (As); Group III (T250): As and 250 mg/kg/day garlic juice and Group IV (T500): As and 500 mg/kg/day garlic juice. The mice were forced to drink arsenic and garlic juice for 60 days. The blood cell counts, erythrocyte shapes were determined at 0, 30, 60 days. After 60 days, spleens were carefully collected and stained with hematoxylin and eosin to assess their histological damages. The results show the potential capacity of garlic juice in keeping the blood cell counts and erythrocyte shape in balance during the arsenic exposure. At the 30th day, the red blood cell counts decreased (T250 and T500) while the white blood cell and platelet counts were kept in balance in the T250 group. At the 60th day, the red blood cell counts were restored to the balanced state in the T250 and T500 group, while the other counts decreased. The histopathological analysis also shows that the structures of the spleen were badly injured by arsenic; the capacity of garlic juice in the protection of spleen induced from arsenic toxicity in male mice.

Keywords: arsenic toxicity; histopathological perspectives; Mice blood cells; Ly Son garlic