

Bài báo nghiên cứu

KHẢO SÁT TÁC ĐỘNG GÂY ĐỘC CẤP TÍNH CỦA CADMIUM LÊN NÃO CHUỘT NHẮT TRẮNG

Lâm Thị Khánh Phương, Trương Huy Bửu, Nguyễn Thị Thương Huyền*

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

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

Ngày nhận bài: 08-4-2024; ngày nhận bài sửa: 18-5-2024; ngày duyệt đăng: 21-5-2024

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm xác định LD_{50} của Cd ở chuột và đánh giá ảnh hưởng của các liều Cd gây độc cấp tính lên não của chuột nhắt trắng. Chuột đực được thăm dò với một liều Cd từ $CdCl_2 \cdot 2,5 H_2O$ duy nhất là 330 mg/kg b.w và thăm dò cho đến khi tìm được liều gây chết 50% số chuột thử nghiệm trong thời gian 24-48 giờ. Kết quả đã xác định được LD_{50} của Cd là 70 mg/kg b.w. Các liều gây nhiễm Cd từ $CdCl_2 \cdot 2H_2O$ ở mức 330, 165 và 70 mg/kg b.w đã có tác động nghiêm trọng đến hành vi và cấu trúc mô học của não ở chuột: mạch máu phình to, thoái hoá và hoại tử tế bào thần kinh. Mức độ tổn thương giảm dần tương ứng khi liều lượng Cd giảm từ 330 mg/kg b.w xuống còn 70 mg/kg b.w. Cần nghiên cứu về ảnh hưởng của Cd lên khối lượng cơ thể, chỉ số huyết học, các nội quan chuột để hiểu rõ hơn về cách Cd ảnh hưởng đến sinh lý chuột nhắt trắng.

Từ khóa: chuột nhắt trắng; cadmium; mô học; LD_{50} ; độc hại thần kinh

1. Giới thiệu

Sự tiến bộ nhanh chóng của các quá trình công nghiệp trong suốt thế kỉ qua đã thúc đẩy sự gia tăng việc khai thác không kiểm soát các nguồn tài nguyên thiên nhiên của Trái Đất, góp phần làm tăng tình trạng ô nhiễm môi trường toàn cầu. Trong vô số thách thức do cuộc cách mạng công nghiệp đặt ra, sự gia tăng ô nhiễm kim loại nặng, đặc biệt là Cadmium (Cd), nổi lên như một mối lo ngại cấp bách trong kỉ nguyên Công nghiệp 4.0 đương đại.

Cd, một nguyên tố xuất hiện tự nhiên và được khai thác cùng với kẽm và chì trong quặng sulfide đã trở nên phổ biến trong môi trường. Mức độ Cd tăng cao trong không khí, nước, đặc biệt là các khu vực lân cận các điểm xả thải công nghiệp, trong đó có ngành công nghiệp khai thác kim loại màu và luyện kim là nguyên nhân chính. Mặc dù, có nhiều ứng dụng hữu ích như mạ chống ăn mòn sản xuất pin, làm chất màu hay sản xuất các tấm pin mặt trời, Cd vẫn gây ra những rủi ro đáng kể đến môi trường và sức khoẻ. Các nghiên cứu trước đó chỉ ra rằng tiếp xúc với Cd có thể dẫn đến một loạt vấn đề sức khoẻ ở người và

Cite this article as: Lam Thi Khanh Phuong, Trương Huy Bửu, & Nguyễn Thị Thương Huyền (2024). A survey of acute toxic effects of cadmium on the brain of albino mice. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 21(5), 800-813.

động vật, từ các bệnh về đường hô hấp đến rối loạn chuyển hoá canxi, các bệnh về xương và thậm chí là ung thư phổi (Nordberg et al., 2015). Các sự cố đáng chú ý về ngộ độc Cd, chẳng hạn như căn bệnh Itai-Itai tại Nhật Bản (Kaji, 2012) nhấn mạnh những tác động đến sức khoẻ toàn cầu và có nguy cơ tử vong hàng năm (Rafati Rahimzadeh et al., 2017), giảm chức năng sinh sản, ảnh hưởng đến nội quan (gan, thận, lách) (Andjelkovic et al., 2019). Tác động của Cd lên hệ thần kinh trung ương, đặc biệt là não đã gây nhiều tổn thương nghiêm trọng. Một nghiên cứu cho thấy khi chuột rat bị nhiễm Cd (50 mg/L) trong 90 ngày gây ra các khoảng trống nhỏ ở vỏ não, nhân sẫm màu, ranh giới giữa tế bào chất và nhân không rõ ràng (Wen et al., 2021). Các tổn thương về não chuột ở từng vùng của não khi bị nhiễm Cd với các liều khác nhau và khung thời gian khác nhau cũng được ghi nhận (Alrafiah, 2021; Ayuob et al., 2020; Enogieru & Inneh, 2022; Genchi et al., 2020; Pardo et al., 2020; Varmazyari et al., 2020). Như vậy, các nghiên cứu về độc tính của Cd lên não chuột đang thực sự được nhiều nhà khoa học quan tâm nghiên cứu và vẫn còn nhiều vấn đề chưa sáng tỏ.

Để hiểu rõ hơn về tác động của Cd gây độc lên hệ thần kinh, nghiên cứu tập trung vào xác định LD₅₀ của Cd ở chuột và đánh giá ảnh hưởng của các liều Cd gây độc cấp tính lên não của chuột nhắt trắng. Kết quả của nghiên cứu này hỗ trợ làm phong phú thêm sự hiểu biết của con người về các mối nguy hiểm, những rủi ro tiềm ẩn liên quan đến việc tiếp xúc với Cd đối với sức khoẻ thần kinh. Theo đó, nó sẽ góp phần cung cấp thông tin về các chính sách quản lý và can thiệp y tế công cộng nhằm giảm thiểu phơi nhiễm với kim loại nặng nguy hiểm này.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Hoá chất

CdCl₂.2,5H₂O (Sigma, Hoa Kỳ), Hematoxylin và Eosin (Sigma, Hoa Kỳ), Formadehyde (Xilong, Trung Quốc), KH₂PO₄ và Na₂HPO₄ (Scharlau, Tây Ban Nha).

2.2. Động vật thí nghiệm

Chuột nhắt trắng đực (*Mus musculus* var. *albino*) 4 tuần tuổi được mua từ Viện Pasteur Thành phố Hồ Chí Minh. Chuột được nuôi ổn định tại phòng nuôi động vật ở Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh trong 2 tuần đầu với chu kỳ 10 giờ sáng và 14 giờ tối để chuột đạt được khối lượng cơ thể đủ điều kiện tiến hành thí nghiệm là 19-21 g.

2.3. Bố trí thí nghiệm

Dựa trên thông tin của hãng sản xuất cho thấy liều Cd gây độc cấp tính đối với chuột qua đường miệng là 330 mg/kg thể trọng (b.w) (Sigma-Aldrich, 2021). Vì vậy, thực hiện thăm dò trên 6 chuột (19-21 g) với một liều Cd từ CdCl₂.2,5 H₂O duy nhất là 330 mg/kg b.w. Nếu 100% chuột chết trong 24-48 giờ sẽ tiến hành hạ liều còn 165 mg/kg b.w và tiếp tục thăm dò (6 chuột), nếu cả 6 chuột đều chết, tiếp tục thăm dò trên 6 chuột khác với liều giảm phân nửa (80 mg/kg b.w), nếu chuột sống hết sẽ tiến hành tăng liều. Thực hiện thăm dò như vậy cho đến khi tìm được liều gây chết 50% số chuột thử nghiệm tại liều đó. Đây cũng chính là LD₅₀ của Cd từ CdCl₂.2,5 H₂O. Các chuột chết đều được đánh giá dựa vào cấu trúc đại

thể và mô học của não. Các chuột còn sống đến 48 giờ cũng sẽ được tiến hành giải phẫu và đánh giá não bộ như các chuột đã chết do Cd.

Trong nghiên cứu này, 4 liều Cd là 330, 165, 80 và 70 mg/kg b.w được khảo sát.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp chăm sóc chuột: các chuột đạt tiêu chuẩn thí nghiệm (19-21 g) được nuôi trong lồng kính kích thước 30x19x19 cm³, mặt chuồng lót trấu để hút ẩm, trên nắp chuồng đặt bằng lưới inox (6 chuột/chuồng), trong điều kiện 26-28°C, độ ẩm từ 75-80% được ghi nhận bởi máy đo nhiệt kế điện tử đặt trong phòng nuôi động vật thí nghiệm. Chuột được cho ăn thức ăn dạng viên tổng hợp dành cho chuột 2 lần/ngày vào 07 giờ sáng và 17 giờ hàng ngày, nước uống là nước máy tại phòng thí nghiệm. Chuồng chuột được vệ sinh sau mỗi 2-3 ngày. Thí nghiệm được thông qua Hội đồng đạo đức động vật, mã số 1211/KHTN-ACUCUS ngày 11/12/2023.

Phương pháp gây nhiễm cadmium cho chuột: chuột được cho uống dung dịch Cd (pha từ CdCl₂.2,5 H₂O vào nước cất với các liều khảo sát tương ứng) bằng cách bơm xuống thực quản bởi đầu kim chuyên dụng (đầu tròn) gắn vào kim tiêm 1 mL, theo dõi và ghi nhận các biểu hiện bên ngoài của chuột sau 30 phút vào sổ nhật kí.

Phương pháp thu nhận não: đối với chuột chết do độc cấp tính hoặc chưa chết sau 48 giờ sẽ được cho chết nhân đạo bằng cách kéo giãn đốt sống cổ. Thực hiện giải phẫu não chuột để mở hộp sọ, quan sát các đặc điểm ở vùng não: sự xuất huyết, máu bầm...; dùng mũi kéo nhẹ nhàng nâng phần não chuột ra ngoài để chụp hình đại thể, sau đó sẽ cố định mẫu để nhuộm H&E phục vụ cho đánh giá cấu trúc mô học.

Phương pháp chụp ảnh não chuột ở mức đại thể: đặt mẫu não chuột lên bàn phẳng có đệm lót cao su và đặt dọc thước kẻ kẻ bên mẫu. Đặt vạch 0 cm của thước (đơn vị centimeter) ở vị trí tương ứng với đầu trên của mẫu và chỉnh cho thước đặt song song với mẫu. Sử dụng một giá đỡ với chiều cao khoảng 20-35 cm, điều chỉnh giá đỡ sao cho cách mẫu vật 20 cm và tiến hành chụp hình các mẫu ở khoảng cách đều nhau, đảm bảo mẫu nằm ở chính giữa khung hình và được lấy nét tốt.

Phương pháp nhuộm và chụp ảnh não chuột ở mức vi thể: mẫu não chuột sau khi chụp hình đại thể xong sẽ được cố định trong dung dịch formalin 10% bổ sung KH₂PO₄ (4g/1000 mL) và Na₂HPO₄ (6,5 g/1000 mL). Mỗi nghiệm thức chọn ngẫu nhiên 3 mẫu và chuyển đến Khoa Giải phẫu bệnh – Phòng khám Đa khoa Đại Phước, Quận 10 để nhuộm H&E. Đánh giá mức độ tổn thương của các mẫu mô dưới kính hiển vi đảo ngược (TiU) có gắn camera quan sát. Các vùng khứu giác, vỏ não, hồi hải mã và tiểu não được quan sát đánh giá bởi đây là các vùng của não đóng vai trò quan trọng trong nhiều khía cạnh của chức năng não bộ, bao gồm giác quan (thụy khứu giác), xử lí thông tin (vỏ não), nhận thức (hồi hải mã) và điều phối các hoạt động cơ bản của cơ thể (tiểu não) (Schröderet al., 2020).

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả độc cấp tính

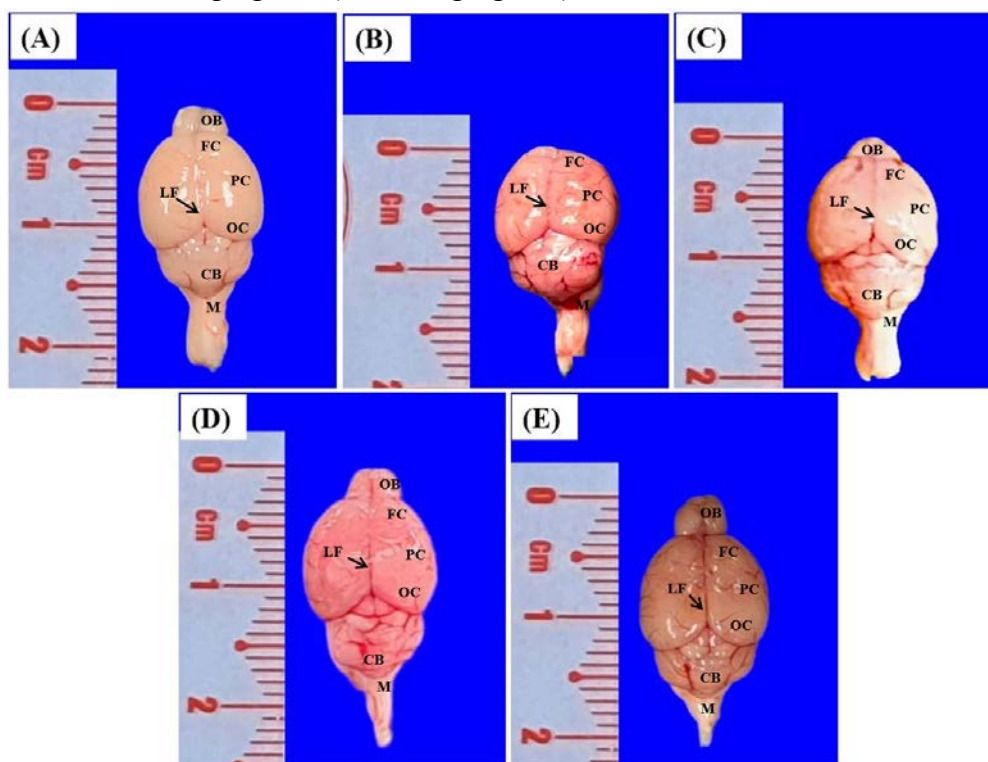
Dữ liệu ở Bảng 1 cho thấy rằng, khi tiếp xúc với liều từ 330 mg/kg b.w (liều khuyến cáo của nhà sản xuất về Cd từ CdCl₂.2,5 H₂O), tất cả 6 chuột đều có những biểu hiện hành vi bất thường: mắt đen hãn, di chuyển không vững, uống nước rất nhiều trong một lần, bỏ ăn, nằm lờ đờ, có hiện tượng co giật và đã tử vong chỉ trong khoảng 2-3 giờ. Khi giảm liều xuống còn 165 mg/kg b.w (giảm phân nửa liều trước), biểu hiện tập tính và tình trạng tử vong vẫn diễn ra tương tự và nhanh chóng sau khi uống Cd. Giảm liều tiếp tục xuống còn 80 mg/kg b.w cho 6 chuột, tất cả 6 chuột đều có các biểu hiện bất thường như hai liều trên, nhưng lần này chỉ có 4/6 chuột tử vong sau 3-4 giờ, 2 chuột còn lại vẫn sống đến 48 giờ, nhưng trong tình trạng mệt mỏi và không vận động (leo trèo hay gặm nhấm, rĩa lông...). Tuy nhiên, số lượng chuột tử vong và các triệu chứng không đạt được ngưỡng LD₅₀ (liều gây tử vong cho 50% số thử nghiệm). Vì vậy, liều 70 mg/kg b.w được chọn để tiếp tục thăm dò thay vì giảm nửa liều. Sau 4 giờ cho uống, các triệu chứng tương tự như sử dụng liều 80mg/kg b.w được quan sát thấy, nhưng chỉ có 50% số chuột thí nghiệm tử vong (3/6 chuột) và sau 24 giờ, số chuột sống bắt đầu có dấu hiệu hồi phục như mắt hồng trở lại và bắt đầu vận động, ăn ít... Theo đó, thử nghiệm tiếp tục với liều 70 mg/kg b.w cho 8 chuột tiếp theo cũng cho kết quả tương tự như trước đó, chỉ có 4/8 chuột tử vong sau 4 giờ, đạt tỉ lệ 50% chuột tử vong. Các chuột còn sống vẫn có những biểu hiện mệt mỏi trong khoảng 24 giờ, nhưng sau đó có dấu hiệu hồi phục tương tự như đợt thử nghiệm trước đó với 6 chuột. Như vậy, liều gây tử vong 50% (LD₅₀) số chuột thử nghiệm với Cd trong nghiên cứu này được xác định là 70 mg/kg b.w.

Bảng 1. Kết quả khảo sát liều Cd gây độc cấp tính lên chuột nhắt trắng

Lô chuột	Số chuột	Liều dùng (mg/kg b.w)	Số chuột sống/chết sau 48 giờ	Biểu hiện bất thường
1	6	330	0/6	Mắt đen, đi đứng loạng choạng, uống nhiều nước trong một lần uống, không ăn, co giật và chết sau 2-3 giờ kể từ khi uống Cd.
2	6	165	0/6	Mắt đen, đi đứng loạng choạng, uống nhiều nước trong một lần uống, co giật và chết sau 2-3 giờ kể từ khi uống Cd.
3	6	80	2/6	Mắt đen, đi đứng loạng choạng, không ăn, co giật và chết sau 3-4 giờ, những con nào vượt qua thì sau 48 giờ vẫn sống, nhưng yếu.
4	14	70	7/7	Mắt đen, đi đứng loạng choạng, không ăn, nằm yên một chỗ và chết sau 4 giờ, những con nào vượt qua thì sau 48 giờ vẫn sống, nhưng yếu.

3.2. Ảnh hưởng của Cadmium lên mức độ tổn thương của não chuột

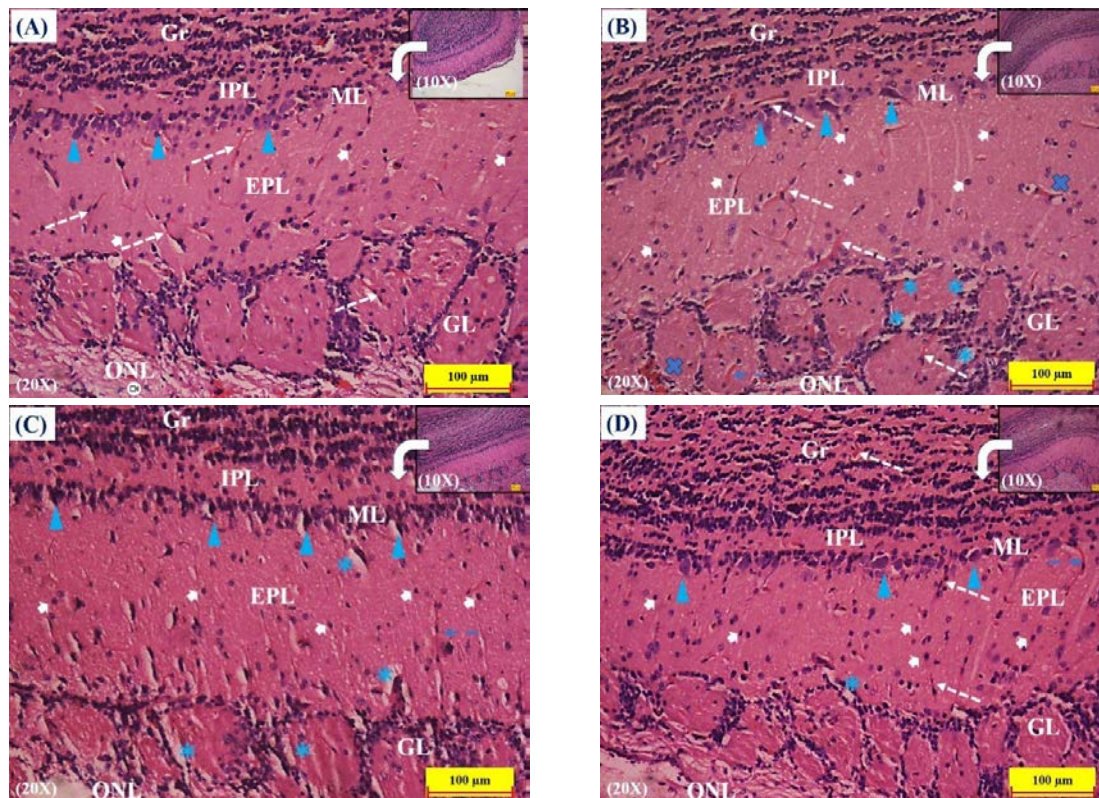
Về cấu trúc đại thể, hầu hết chuột uống Cd đều có dấu hiệu xuất huyết não, các mạch máu tụ lại (Hình 1B-E), trong khi não chuột ở nghiệm thức đối chứng (không uống Cd) không có hiện tượng này (Hình 1A) Đặc biệt ở nghiệm thức uống liều 330 mg/kg b.w, thủy khứu giác mềm nhanh và rời ra nên không thu được thủy khứu giác cùng với toàn bộ não (Hình 1B), ở nghiệm thức uống liều 165 mg/kg b.w, việc thu nhận thủy khứu giác cũng rất khó khăn do sự mềm nhũn diễn ra rất nhanh nên không thu được trọn vẹn thủy khứu giác (Hình 1C). Ở hai nghiệm thức còn lại với liều 80 và 70 mg/kg thể trọng, việc mổ não dễ dàng hơn và không có hiện tượng não mềm và rời nhanh như ở hai nghiệm thức liều 330 và 165 mg/kg b.w. Như vậy, kết hợp với kết quả biểu hiện của độc cấp tính ở mục 3.1, LD₅₀ của thí nghiệm này là 70 mg/kg b.w. Do đó, ở cấu trúc đại thể không thực hiện nhuộm mẩu ở nghiệm thức uống liều 80 mg/kg b.w. Theo đó, các kết quả về cấu trúc mô học của não chuột được quy ước gồm: nhóm đối chứng (đối chứng), nhóm uống Cd với liều 330 mg/kg b.w (Cd 330 mg/kg b.w); nhóm uống Cd với liều 165 mg/kg b.w (Cd 165 mg/kg b.w); nhóm uống Cd với liều 70 mg/kg b.w (Cd 70 mg/kg b.w).



Hình 1. Cấu trúc đại thể của não chuột ở các liều Cd khảo sát độc cấp tính
A: đối chứng; B: Cd 330 mg/kg b.w; C: Cd 165 mg/kg b.w; D: Cd 80 mg/kg b.w; E: Cd 70 mg/kg b.w

OB: olfactory bulb (hành khứu giác); FC: frontal cortex (não trước); LF: frontal lobe (thùy trán); M: medulla oblongata (hành tủy); PC: parietal cortex (vùng thái dương); OC: occipital cortex (vùng chẩm); CB: cerebellum (tiểu não).

Về cấu trúc mô học não chuột ở các nồng độ Cd được khảo sát trên 4 vùng ở não gồm có thùy khứu giác, bán cầu đại não, cấu trúc vùng hải mã, tiểu não. Kết quả được thể hiện ở Hình 2 đến Hình 5.



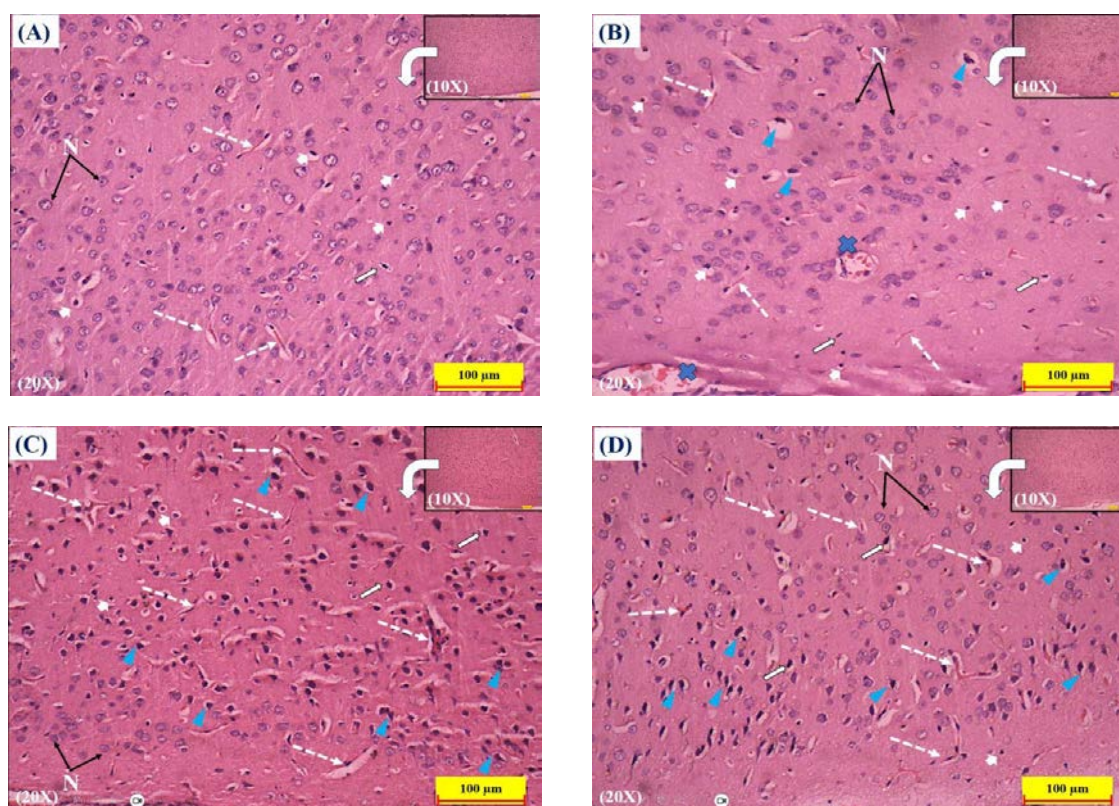
Hình 2. Cấu trúc mô học thùy khứu giác (x20)

A: đối chứng; B: Cd 330 mg/kg b.w; C: Cd 165 mg/kg b.w; D: Cd 70 mg/kg b.w

Mũi tên to: tế bào/vùng tế bào hình sao có nhân tằm sắc; mũi tên nét đứt: vị trí xung huyết; hình tam giác: vùng tế bào bị bong tróc; dấu hoa thị: khoảng trống; dấu nhân: mạch máu phình to; scale bar: 100 µm.

Kết quả nhuộm H&E của thùy khứu giác ở nhóm đối chứng (Hình 2A) cho thấy có sự tổ chức bình thường của 6 lớp từ bên ngoài vào bên trong: (1) lớp thần kinh khứu giác (NFL) chứa các sợi thần kinh và các tế bào đệm phân bố đều; (2) lớp cầu thận (GL) với các cầu thận được bao quanh bởi vành tế bào quanh cầu thận; (3) lớp đám rối bên ngoài (EPL) có các tế bào thần kinh và các mạch máu; (4) lớp tế bào hai lá (ML) với các tế bào thần kinh hình chóp có nhân mụn nước lớn, màu nhạt, nhiều tế bào chất, cùng với các tế bào thần kinh nhỏ hơn từ lớp tế bào hạt, nhân sẫm màu và ít tế bào chất, xuất hiện rải rác; (5) lớp đám rối bên trong (IPL) và (6) lớp tế bào hạt (Gr) với các tế bào thần kinh dạng hạt tròn, nhỏ, sẫm màu và có số lượng lớn nhất trong thùy khứu giác. Ở nhóm chuột uống liều 330 mg/kg b.w (Hình 2B), cũng quan sát thấy 6 lớp thần kinh. Tuy nhiên, tại lớp cầu thận, các cầu thận có xu hướng giảm kích thước và vành tế bào bao quanh chúng mỏng hơn so với nhóm chuột đối chứng. Đồng thời, lớp đám rối bên ngoài có hiện tượng mạch máu phình to (dấu nhân),

số lượng các tế bào thần kinh có sự giảm đáng kể, có hiện tượng co lại sậm màu và thậm chí hoại tử; lớp tế bào 2 lá có hiện tượng các tế bào hình chóp co lại và sậm màu đến hoại tử (hình đầu mũi tên) dẫn tới tạo ra khoảng trống giữa các tế bào (hình hoa thị). Đối với lớp hạt có số lượng tế bào hạt giảm đáng kể, tổ chức tế bào thưa thớt hơn so với nhóm chuột đối chứng. Riêng lớp thần kinh và lớp đám rối bên trong không có thay đổi so với nhóm chuột đối chứng. Ở nhóm chuột uống liều 165 mg/kg b.w (Hình 2C) và 70 mg/kg b.w (Hình 2D) cũng ghi nhận các biểu hiện tương tự. Tuy nhiên, mức độ tổn thương giảm dần từ liều 165mg/kg b.w đến 70 mg/kg b.w. Như vậy, kết quả nhuộm H&E cho thấy Cd đã ảnh hưởng tổn thương cấu trúc mô học thùy khứu giác của chuột bằng cách làm giảm số lượng tế bào thần kinh và tăng sự sậm màu đến hoại tử.



Hình 3. Cấu trúc mô học vỏ não (x20)

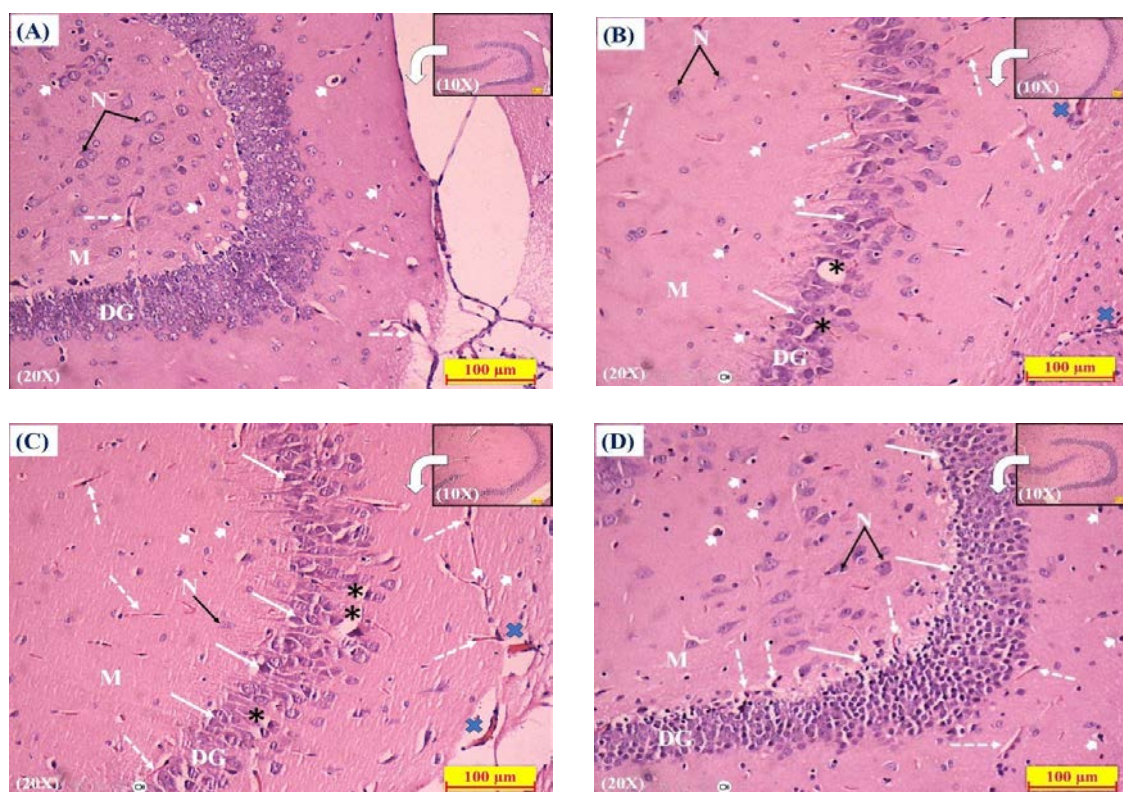
A: đối chứng; B: Cd 330 mg/kg b.w; C: Cd 165 mg/kg b.w; D: Cd 70 mg/kg b.w

N: tế bào thần kinh, mũi tên ngắn: tế bào thần kinh đậm; mũi tên nét đứt: mạch máu; dấu nhân: mạch máu phình to; đầu mũi tên: tế bào thần kinh thoái hoá và hoại tử; scale bar: 100 μm.

Đối với vùng vỏ não, kết quả nhuộm H&E cho thấy cấu trúc bình thường ở nhóm chuột đối chứng (Hình 3A), trong đó các tế bào thần kinh đều và nhiều, mạch máu phân bố đều. Tuy nhiên, ở các nhóm chuột thí nghiệm, mức độ tổn thương tăng dần theo nồng độ Cd gây nhiễm. So với nhóm đối chứng, nhóm được gây nhiễm 70 mg/kg b.w có biểu hiện như tế bào có nhân bị vón cục lại và tập trung về một phía, tế bào thần kinh thoái hoá và hoại tử (đầu mũi tên), mạch máu có dấu hiệu phình, các tế bào thần kinh đậm bị tăng sắc (Hình 3D).

Ở nhóm được gây nhiễm với liều 165 mg/kg b.w (Hình 3C), hầu hết các nhân tế bào bị tăng sắc, thoái hoá và hoại tử cùng với mạch máu phình to hơn so với nhóm dùng liều 70 mg/kg b.w. Đặc biệt, ở nhóm chuột được gây nhiễm liều 330 mg/kg b.w (Hình 3B) có mức độ tổn thương tăng lên rất nhiều, số lượng tế bào thần kinh giảm đáng kể và ở một số vùng thì gần như không có tế bào thần kinh, mạch máu phình to (dấu nhân).

Tóm lại, các nồng độ Cd đã gây ra các biểu hiện tổn thương ngày càng nghiêm trọng ở vỏ não chuột, bao gồm sự thoái hoá và hoại tử tế bào, tổn thương mạch máu và sự giảm sút của các tế bào thần kinh, đồng thời mức độ tổn thương tăng dần theo sự gia tăng nồng độ Cd.



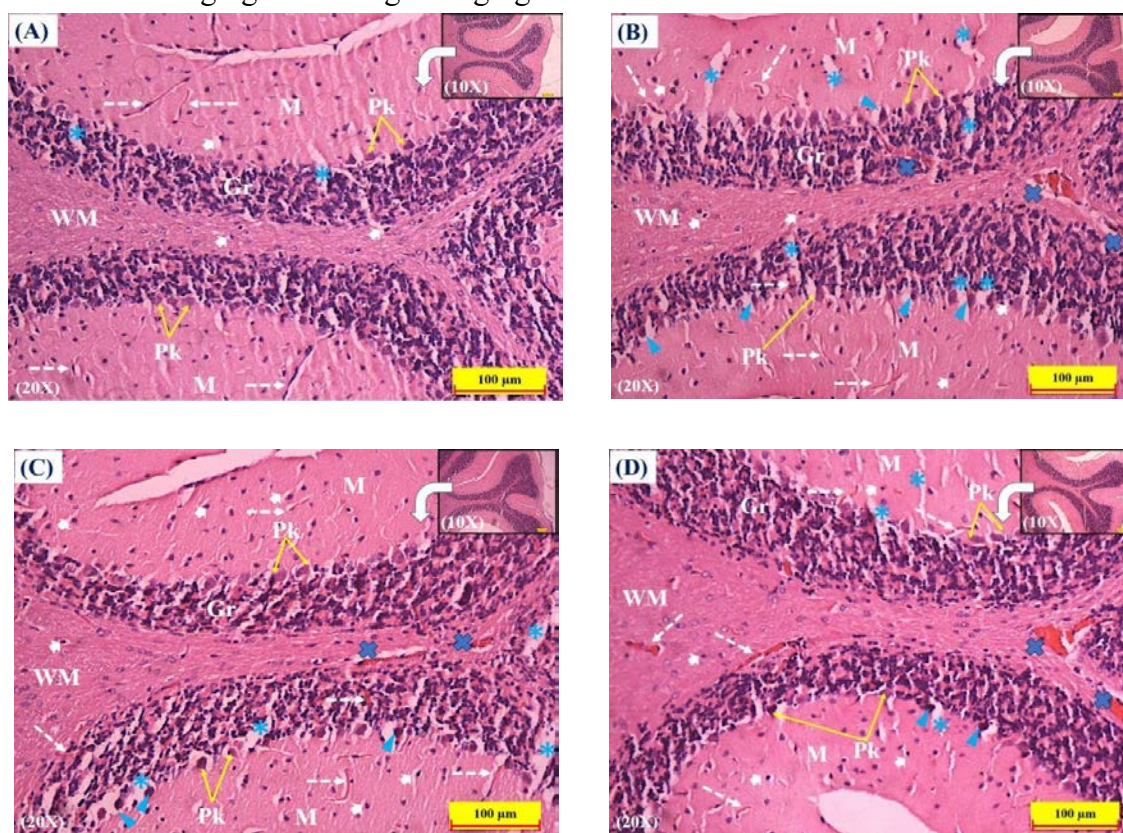
Hình 4. Cấu trúc mô học vùng hồi hải mã (x20)

A: đối chứng; B: Cd 330 mg/kg b.w; C: Cd 165 mg/kg b.w; D: Cd 70 mg/kg b.w

N: tế bào thần kinh; mũi tên ngắn: tế bào thần kinh đậm; mũi tên nét đứt: mạch máu; DG (Dentate gyrus): hồi răng; M (molecular layer): lớp phân tử; dấu nhân: mạch máu phình to; mũi tên dài, mỏng: tế bào thần kinh tối màu; dấu hoa thị: khoảng trống của các tế bào thần kinh; scale bar: 100 μm.

Vùng hồi hải mã được xem là vùng có liên quan tới trí nhớ của các loài động vật. Sau khi bị gây nhiễm Cd, số lượng tế bào thần kinh tại vùng này đã cho thấy một xu hướng tăng hoặc giảm tùy thuộc vào nồng độ Cd gây nhiễm độc (từ nồng độ 330 mg/kg b.w đến 70mg/kg b.w). Cụ thể, ở nghiệm thức đối chứng (Hình 4A), hình dạng của các tế bào hạt ở hồi răng thường có kích thước nhỏ với nhân mụn nước tròn đều tập trung dày đặc, các tế bào thần kinh thường phân bố nhiều ở lớp phân tử (M), các tế bào đậm sậm màu chỉ phân bố rải rác

và mạch máu nhỏ đều. Ở nhóm chuột uống liều 330 mg/kg b.w (Hình 4B) và 160 mg/kg b.w (Hình 4C), hồi răng chỉ có rất ít tế bào hạt nhưng lại có nhiều tế bào thần kinh sậm màu (mũi tên mỏng, dài), số lượng tế bào thần kinh trong lớp phân tử giảm đáng kể và thậm chí có hiện tượng mạch máu phình to (dấu nhân). Ở nhóm chuột uống liều 70 mg/kg b.w (Hình 4D) cho thấy hồi răng có nhiều tế bào hạt mặc dù vẫn còn nhiều tế bào thần kinh sậm màu, lớp phân tử có nhiều tế bào thần kinh gần với nhóm chuột đối chứng và không còn hiện tượng mạch máu phình to như ở hai nhóm chuột uống liều 330 và 165 mg/kg b.w. Như vậy, kết quả cho thấy Cd đã ảnh hưởng lên vùng hồi hải mã chuột, gây ra sự giảm đáng kể về số lượng tế bào thần kinh và tăng sự sậm màu. Sự ảnh hưởng này được thấy giảm dần khi giảm liều Cd từ 330 mg/kg b.w xuống 70 mg/kg b.w.



Hình 5. Cấu trúc mô học tiểu não chuột (x20)

A: đối chứng; B: Cd 330 mg/kg b.w; C: Cd 165 mg/kg b.w; D: Cd 70 mg/kg b.w.

M (molecular layer): lớp phân tử, Pk: lớp tế bào Purkinje; Gr (granular layer): lớp hạt; WM (white matter): chất trắng; mũi tên nét đứt: mạch máu; mũi tên ngắn: tế bào thần kinh đậm; dấu hoa thị: khoảng trống của các tế bào thần kinh; dấu nhân: mạch máu phình to; đầu mũi tên: tế bào thần kinh thoái hóa và hoại tử; scale bar: 100 μm.

Kết quả nhuộm H&E cho thấy sự thay đổi trong cấu trúc mô của tiểu não chuột ở các nhóm thí nghiệm. Nhóm đối chứng (Hình 5A) có cấu trúc mô học bình thường, bao gồm có 3 lớp, đó là lớp phân tử (M) với các tế bào đậm (mũi tên ngắn) phân bố đều nhau, ở giữa là lớp tế bào Purkinje (Pk) phân bố đều, trong cùng là lớp hạt (Gr) chứa nhiều tế bào hạt tròn,

nhỏ, sẫm màu và đều; phần lõi của tiểu não là tủy trắng (WM), các mạch máu nhỏ đều, khoảng trống giữa các tế bào thần kinh chỉ điểm một hai chỗ (hình hoa thị). Trong khi đó, nhóm uống liều 330 mg/kg b.w (Hình 5B) cũng có cấu trúc 3 vùng, nhưng vùng phân tử có hiện tượng các tế bào thần kinh đậm ít hơn và tế bào co lại nhiều hơn tạo nên các khoảng trống ở các tế bào neuropil (hình hoa thị). Ở lớp tế bào Purkinje có hiện tượng các tế bào co lại làm sẫm màu, thoái hoá, hoại tử (hình đầu mũi tên) và tạo các khoảng trống. Ở lớp hạt, các tế bào hạt ít hơn hẳn so với nhóm chuột đối chứng và khoảng trống cũng nhiều hơn; ngoài ra, có hiện tượng như mạch máu phình to và tụ nhiều máu (đầu nhân) trong vùng chất trắng. Tình trạng này cũng tương tự như ở nhóm chuột uống liều 165 mg/kg b.w (Hình 5C) và liều 70 mg/kg b.w (Hình 5D), tuy nhiên mức độ tổn thương giảm theo sự giảm liều Cd khảo sát. Như vậy, gây tổn thương đặc biệt là lớp tế bào Purkinje và lớp hạt trong tiểu não chuột, với mức độ tổn thương giảm dần theo sự giảm liều Cd khảo sát.

Tóm lại, các con chuột thí nghiệm đều bị tổn thương não khi bị nhiễm Cd, mức độ tổn thương giảm dần khi giảm liều Cd 330 mg/kg b.w, 165 mg/kg b.w và 70 mg/kg b.w, tương ứng. Trong đó liều 70 mg/kg b.w là liều gây chết 50% (LD₅₀) đối với chuột sau 48 giờ kể từ khi gây nhiễm Cd.

3.3. Thảo luận

Khứu giác một trong những cảm giác chủ yếu ở loài gặm nhấm, được quan trọng hóa trong não với thùy khứu giác chiếm đến 6-7% tổng trọng lượng não (Snyder et al., 2018). Vỏ não đóng vai trò quan trọng nhất trong hệ thống não của động vật có vú, là nơi chứa toàn bộ thông tin cảm giác từ các giác quan như cơ thể, thị giác, thính giác, vị giác và khứu giác, thường được tổ chức theo phân khu. Ngoại trừ khứu giác, các thông tin cảm giác khác được chuyển đến vỏ não thông qua đồi thị. Vỏ não vận động sơ cấp là mà các chuyển động có chủ ý bắt nguồn. Một mạng lưới neuron nối với tiểu não bắt đầu từ thùy trán, đến nhân cầu não và tiếp tục đến tiểu não, sau đó tín hiệu được truyền trở lại vỏ não thông qua các nhân vận động đồi thị (Schröder et al., 2020). Hồi hải mã, một phần của hệ thống limbic, chịu trách nhiệm về trí nhớ và học tập (Hussein, 2017) cũng như định hướng trong không gian và thời gian (Schröder et al., 2020). Tiểu não điều phối các chuyển động và trương lực của cơ và cân bằng cơ thể (Snyder et al., 2018). Các nghiên cứu cho thấy rằng Cd gây ảnh hưởng đến não chuột, gây ra các biểu hiện hành vi bất thường từ nhẹ tới nặng theo sự tăng dần nồng độ Cd gây nhiễm. Cũng có nghiên cứu cho thấy rằng liều Cd cấp tính làm tăng stress và gây ra các triệu chứng giống trầm cảm ở chuột (Haider et al., 2015). Những rối loạn chức năng hành vi có thể là do hoạt động của enzyme superoxide dismutase (SOD) giảm và quá trình peroxid hoá lipid tăng lên trong não. Ngoài ra, sự suy giảm khả năng học tập và trí nhớ được đánh giá thông qua Morris water maze (MWM), cho thấy phụ thuộc vào liều gây nhiễm Cd. Hoạt động của enzyme Acetylcholinesterase (AChE) cũng giảm trong não của chuột nhiễm Cd (Haider et al., 2015).

Trong nghiên cứu này đã cho thấy Cd ảnh hưởng rất lớn tới các tế bào thần kinh của não bộ từ đó có ảnh hưởng tới hành vi bất thường của chuột. Một nghiên cứu được công bố cho thấy cho thấy liều LD₅₀ Cd từ CdCl₂ cho chuột là 5,98 mg/kg b.w trong 24 giờ và bằng cách tiêm vào phúc mạc (Hussen Ali, 2012). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi thu được liều LD₅₀ Cd từ CdCl₂.2,5 H₂O là 70 mg/kg b.w. Ngoài ra, mức độ tổn thương não bộ tổng thể cũng thấy rõ khi giảm liều Cd từ cao xuống thấp. Trong đó, cấu trúc mô học của các vùng thùy khứu giác, vỏ não, vùng hồi hải mã và tiểu não cũng có mức độ tổn thương giảm dần theo sự giảm dần liều Cd gây nhiễm. Sự tổn thương ở các vùng này trong nghiên cứu của chúng tôi cũng tương đồng với các nghiên cứu đã công bố: tiểu não chuột bị thoái hoá và hoại tử (Alrafiah, 2021; Enogieru & Inneh, 2022), mức độ tổn thương vỏ não chuột tăng dần khi tăng liều Cd từ 1 mg/kg/b.w, 5 mg/kg. b.w và 25 mg/kg b.w, tương ứng (Varmazyari et al., 2020), hay từ 1,87 mg/kg b.w, 3,74 mg/kg b.w và 7,48 mg/kg b.w, tương ứng (Yang et al., 2015), hầu hết các tế bào thần kinh ở vỏ não bị thoái hoá khi nhiễm Cd liều 30 mg/kg b.w (Allam et al., 2016). Nguyên nhân của sự tổn thương này là do Cd liều cao gây độc cho não, gây tắc nghẽn và phù nề các mạch máu của hệ thần kinh trung ương do tác động lên lớp nội mô. Những phát hiện này đã cho thấy rằng Cd gây ra tắc nghẽn mạch máu và thoái hoá các tế bào và sợi thần kinh. Độc tính của Cd làm thay đổi tính thấm của hàng rào máu não. Mô não được kiểm tra cho thấy tắc nghẽn mạch máu màng não, thoái hoá các sợi và tế bào thần kinh, xơ hoá ở não và tiểu não do tích tụ Cd trong đám rối màng mạch ở nồng độ cao hơn nồng độ có trong dịch não tủy (CSF) và các mô não. Cd có thể phá huỷ các tế bào thần kinh, tế bào ít nhánh và các sợi thần kinh trong chất trắng của tiểu não (El-Tarras et al., 2016; Arruebarrena et al., 2023).

Qua kết quả nghiên cứu đã cung cấp thêm chứng cứ khoa học về ảnh hưởng của Cd lên não bộ, một tác nhân góp phần gây ra các bệnh lí thần kinh. Tuy nhiên, để có cái nhìn toàn diện hơn về ảnh hưởng của Cd đối với sức khỏe của chuột, cần tiến hành nghiên cứu sâu hơn về tác động của Cd lên các cơ quan khác.

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy rằng các chuột bị nhiễm độc cấp tính Cd biểu hiện các hành vi rõ rệt. Liều gây chết 50% (LD₅₀) số chuột thí nghiệm của Cd đã được xác định là 70 mg/kg b.w. Các liều gây nhiễm Cd từ CdCl₂.2,5 H₂O ở mức 330, 165 và 70 mg/kg b.w đã có tác động nghiêm trọng đến biểu hiện hành vi và mức độ tổn thương cấu trúc mô học của não ở chuột nhắt trắng: mạch máu phình to, thoái hoá và hoại tử tế bào thần kinh được quan sát tại các vùng như thùy khứu giác, bán cầu đại não, vùng hồi hải mã và tiểu não. Mức độ tổn thương giảm dần tương ứng khi liều lượng Cd giảm từ 330 mg/kg b.w xuống còn 70 mg/kg b.w.

Cần tiếp tục thực hiện các nghiên cứu về ảnh hưởng của Cd lên khối lượng cơ thể, chỉ số huyết học, các nội quan chuột từ đó góp phần hiểu rõ hơn về mức độ ảnh hưởng của Cd đến sinh lí chuột nhắt trắng.

- ❖ **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 của Phòng khám Đa khoa Đại Phước, Quận 10, Thành phố Hồ Chí Minh đã tạo điều kiện cho nhóm chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Allam, A. A., Maooda, S. N., Abo-Eleneen, R., & Ajarem, J. (2016). Protective Effect of Parsley Juice (*Petroselinum crispum*, Apiaceae) against Cadmium Deleterious Changes in the Developed Albino Mice Newborns (*Mus musculus*) Brain. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, Article 2646840. <https://doi.org/10.1155/2016/2646840>
- Alrafiah, A. R. (2021). Secondary Cerebellar Cortex Injury in Albino Male Rats after MCAO: A Histological and Biochemical Study. *Biomedicines*, 9(9), Article 9. <https://doi.org/10.1155/2016/2646840>
- Andjelkovic, M., Buha Djordjevic, A., Antonijevic, E., Antonijevic, B., Stanic, M., Kotur-Stevuljevic, J., Spasojevic-Kalimanovska, V., Jovanovic, M., Boricic, N., Wallace, D., & Bulat, Z. (2019). Toxic Effect of Acute Cadmium and Lead Exposure in Rat Blood, Liver, and Kidney. *Int J Environ Res Public Health*, 16(2), Article 274. <https://doi.org/10.3390/ijerph16020274>
- Arruebarrena, M. A., Hawe, C. T., Lee, Y. M., & Branco, R. C. (2023). Mechanisms of Cadmium Neurotoxicity. *Int J Mol Sci*, 24(23), Article 23. <https://doi.org/10.3390/ijms242316558>
- Ayuob, N. N., Balgoon, M. J., Ali, S., Alnoury, I. S., Almohaimeed, H. M., & AbdElfattah, A. A. (2020). *Ocimum basilicum* (Basil) Modulates Apoptosis and Neurogenesis in Olfactory Pulp of Mice Exposed to Chronic Unpredictable Mild Stress. *Front Psychiatry*, 11, Article 569711. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2020.569711>
- El-Tarras, A. E.-S., Attia, H. F., Soliman, M. M., El Awady, M. A., & Amin, A. A. (2016). Neuroprotective effect of grape seed extract against cadmium toxicity in male albino rats. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 29(3), 398-407. <https://doi.org/10.1177/0394632016651447>
- Enogieru, A. B., & Inneh, C. A. (2022). Cadmium and Mercury Exposure: Oxidative, Neurobehavioural and Histological Alterations to the Cerebellum of Wistar Rats. *Ibom Medical Journal*, 15(2), 141-147. <https://doi.org/10.61386/imj.v15i2.252>
- Genchi, G., Sinicropi, M. S., Lauria, G., Carocci, A., & Catalano, A. (2020). The Effects of Cadmium Toxicity. *Int J Environ Res Public Health*, 17(11). <https://doi.org/10.3390/ijerph17113782>
- Haider, S., Anis, L., Batool, Z., Sajid, I., Naqvi, F., Khaliq, S., & Ahmed, S. (2015). Short term cadmium administration dose dependently elicits immediate biochemical, neurochemical and neurobehavioral dysfunction in male rats. *Metabolic Brain Disease*, 30(1), 83-92. <https://doi.org/10.1007/s11011-014-9578-4>
- Hussen Ali, T. (2012). Determination of the lethal dose 50%(LD50) of cadmium chloride and the histopathological changes in male mice liver and kidneys. *Journal of Education and Science*, 25(3), 27-38. <https://doi.org/10.33899/edusj.2012.59200>

- Hussein, Y. (2017). Histological and Immunohistochemical Changes in the Hippocampus of the Adult Male Albino Rats Treated with Amethopterin and the Possible Protective Role of Moringa Leaves Extract. *The Egyptian Journal of Anatomy*, 40(2), 294-300. <https://doi.org/10.21608/EJANA.2018.16907>
- Kaji, M. (2012). Role of experts and public participation in pollution control: the case of Itai-itai disease in Japan1. *Ethics in science and environmental politics*, 12(2), 99-111. <https://doi.org/10.3354/ese00126>
- Nordberg, G., Nogawa, K., & Nordberg, M. (2015). Cadmium (Chapter 32). *Handbook on the Toxicology of Metals*, 2, 667-716. <http://doi.org/10.1016/B978-0-444-59453-2.00032-9>
- Pardo, I. D., Rao, D. B., Morrison, J. P., Huddleston, C., Bradley, A. E., Bolon, B., & Garman, R. H. (2020). Nervous System Sampling for General Toxicity and Neurotoxicity Studies in Rabbits. *Toxicol Pathol*, 48(7), 810-826. <https://doi.org/10.1177/0192623320957637>
- Rafati Rahimzadeh, M., Rafati Rahimzadeh, M., Kazemi, S., & Moghadamnia, A. A. (2017). Cadmium toxicity and treatment: An update. *Caspian J Intern Med*, 8(3), 135-145. <https://doi.org/10.22088/cjim.8.3.135>
- Schröder, H., Moser, N., & Huggenberger, S. (2020). The Mouse Olfactory System. In: *Neuroanatomy of the Mouse* (pp. 353), Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-19898-5_14
- Sigma-Aldrich (2021). Phiếu an toàn hóa chất theo quy định (EC) số 1907/2006, MSDS chung cho khối EU-không có dữ liệu cụ thể cho từng quốc gia-không có dữ liệu OEL [Safety data sheet (SDS) according to EC regulation No. 1907/2006, general MSDS for EU-wide SDS - no country-specific data - no OEL data], (Vol. 8.2, p. 13). <https://www.sigmaaldrich.com/VN/en>
- Snyder, J. M., Hagan, C. E., Bolon, B., & Keene, C. D. (2018). 20 - Nervous System. In P. M. Treuting, S. M. Dintzis & K. S. Montine (Eds.), *Comparative Anatomy and Histology (Second Edition)* (pp. 403-444). Academic Press. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-802900-8.00020-8>
- Varmazyari, A., Taghizadehghalehjoughi, A., Sevim, C., Baris, O., Eser, G., Yildirim, S., Hacimuftuoglu, A., Buha, A., Wallace, D. R., Tsatsakis, A., Aschner, M., & Mezhuev, Y. (2020). Cadmium sulfide-induced toxicity in the cortex and cerebellum: *In vitro* and *in vivo* studies. *Toxicol Rep*, 7, 637-648. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.04.011>
- Wen, S., Wang, L., Zou, H., Gu, J., Song, R., Bian, J., Yuan, Y., & Liu, Z. Puerarin Attenuates Cadmium-Induced Neuronal Injury via Stimulating Cadmium Excretion, Inhibiting Oxidative Stress and Apoptosis. *Biomolecules*, 11(7), Article 978. <https://doi.org/10.3390/biom11070978>
- Yang, X. F., Fan, G. Y., Liu, D. Y., Zhang, H. T., Xu, Z. Y., Ge, Y. M., & Wang, Z. L. (2015). Effect of cadmium exposure on the histopathology of cerebral cortex in juvenile mice. *Biol Trace Elem Res*, 165(2), 167-172. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0246-2>

**A SURVEY OF ACUTE TOXIC EFFECTS OF CADMIUM
ON THE BRAIN OF ALBINO MICE**

Lam Thi Khanh Phuong, Truong Huy Buu, Nguyen Thi Thuong Huyen *

Ho Chi Minh City University of Education, Vietnam

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

Received: April 08, 2024; Revised: May 18, 2024; Accepted: May 21, 2024

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the LD₅₀ of Cadmium in mice and assess the effects of acute Cd toxicity on their brains. Male mice were administered a single dose of Cd from CdCl₂.2.5 H₂O, starting at 330 mg/kg b.w, until a lethal dose for 50% of the tested mice was determined within 24-48 hours. The results revealed that the LD₅₀ of Cd is 70 mg/kg b.w. Exposure to Cd doses ranging from 330 to 70 mg/kg b.w from CdCl₂.2H₂O resulted in significant alterations in behavior and histological structure of the mouse brain, including blood vessel enlargement, nerve cell degeneration, and necrosis. The severity of damage decreased as the Cd dosage was reduced from 330 mg/kg b.w to 70 mg/kg b.w. Further investigation into the effects of Cd on body weight, hematological parameters, and internal organs of mice is warranted to gain a comprehensive understanding of its physiological impact on albino mice.

Keywords: albino mice; cadmium; histopathological; LD₅₀; neurotoxicity