



Bài báo nghiên cứu

ẢNH HƯỞNG CỦA THỜI GIAN CHIẾU UVA LÊN KHỐI LƯỢNG CƠ THỂ, SỐ LƯỢNG TẾ BÀO MÁU VÀ NỘI QUAN CỦA CHUỘT NHẮT TRẮNG (*Mus musculus var. albino*)

Nguyễn Thị Thương Huyền^{1*}, Bùi Thị Kim Ngân², Trương Văn Trí¹, Phạm Văn Ngọt¹

¹Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh

²Trường THPT chuyên Trần Đại Nghĩa, Thành phố Hồ Chí Minh

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

Ngày nhận bài: 03-9-2019; ngày nhận bài sửa: 23-9-2019; ngày duyệt đăng: 27-9-2019

TÓM TẮT

Ở Việt Nam hiện nay, các nghiên cứu về ảnh hưởng của tia UV chủ yếu thường đề cập ở da, đến thời điểm này chưa có công trình nào công bố tổng thể về ảnh hưởng của UVA lên khối lượng, tế bào máu và nội quan chuột. Do đó, đề tài tiến hành đánh giá ảnh hưởng của thời gian chiếu UVA lên sự tăng trọng, số lượng tế bào máu và một số nội quan ở chuột nhắt trắng. Chuột cái 6 tuần tuổi được cạo lông vùng lưng và chiếu UVA qua 3 mốc thời gian (3, 6, 9 giờ) và lô đối chứng trong 8 tuần liên tục. Kết quả cho thấy: khối lượng chuột có xu hướng giảm theo sự tăng dần thời gian chiếu; số lượng hồng cầu tăng mạnh sau 4 tuần và giảm mạnh sau 8 tuần (tại mốc 6 và 9 giờ); số lượng bạch cầu tăng không theo quy luật sau 4 tuần và giảm theo sự tăng dần thời gian chiếu sau 8 tuần; số lượng tiểu cầu tăng theo sự tăng thời gian chiếu sau 4 tuần và giảm theo sự tăng thời gian chiếu sau 8 tuần; cấu trúc của gan, thận, lách bị tổn thương từ nhẹ (3 giờ) sang nặng (6 và 9 giờ).

Từ khóa: chuột nhắt trắng; mô bệnh học; số lượng tế bào máu chuột; tia cực tím; UVA

1. Giới thiệu

Hằng ngày, việc tiếp xúc trực tiếp với tia UV từ ánh mặt trời là điều không thể tránh khỏi của mỗi người. Tuy nhiên, ngoài lợi ích giúp cơ thể tổng hợp vitamin D, tia UV cũng là tác nhân dẫn đến nhiều bệnh về da như: lão hóa, thay đổi sắc tố, nhăn nheo... và thậm chí có thể dẫn đến ung thư da (Pillai, Oresajo, & Hayward, 2005; Wang et al., 2016). Tia UV bao gồm UVA (320~400 nm), UVB (280~320 nm) và UVC (100~280 nm). Trong đó, UVA và UVB có ảnh hưởng đến da nhiều hơn. Các photon của UVA có ít năng lượng hơn so với UVB, nhưng chúng lại có khả năng xâm nhập sâu vào hạ bì nên gây tác hại đến da một cách gián tiếp thông qua việc tăng sự tạo các RONS (reactive oxygen and nitrogen

Cite this article as: Nguyen Thi Thuong Huyen, Bui Thi Kim Ngan, Truong Van Tri, & Pham Van Ngot (2019). 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*, 16(12), 1034-1052.

species- gốc oxi hóa tự do và gốc NO hóa tự do). Đây chính là nguyên nhân làm đột biến DNA ti thể. Mặt khác, khi tia UV vượt quá mức có thể ức chế hoạt động của các enzyme chống oxi hóa, phá hủy hệ thống chống oxi hóa, từ đó làm tổn thương da (Komatsu, Sasaki, Manabe, Hirata, & Sugawara, 2017; Slominski et al., 2012; Svobodová et al., 2011; Verschooten, Claerhout, Van Laethem, Agostinis, & Garmyn, 2006). Để duy trì và ổn định tế bào và mô, các tế bào da được trang bị các chất không phải enzyme (ascorbic acid, tocopherol, ubiquinol, and glutathione) và các enzyme chống oxi hóa (catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX)) để loại bỏ các RONS một cách nhanh chóng (Svobodová et al., 2011). Tuy nhiên, khi nhiều chất hoạt động sẽ dẫn đến làm giảm các chất chống oxi hóa và tiếp tục hình thành các sản phẩm của phản ứng, kết quả là cả 2 yếu tố này đều gây stress oxi hóa (Svobodova, Walterova, & Vostalova, 2006; Svobodová et al., 2011).

Khi nói đến tác hại của tia UV, hầu hết các nghiên cứu thường đề cập những ảnh hưởng ở da, vì da là rào cản đầu tiên giữa cơ thể với môi trường. Những tác hại của UV gây ra có thể được lưu thông trong máu đi đến các cơ quan bộ phận trong cơ thể. Vì lẽ đó, có thể UV có những ảnh hưởng nhất định lên tế bào máu và các nội quan trong cơ thể. Ngoài ra, UVA xâm nhập sâu vào dưới lớp hạ bì và dưới da, nên nó làm tăng stress oxi hóa (Svobodová et al., 2011; Wondrak, Jacobson, & Jacobson, 2006). Chính điều này có thể gây biến động các chỉ số huyết học cũng như tổn thương đến các nội quan, từ đây làm ảnh hưởng đến sự tăng trọng của cá thể. Thông số huyết học có liên quan chặt chẽ với phản ứng của động vật đối với môi trường và chúng được sử dụng như chỉ số đáng tin cậy về tình trạng sức khỏe để phát hiện những thay đổi sinh lí khi tiếp xúc với các điều kiện khác nhau. Các nghiên cứu về ảnh hưởng của tia UVA lên tế bào máu còn hạn chế và chưa có công bố nào công bố tổng thể về ảnh hưởng của UVA lên trong lượng và tế bào máu chuột. Đặc biệt ở nước ta, cho đến thời điểm này vẫn chưa có công bố nào về hướng nghiên cứu này. Do đó, mục đích của nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của thời gian chiếu UVA lên khối lượng và số lượng tế bào máu và một số nội quan ở chuột nhắt trắng. Kết quả của đề tài cung cấp thêm dẫn liệu khoa học để hướng tới các nghiên cứu sâu hơn về lĩnh vực này.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Hóa chất

Na₂SO₄, NaCl, HgCl₂, Axit acetic nguyên chất, Diamoniumoxalat, các hóa chất này 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 cái 4 tuần tuổi (12-14g), sạch bệnh được mua từ Viện Pasteur Thành phố Hồ Chí Minh về nuôi ổn định với chu kì 12 giờ sáng/tối, thức ăn tổng hợp và

nước uống tại Phòng Thí nghiệm Giải phẫu – Sinh lí Người và Động vật (I002) – Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh 2 tuần để đạt từ 19-21g tương ứng với 6 tuần tuổi.

Chuột đạt tiêu chuẩn thí nghiệm được đánh dấu các nghiệm thức và số thứ tự chuột trong từng nghiệm thức theo mã số, sau đó được cạo lông vào ngày trước khi tiến hành chiếu đèn. Vị trí cạo lông thuộc vùng lưng có kích thước tối thiểu là 9cm², sau khi cạo, cần để da phục hồi 6-12 giờ trước khi chiếu đèn. Phân bố 6 con chuột vào một lồng thủy tinh (30x19x19 cm³) được đặt bằng lưới sắt. Trong suốt quá trình thí nghiệm, chuột được cho ăn bằng thức ăn tổng hợp dành riêng cho chuột mua từ Viện Pasteur Thành phố Hồ Chí Minh, nước uống là nước sinh hoạt hàng ngày.

Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của gian chiếu UVA (3 giờ, 6 giờ, 9 giờ và 0 giờ) tương ứng với 4 nghiệm thức. Mỗi nghiệm thức gồm 12 con chuột. Thí nghiệm được thực hiện từ tháng 9/2018 đến tháng 5/2019 tại Phòng Thí nghiệm Giải phẫu – Sinh lí Người và Động vật – Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh và nhuộm mẫu tại Khoa Giải phẫu bệnh – Bệnh viện Quận 2, Thành phố Hồ Chí Minh.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp chiếu đèn UVA

Chiếu đèn UVA cho chuột tương ứng với 4 nghiệm thức trong cùng một cường độ chiếu (2 bóng 15W tương đương 0,4 mW/cm²/phút hay 24 mJ/cm²/phút), khoảng cách từ đèn đến lưng chuột 30 cm, chiếu trong 8 tuần liên tiếp. Trong quá trình chiếu đèn UVA, theo dõi tốc độ mọc lông của chuột để cạo lông kịp thời.

2.3.2. Phương pháp khảo sát khối lượng chuột

Cân khối lượng mỗi con chuột tương ứng với mỗi nghiệm thức theo mã số vào mỗi buổi sáng trước khi cho ăn, chu kì 2 tuần/lần.

2.3.3. Phương pháp lấy máu chuột

Trước khi lấy máu, cho chuột nhịn đói 1 đêm hôm trước, sáng hôm sau tiến hành lấy máu. Chu kì 30 ngày/lần, lấy máu ở tĩnh mạch đuôi chuột để khảo sát tế bào máu. Cách lấy máu chuột như sau: cho chuột vào 1 falcon nhựa 50 ml, để lộ đuôi chuột ra phía ngoài; dùng bông gòn thấm cồn 70° sát trùng, dùng kim trích máu lấy máu ở tĩnh mạch đuôi của chuột.

2.3.4. Phương pháp xác định số lượng hồng cầu

Dùng kim trích lấy máu ở tĩnh mạch đuôi chuột, bỏ giọt máu đầu tiên; hút máu vào ống trộn hồng cầu 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 4-6 giọt đầu tiên trước khi cho vào buồng đếm); đưa buồng đếm lên kính vi kiểm tra; 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/mm³ máu (N) được tính theo công thức (Nguyễn, & Võ, 2019):

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

2.3.5. Phương pháp xác định số lượng bạch cầu

Dùng kim trích lấy máu ở tĩnh mạch đùi chuột, bỏ giọt máu đầu tiên; hút máu vào ống trộn bạch cầu 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 4-6 giọt đầu tiên trước khi cho vào buồng đếm); đưa buồng đếm lên kính hiển vi kiểm tra; đếm bạch cầu trong 25 ô vuông lớn (400 ô nhỏ) ở vùng trung tâm. 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 (Nguyễn, & Võ, 2019):

$$N = (B \times 4000 \times 20) : 80 = B \times 200$$

2.3.6. 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 2.3.5), 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 (Nguyễn, & Võ, 2019).

2.3.7. Phương pháp khảo sát về giải phẫu chuột

Thực hiện vào ngày cuối của tuần cuối cùng của chu kỳ lấy máu. Giải phẫu theo mỗi nồng độ ứng với mỗi lô, khảo sát hình thái đại thể các cơ quan nội tạng (gan, thận, lách) xem có những dấu hiệu nào bất thường thông qua đánh giá cảm quan.

Khảo sát hình thái vi thể của gan, thận và lách: sau khi đánh giá đại thể, mẫu gan và thận của từng nồng độ khảo sát được cố định trong dung dịch formal 10% và mẫu được chuyển đến Phòng Giải phẫu bệnh của Bệnh viện Quận 2 – Thành phố Hồ Chí Minh để nhuộm H&E và đánh giá mức độ tổn thương qua tiêu bản cố định được thực hiện tại Phòng I002.

2.3.8. Phương pháp xử lý 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 trung bình 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. Phân tích phương sai hai yếu tố (Two – way Anova) về thời gian và nghiệm thức thí nghiệm. Dùng hàm Turkey để kiểm định các số liệu.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng lên khối lượng

Khối lượng chuột ở các nghiệm thức khảo sát qua mỗi lần lấy cân được thể hiện trong Bảng 1.

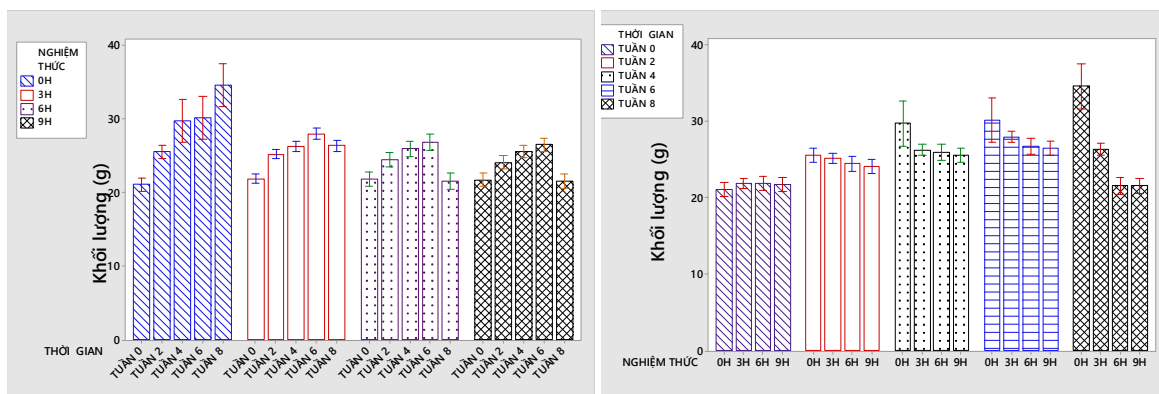
Bảng 1. Khối lượng chuột ở các nghiệm thức thời gian khảo sát (giờ)

Thời gian (tuần)	Khối lượng chuột tại các nghiệm thức thời gian khảo sát (gam/con)				
	ĐC (0 H)	3 H	6 H	9 H	p
0	21,12 ± 0,91 ^{a,A}	21,87 ± 0,63 ^{a,A}	21,85 ± 0,94 ^{a,A}	21,72 ± 0,92 ^{a,A}	0,492
2	25,54 ± 0,89 ^{a,B}	25,20 ± 0,65 ^{ab,B}	24,49 ± 0,98 ^{ab,B}	24,12 ± 0,90 ^{b,B}	0,053
4	29,71 ± 2,94 ^{a,C}	26,24 ± 0,73 ^{b,C}	25,96 ± 1,02 ^{b,C}	25,57 ± 0,86 ^{b,C}	0,002
6	30,16 ± 2,91 ^{a,C}	27,98 ± 0,73 ^{ab,D}	26,79 ± 1,07 ^{b,C}	26,48 ± 0,86 ^{b,C}	0,006
8	34,57 ± 2,92 ^{a,D}	26,38 ± 1,56 ^{b,C}	21,57 ± 1,09 ^{c,A}	21,59 ± 0,98 ^{c,A}	0,000
p	0,000	0,000	0,000	0,000	

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

A, B, C, D: thể hiện sự khác biệt theo cột với độ tin cậy 95%

Kết quả Bảng 3.1 cho thấy, thời điểm chuột đưa vào thí nghiệm có khối lượng dao động từ 21,12-21,87 g ($p > 0,05$), tương ứng với chuột 6 tuần tuổi. Điều này chứng tỏ số lượng chuột đưa vào thí nghiệm từ ban đầu có khối lượng tương đương nhau và đáp ứng yêu cầu của thí nghiệm đặt ra (19-21 g). Tại các ngưỡng thời gian chiếu UVA khác nhau, khối lượng chuột có sự thay đổi rõ rệt: khối lượng chuột có xu hướng giảm khi tăng dần thời gian chiếu UVA từ 3, 6 và 9 giờ sau mỗi 2 tuần và giảm cách biệt so với lô đối chứng (không chiếu UVA), và sự khác biệt này càng thể hiện rõ từ tuần thứ 4 đến tuần thứ 8 ($p < 0,001$). Cùng một ngưỡng thời gian chiếu UVA, tốc độ tăng trọng của chuột giảm dần qua mỗi hai tuần nuôi, kết quả càng thể hiện rõ hơn ở 2 nghiệm thức 6 giờ và 9 giờ ($p < 0,001$). Tiếp tục xem xét cả hai yếu tố (lần lấy cân và ngưỡng thời gian chiếu UVA) lên khối lượng chuột, kết quả xử lý thống kê được thể hiện ở Biểu đồ Hình 1.



Hình 1. Biểu đồ thể hiện sự tương quan của ngưỡng thời gian chiếu lên khối lượng chuột qua các tuần nuôi

Biểu đồ Hình 3.1 cho thấy, khối lượng chuột ở các ngưỡng chiếu UVA cũng có khác biệt qua các đợt lấy cân, khác biệt này đều có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$):

Trong cùng ngưỡng chiếu UVA, ở lô đối chứng khối lượng có xu hướng tăng dần qua từng 2 tuần nuôi ($p < 0,001$); trong khi đó ở các nghiệm thức có chiếu UVA, khối lượng

chuột bắt đầu giảm từ tuần thứ 6 đến tuần thứ 8 và giảm rất mạnh trong 2 nghiệm thức 6 giờ và 9 giờ ($p < 0,001$). Tuy nhiên, khối lượng chuột giảm ở 2 nghiệm thức 6 giờ và 9 giờ tương đương nhau ($p > 0,05$). Như vậy, việc kéo dài thời gian chiếu ở các ngưỡng chiếu UVA khác nhau đều có tác động đến sự thay đổi khối lượng của chuột. Ngưỡng chiếu UVA càng dài (tăng thời gian chiếu), khối lượng chuột càng có xu hướng giảm dần qua 8 tuần thí nghiệm.

Trong cùng một thời điểm (sau mỗi 2 tuần nuôi), khối lượng đều có một xu hướng chung là giảm dần từ khi tăng dần ngưỡng chiếu UVA từ 3 giờ lên 9 giờ. Kết quả này thể hiện rõ nhất ở tuần thứ 6 và thứ 8, đặc biệt là ở tuần thứ 8: Khối lượng chuột giảm rất mạnh ở nghiệm thức 6 giờ ($p < 0,001$), nhưng đến nghiệm thức 9 giờ, khối lượng chuột tương đương với nghiệm thức 6 giờ ($p > 0,05$). Như vậy, thời gian nuôi dưới tác động của ngưỡng chiếu UVA đã ảnh hưởng đến khối lượng chuột: Khối lượng chuột có xu hướng chung là giảm dần khi tăng ngưỡng chiếu UVA từ 3 giờ lên 9 giờ.

Theo nghiên cứu của Blum và cộng sự (1943), bức xạ cực tím có bước sóng ngắn hơn 3200A (320 nm) làm giảm khối lượng chuột do tiêu thụ thực phẩm giảm. Tuy nhiên, cơ chế bên trong vẫn chưa được giải đáp rõ. Theo giả thuyết của Ellinger (1938, 1939), tia UV tác động lên da làm da sản xuất histamin gây kích thích hoạt động của tuyến giáp, từ đó làm giảm khối lượng của chuột (Ellinger, 1938; Friedrich Ellinger, 1939). Việc tăng thời gian chiếu xạ hoặc tăng liều kèm theo sự giảm lượng thức ăn vào cơ thể có thể làm giảm hoạt động của chuột, đặc biệt các hoạt động tranh giành nhau giảm, những con chuột bị chiếu xạ trở nên yên lặng và tăng tập tính gặm lông (groomed) hơn so với nhóm chuột không chiếu xạ (Blum, Grady, & Kirby-Smith, 1943). Điều này có thể nhận thấy rõ trong quá trình tiến hành thí nghiệm. Mặc dù ở thí nghiệm này, bước sóng UVA có dài hơn (360nm) nhưng dấu hiệu suy giảm khối lượng cơ thể chuột qua 8 tuần thí nghiệm vẫn rõ ràng. Kết quả của chúng tôi cũng có phần tương ứng với nghiên cứu của Geldenhuys và cộng sự (2014). Các tác giả này khi tiến hành cho chuột tiếp xúc với ánh sáng mặt trời liều thấp trong thời gian dài có thể là một biện pháp hiệu quả để giảm béo phì ở chuột (Geldenhuys et al., 2014). Điều này đồng nghĩa với việc khi cho chuột tiếp xúc với tia UV lâu dài, chuột sẽ bị giảm cân. Tóm lại, có thể nhận định là dưới tác dụng của tia UVA, ban đầu khối lượng chuột vẫn tăng theo quán tính bởi vì chúng đang ở độ tuổi sinh trưởng (lượng thức ăn, điều kiện sống vẫn được cung cấp đầy đủ). Tuy nhiên, sau một khoảng thời gian tiếp xúc với UVA tương đối dài (sau 8 tuần) thì tác nhân này đã có những ảnh hưởng nhất định lên khối lượng chuột, làm cho chuột có dấu hiệu chán ăn, hoạt động kém và cuối cùng dẫn đến khối lượng chuột suy giảm so với ban đầu. Đặc biệt là việc gia tăng thời gian chiếu UVA có ảnh hưởng đến khối lượng chuột, thời gian chiếu càng nhiều thì khối lượng chuột càng giảm mạnh, bằng chứng là lô 6 giờ và 9 giờ khối lượng chuột giảm rõ rệt so với lô 3 giờ.

3.2. Ảnh hưởng lên số lượng tế bào máu

Bảng 2. Số lượng tế bào máu của các nghiệm thức dưới ảnh hưởng của ngưỡng thời gian chiếu UVA

Lần lấy máu	Nghiệm thức	Hồng cầu ($\times 10^6$ TB/mm ³)	Bạch cầu ($\times 10^3$ TB/mm ³)	Tiểu cầu ($\times 10^3$ TB/mm ³)
1	ĐC	7,77 ± 0,15 ^a	6,10 ± 0,12 ^a	281,42 ± 10,26 ^a
	3 giờ	7,76 ± 0,10 ^a	6,13 ± 0,10 ^a	282,25 ± 10,56 ^a
	6 giờ	7,63 ± 0,14 ^a	6,03 ± 0,12 ^a	277,50 ± 6,47 ^a
	9 giờ	7,63 ± 0,13 ^a	6,13 ± 0,13 ^a	283,17 ± 9,32 ^a
2	ĐC	7,80 ± 0,15 ^a	6,14 ± 0,10 ^a	277,58 ± 13,21 ^a
	3 giờ	8,20 ± 0,12 ^b	12,63 ± 0,13 ^b	346,00 ± 9,20 ^b
	6 giờ	8,08 ± 0,14 ^b	8,08 ± 0,12 ^c	375,00 ± 9,99 ^c
	9 giờ	8,11 ± 0,14 ^b	13,66 ± 0,12 ^d	391,00 ± 12,76 ^d
3	ĐC	7,82 ± 0,12 ^a	6,01 ± 0,14 ^a	279,36 ± 9,57 ^a
	3 giờ	8,06 ± 0,14 ^b	8,90 ± 0,15 ^b	191,67 ± 15,29 ^b
	6 giờ	7,27 ± 0,14 ^c	5,13 ± 0,13 ^c	171,17 ± 13,03 ^c
	9 giờ	7,30 ± 0,14 ^c	3,80 ± 0,13 ^d	119,42 ± 10,92 ^d

a, b, c, d: thể hiện sự khác biệt theo cột trong cùng một lần lấy máu với độ tin cậy 95%

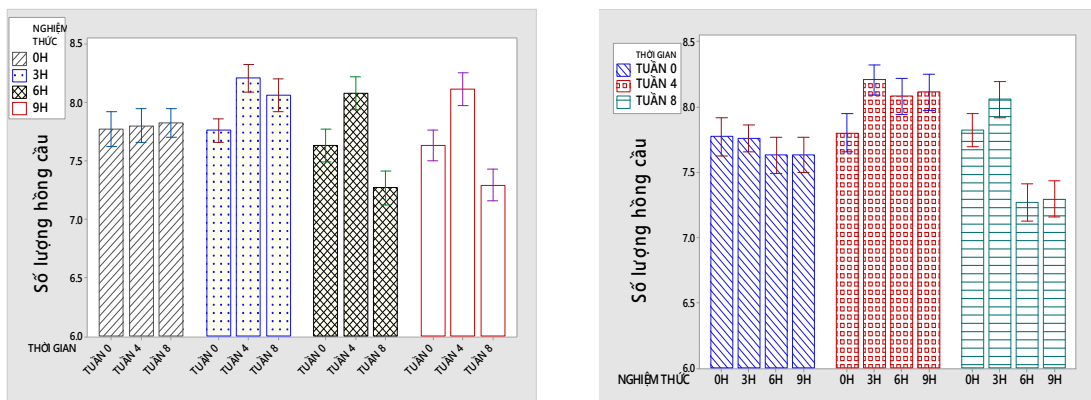
Kết quả Bảng 2 cho thấy: số lượng tế bào hồng cầu và bạch cầu chuột ở lần lấy máu đầu tiên (trước khi đưa vào bố trí thí nghiệm) ở lô đối chứng và các nghiệm thức dao động trong khoảng 7,63-7,77x10⁶; 6,03-6,13x10³ tế bào/mm³ máu, tương ứng (p > 0,05). Như vậy, số chuột đưa vào thí nghiệm có chỉ số hồng cầu và bạch cầu ban đầu tương đương nhau và nằm trong khoảng giới hạn tham chiếu (7-11x10⁶ tế bào/mm³ và 2-10x10³ tế bào/mm³, tương ứng) (James, 2007).

Riêng số lượng tiểu cầu chuột tại lần lấy máu đầu tiên ở lô đối chứng và các nghiệm thức trung bình dao động gần bằng nhau trong khoảng 277,50-283,17x10³ TB/mm³ máu (p>0,05). Số lượng tiểu cầu nằm dưới ngưỡng tham chiếu là 300-1000x10³ tế bào/mm³ (McGarry, Protheroe, & Lee, 2010). Kết quả này khẳng định các con 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.

3.1.1. Tế bào hồng cầu

Tại các ngưỡng thời gian chiếu UVA khác nhau, số lượng hồng cầu chuột có sự thay đổi rõ rệt: Sau 4 tuần thí nghiệm (lần lấy máu thứ 2), số lượng hồng cầu chuột tăng ở các nghiệm thức với các ngưỡng thời gian chiếu UVA so với lô đối chứng (không chiếu UV, p< 0,01), nhưng ở cả 3 nghiệm thức này sự khác biệt chưa có ý nghĩa về mặt thống kê (p>0,05); sau 8 tuần thí nghiệm (lần lấy máu thứ 3), số lượng hồng cầu chuột ở nghiệm thức 3 giờ vẫn tăng so với lô đối chứng (8,06x10⁶ so với 7,82x10⁶ tế bào/mm³ máu, p<0,01), đồng thời cao cách biệt so với 2 nghiệm thức còn lại (8,06x10⁶ so với 7,27x10⁶ và 7,20x10⁶ tế bào/mm³ máu, tương ứng, p < 0,01), trong khi đó ở 2 nghiệm thức 6 giờ và 9

giờ, số lượng hồng cầu tương đương nhau ($p > 0,05$). Từ kết quả Bảng 2, khi xem xét cả hai yếu tố (lần lấy máu và ngưỡng thời gian chiếu UVA) lên số lượng hồng cầu chuột, kết quả xử lý thống kê được thể hiện ở biểu đồ Hình 2.



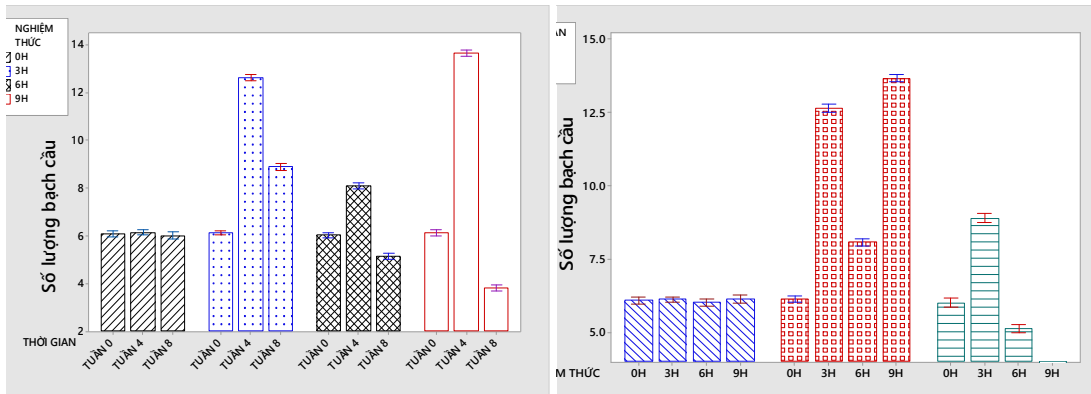
Hình 2. Biểu đồ thể hiện sự tương quan của ngưỡng thời gian chiếu lên số lượng hồng cầu chuột qua các tuần nuôi

Biểu đồ Hình 2 cho thấy, số lượng hồng cầu ở các ngưỡng chiếu UVA cũng có khác biệt qua các đợt lấy máu, khác biệt này đều có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy rất cao ($p < 0,001$). Nghĩa là, việc kéo dài thời gian chiếu ở các ngưỡng chiếu UVA khác nhau đều có tác động đến sự thay đổi số lượng hồng cầu của chuột. Sau 4 tuần chiếu UVA, số lượng hồng cầu chuột đều tăng so với không chiếu UVA ($p < 0,01$), ngưỡng chiếu UVA càng dài (tăng thời gian chiếu), số lượng hồng cầu chuột càng có xu hướng giảm nhẹ dần từ 3 giờ sang 6 giờ chiếu và ổn định ở mức 9 giờ chiếu ($p > 0,05$). Sau 8 tuần chiếu UVA, số lượng hồng cầu chuột giảm cách biệt có ý nghĩa thống kê ở mức chiếu 6 giờ và 9 giờ so với ngưỡng chiếu 3 giờ và so với lô không chiếu UVA ($p < 0,01$).

Tóm lại, nhân tố ngưỡng thời gian chiếu UVA đã ảnh hưởng đến số lượng hồng cầu chuột: Có xu hướng tăng sau 4 tuần thí nghiệm và giảm cách biệt sau 8 tuần thí nghiệm, đặc biệt ở nghiệm thức 6 giờ và 9 giờ.

3.1.2. Tế bào bạch cầu

Tại các ngưỡng thời gian chiếu UVA khác nhau, số lượng bạch cầu chuột có sự thay đổi rõ rệt: Sau 4 tuần thí nghiệm (lần lấy máu thứ 2), số lượng bạch cầu tăng rõ rệt ở các nghiệm thức so với lô đối chứng ($p < 0,001$) và cả 3 nghiệm thức này sự khác biệt đều có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$), trong đó nghiệm thức 3 giờ và 9 giờ có số lượng bạch cầu tăng gấp đôi so với lô đối chứng ($12,63 \times 10^3$ và $13,66 \times 10^3$ so với $6,14 \times 10^3$, tương ứng). Sau 8 tuần thí nghiệm (lần lấy máu thứ 3), số lượng bạch cầu ở 3 nghiệm thức giảm rõ rệt so với ở lần lấy máu thứ hai và so với thời điểm ban đầu thí nghiệm; sự giảm số lượng bạch cầu theo sự tăng dần ngưỡng thời gian chiếu ($p < 0,001$). Từ kết quả Bảng 2, khi tiến hành phân tích cả hai yếu tố là lần lấy máu và ngưỡng thời gian chiếu lên số lượng bạch cầu chuột, kết quả xử lý thống kê thể hiện ở biểu đồ Hình 3.



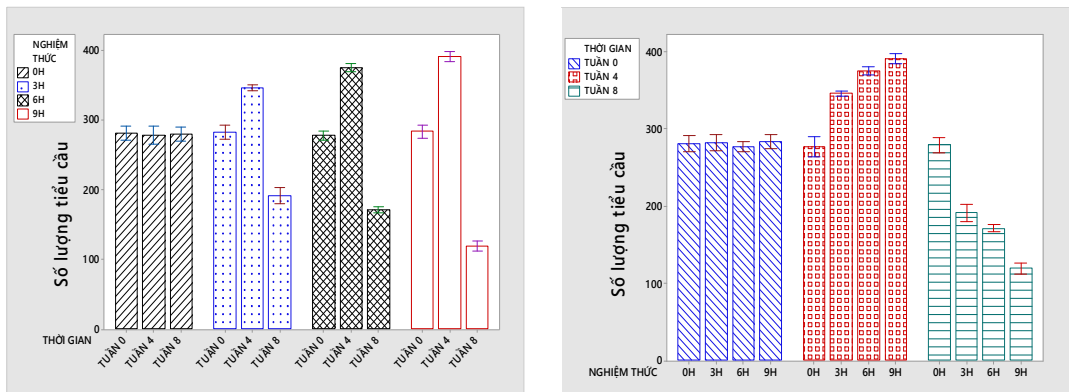
Hình 3. Biểu đồ thể hiện sự tương quan của ngưỡng thời gian chiếu lên số lượng bạch cầu chuột qua các tuần nuôi

Biểu đồ Hình 3 cho thấy: số lượng bạch cầu ở các ngưỡng chiếu UVA cũng có khác biệt qua các đợt lấy máu, khác biệt này đều có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy rất cao ($p < 0,001$). Nghĩa là, việc kéo dài thời gian chiếu ở các ngưỡng chiếu UVA khác nhau đều có tác động đến sự thay đổi số lượng bạch cầu của chuột. Sau 4 tuần chiếu UVA, số lượng bạch cầu chuột đều tăng so với không chiếu UVA ($p < 0,001$), ngưỡng chiếu UVA càng dài (tăng thời gian chiếu), số lượng bạch cầu chuột càng có xu hướng tăng mạnh từ khi chiếu 3 giờ, giảm khi chiếu 6 giờ và tiếp tục tăng mạnh trở lại ở mốc 9 giờ chiếu ($p < 0,001$). Sau 8 tuần chiếu UVA, số lượng bạch cầu chuột giảm cách biệt có ý nghĩa thống kê ở mốc chiếu 6 giờ và 9 giờ so với ngưỡng chiếu 3 giờ và so với lô không chiếu UVA ($p < 0,01$).

Tóm lại, nhân tố ngưỡng thời gian chiếu UVA đã ảnh hưởng đến số lượng bạch cầu chuột sau 8 tuần thí nghiệm: Số lượng bạch cầu chuột tăng cách biệt sau 4 tuần thí nghiệm và giảm tuyến tính theo thứ tự tăng dần ngưỡng thời gian chiếu sau 8 tuần thí nghiệm.

3.1.3. Tế bào tiểu cầu

Tại các ngưỡng thời gian chiếu UVA khác nhau, số lượng tiểu cầu chuột có sự thay đổi rõ rệt: Sau 4 tuần thí nghiệm (lần lấy máu thứ hai), số lượng tiểu cầu tăng tuyến tính theo thứ tự tăng dần các ngưỡng thời gian chiếu UVA và tăng so với lô đối chứng ($p < 0,001$). Sau 8 tuần thí nghiệm (lần lấy máu thứ ba), số lượng tiểu cầu ở 3 nghiệm thức giảm rõ rệt theo thứ tự tăng dần các ngưỡng thời gian chiếu UVA ($p < 0,001$), đồng thời giảm cách biệt so với thời điểm ban đầu thí nghiệm (lần lấy máu thứ nhất) và so với sau 4 tuần thí nghiệm (lần lấy máu thứ hai) với độ tin cậy rất cao ($p < 0,001$). Cụ thể, lô 9 giờ giảm 2,34 lần; lô 6 giờ giảm 1,6 lần và lô 3 giờ giảm 1,46 lần so với lô không chiếu, tương ứng. Từ kết quả Bảng 2, khi tiến hành phân tích cả hai yếu tố là lần lấy máu và ngưỡng thời gian chiếu lên số lượng tiểu cầu chuột, kết quả xử lý thống kê thể hiện ở biểu đồ Hình 4.



Hình 4. Biểu đồ thể hiện sự tương quan của ngưỡng thời gian chiếu lên số lượng tiểu cầu chuột qua các tuần nuôi

Từ biểu đồ Hình 4 cho thấy, số lượng tiểu cầu ở các ngưỡng chiếu UVA qua các đợt lấy máu có sự khác biệt và sự khác biệt này đều có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy rất cao ($p < 0,001$). Nghĩa là, việc kéo dài thời gian chiếu ở các ngưỡng chiếu UVA khác nhau đều có tác động đến sự thay đổi số lượng tiểu cầu của chuột. Ở các ngưỡng chiếu sáng UVA, tiểu cầu tăng rõ rệt sau 4 tuần nhưng lại giảm sau 8 tuần và giảm mạnh ở hai nghiệm thức 6 giờ và 9 giờ. Qua đó, thấy được việc kéo dài thời gian chiếu ở các ngưỡng chiếu UVA khác nhau đã ảnh hưởng đến số lượng tiểu cầu chuột qua các đợt thí nghiệm.

Tóm lại, nhân tố ngưỡng thời gian chiếu UVA đã ảnh hưởng đến số lượng tiểu cầu chuột sau 8 tuần thí nghiệm: số lượng tiểu cầu tăng theo sự tăng thời gian chiếu sau 4 tuần và giảm theo sự tăng thời gian chiếu sau 8 tuần.

Bàn luận:

Đối với hồng cầu, thí nghiệm của chúng tôi sau 8 tuần cho thấy: số lượng hồng cầu chuột tăng khi chiếu UVA 3 giờ/ngày, nhưng giảm khi tăng ngưỡng thời gian chiếu UVA lên 6 giờ và 9 giờ/ngày, đặc biệt là ở nghiệm thức 6 giờ/ngày. Theo kết quả của một số tác giả như Svobodova và cộng sự (2011), Turker (2014) và Yazdi và cộng sự (2016), khi chiếu UVC lên chuột cũng như mẫu máu sau một khoảng thời gian ngắn từ 3 phút đến 15 ngày đều có xu hướng làm tăng số lượng hồng cầu (Svobodová et al., 2011; Tekin, Turker, Guven, & Yel, 2016; Yazdi, Jaafar, & Abdullah, 2016). Khi chiếu tia UV từ 30 đến 45 ngày, số lượng hồng cầu giảm (Broucek, & Kovalcik, 1989; Turker, 2014). Theo một số công bố cho thấy, UV có thể làm tăng enzyme catalase (CAT) và SOD (superoxid dismutase) – hai trong số enzyme có vai trò chống oxi hóa trong hồng cầu (Mulero et al., 2008), hoặc có thể làm giảm CAT (Krotz, Sohn, & Pohl, 2004; Svobodová et al., 2011). Khi CAT, SOD tăng, làm cho việc chống oxi hóa trong hồng cầu bị ảnh hưởng, sinh ra nhiều gốc tự do, có thể điều này làm cho số lượng hồng cầu tăng khi bị tác động của tia UV trong một khoảng thời gian nhất định. Tuy nhiên, tác nhân UV quá dài hoặc quá cao sẽ làm cho CAT, SOD giảm, từ đó có thể góp phần làm ảnh hưởng đến số lượng hồng cầu. Mặt khác, theo nghiên cứu của Sanford, dưới tác dụng của tia UV có thể dẫn đến làm tăng nhẹ hoặc giảm nhẹ số lượng hồng cầu ở trẻ em. Theo Sanford, dưới tác dụng của UV, hàm

lượng Hb tăng do giảm thể tích máu thông qua sự mất nước ở những ngày đầu đời, từ đó làm tăng số lượng hồng cầu (Sanforn, 1928). Khi chiếu UV trong khoảng thời gian nhất định (60-300 phút) làm giảm các ion K^+ ở tế bào hồng cầu, làm thay đổi cấu trúc bán thấm của màng, ảnh hưởng đến quá trình chuyển hóa nucleotid adenine, ATP giảm trong khi ADP, AMP và adenine tăng; trong điều kiện nhược trương, UV làm tăng sự trao đổi ion Na^+ và K^+ , từ đó làm tăng chỉ số hematocrit, nghĩa là số lượng hồng cầu tăng (theo Kabat, 1976 trích từ Hamblin, 2017) (Hamblin, 2017; Kabat, Sysa, Zakrzewska, & Leyko, 1976). Ngoài ra, khi quan sát mẫu nhuộm lách chuột đã qua chiếu UV (xem mục 3.3.3), dễ dàng thấy rằng mô học lách đã bị tổn thương ít hay nhiều (tùy vào ngưỡng thời gian chiếu UV), từ đó, cho thấy việc hồng cầu bị thay đổi về số lượng cũng hoàn toàn hợp lí. Bởi theo đánh giá của Crosby, lá lách có các chức năng như tạo hồng cầu, ảnh hưởng đến sản xuất hồng cầu và thậm chí là tiêu hủy hồng cầu già (Crosby, 1959). Như vậy, kết quả của đề tài này có xu hướng tăng số lượng hồng cầu cũng có thể do tác động của UVA ở ngưỡng chiếu 3 giờ, nhưng sang ngưỡng chiếu 6 giờ và 9 giờ, số lượng hồng cầu giảm mạnh.

Đối với bạch cầu, sau 4 tuần thí nghiệm, số lượng bạch cầu chuột tăng cách biệt so với lô không chiếu UVA; giảm cách biệt so với lô đối và giảm chứng tuyến tính theo thứ tự tăng ngưỡng thời gian chiếu sau 8 tuần thí nghiệm. Theo kết quả của Svobodova và cộng sự (2011), số lượng bạch cầu tăng cách biệt sau khi chiếu UVA 4 giờ và 24 giờ so với lô không chiếu (Svobodová et al., 2011). Trong khi đó, kết quả của Turker (2014) cho thấy số lượng bạch cầu tăng cách biệt khi chiếu UVC 7 ngày so với lô không chiếu, nhưng khi tăng ngưỡng thời gian chiếu lên 15 ngày thì số lượng bạch cầu giảm (tương đương với lô không chiếu), tiếp tục tăng ngưỡng thời gian chiếu, số lượng bạch cầu tăng tương ứng với số lượng ghi nhận được ở mốc 15 ngày chiếu (Turker, 2014). Sự tăng giảm số lượng bạch cầu không tuân thủ theo một quy luật nhất định, điều này có thể do tác động của tia UV đã xâm nhập sâu vào lớp hạ bì, gây ảnh hưởng đến các mạch máu (Svobodová et al., 2011), điều đó ảnh hưởng đến số lượng bạch cầu. Cơ chế chi tiết của quá trình này hiện nay vẫn chưa rõ.

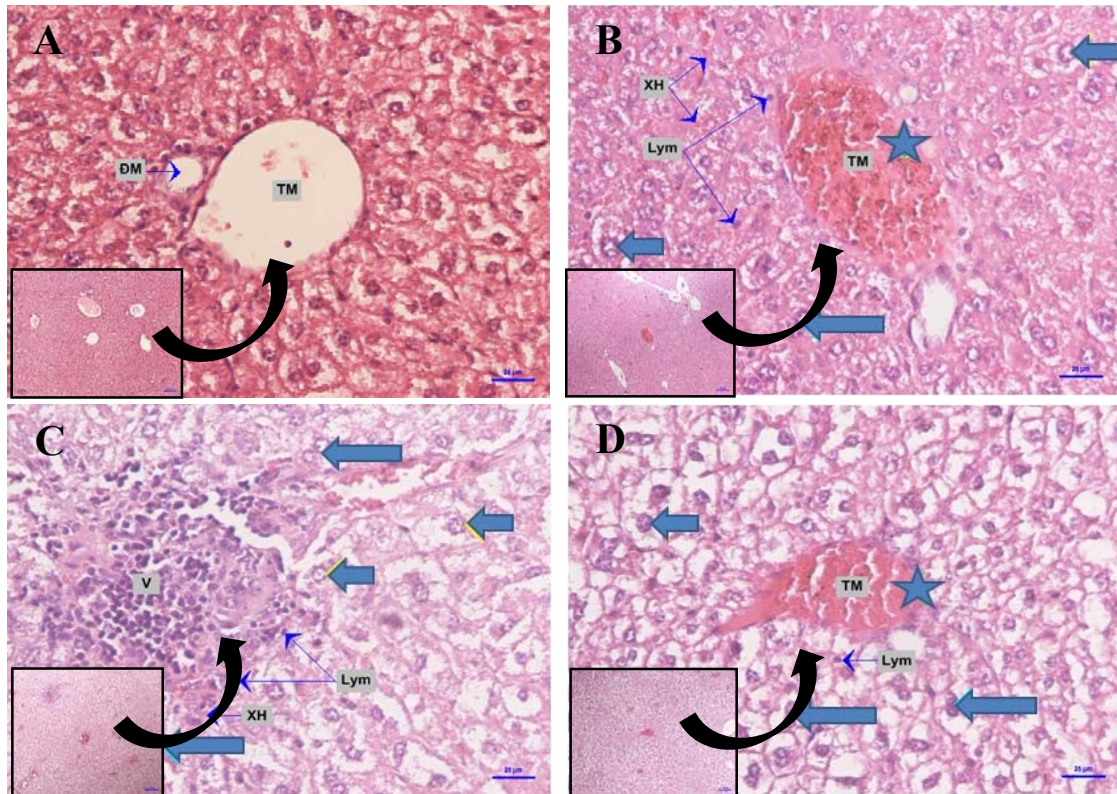
Đối với tiểu cầu, tương tự như bạch cầu, sau 4 tuần thí nghiệm, số lượng có xu hướng tăng tuyến tính theo thứ tự tăng dần ngưỡng thời gian chiếu; nhưng sau 8 tuần thí nghiệm thì ngược lại, giảm tuyến tính theo thứ tự tăng dần ngưỡng thời gian chiếu. Kết quả của Svobodova và cộng sự (2011) và Yazdi (2016) cho thấy số lượng tiểu cầu giảm sau khi chiếu UVA 4 giờ và 24 giờ, UVC 3 phút (Svobodová et al., 2011; Yazdi et al., 2016). Sự giảm tiểu cầu được cho là liên quan đến quá trình diễn ra bên trong cơ thể dưới tác dụng của tia UV (Krotz et al., 2004; Svobodová et al., 2011). Theo Krotz và cộng sự (2004), sự hoạt động của tiểu cầu: sự kích hoạt tiểu cầu, sự kết dính nội mô mạch máu, hoặc sự kết chùm đều liên quan đến RONS (reactive oxygen and nitrogen species – gốc oxi hóa tự do và gốc NO hóa tự do) (Krotz et al., 2004). Chính sự kết hợp của tia UV và RONS làm cho tế bào dư thừa RONS và thiếu hụt các chất chống oxi hóa. Theo cách này, tia UV đã làm thay đổi thành mạch và tiếp đó ảnh hưởng đến chức năng, số lượng tiểu cầu (Hamblin, 2017; Svobodová et al., 2011).

Tóm lại, ngưỡng thời gian chiếu UVA đã ảnh hưởng tới sự thay đổi số lượng tế bào máu ở chuột nhất trắng: Số lượng hồng cầu tăng mạnh sau 4 tuần và giảm mạnh sau 8 tuần (đặc biệt là tại mốc 6 và 9 giờ); số lượng bạch cầu tăng không theo quy luật sau 4 tuần và giảm theo sự tăng dần thời gian chiếu sau 8 tuần; số lượng tiểu cầu tăng theo sự tăng thời gian chiếu sau 4 tuần và giảm theo sự tăng thời gian chiếu sau 8 tuần. Kết quả thí nghiệm này được xem như là một ghi nhận ban đầu, là cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo ở mức sâu hơn trong lĩnh vực này.

3.3. Ảnh hưởng lên một số nội quan

3.3.1. Ảnh hưởng lên gan

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tia UVA lên hình thái giải phẫu gan chuột nhất trắng được đánh giá thông qua cấu tạo vi thể gan, cụ thể là đánh giá về mô học được thể hiện qua Hình 5.



Hình 5. Cấu tạo vi thể gan chuột nhất trắng

sau 60 ngày thí nghiệm ở các nghiệm thức (X40); H&E

A: Đối chứng; **B:** Ngưỡng chiếu 3 giờ; **C:** Ngưỡng chiếu 6 giờ; **D:** Ngưỡng chiếu 9 giờ

TM: Tĩnh mạch; DM: động mạch gan; Lym: tế bào lympho; XH: xuất huyết; V: ổ viêm; Mũi tên nhỏ: nhân to; mũi tên to: đa nhân; ngôi sao: xung huyết

Thông qua kết quả mẫu nhuộm mô gan, ta thấy có sự khác biệt giữa 4 nghiệm thức. Ở nghiệm thức đối chứng (Hình A), có thể thấy rõ cấu tạo bên trong của gan bình thường như tĩnh mạch, động mạch gan và không có dấu hiệu bất thường nào cho thấy gan bị

thương tổn. Trong khi đó, tại các nghiệm thức còn lại, đều xuất hiện nhiều tế bào lympho rải rác ở các tế bào gan, quanh động mạch và tĩnh mạch gan và tạo thành ổ viêm lớn (ngưỡng chiếu 6 giờ). Bên cạnh đó, mẫu mô gan có hiện tượng xuất huyết và xung huyết khá nhiều, nhân của tế bào gan khá lớn và còn có hiện tượng đa nhân. Ngoài ra, cấu trúc của màng tế bào giữa các tế bào đang bị phá hủy từ từ (ở mức độ nhẹ) và có thể dự đoán rằng nếu thí nghiệm được tiến hành trong thời gian dài hơn thì toàn bộ cấu trúc màng và tế bào chất sẽ bị phá hủy hoàn toàn. Các dấu hiệu tổn thương này ở nghiệm thức chiếu sáng 6 giờ và 9 giờ đều nặng hơn nghiệm thức 3 giờ; tuy nhiên, giữa chúng khó phân biệt được độ nặng nhẹ.

Bàn luận:

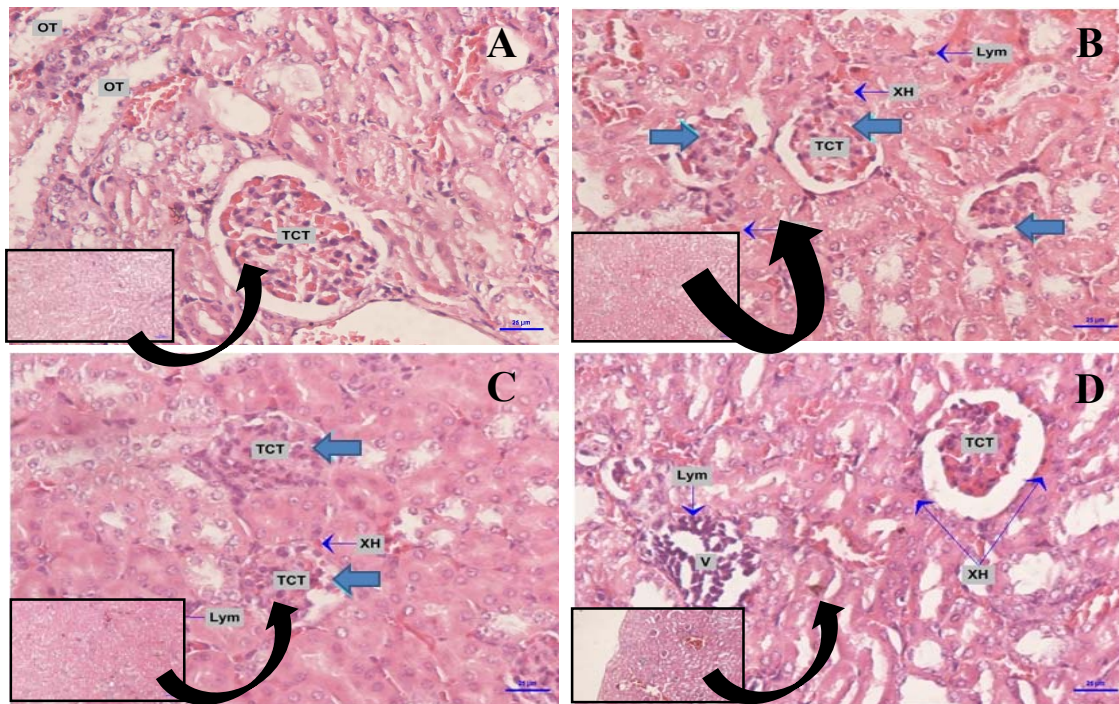
Tổn thương màng tế bào do UVA gây ra trở nên rất quan trọng trong các phản ứng sinh học (McMillan et al., 2008). Những thay đổi về tính thấm và chức năng của màng đã được phát hiện ra từ lâu và người ta cũng tin rằng sự peroxy hóa lipid màng chính là nguyên nhân (Moysan et al., 1993). Do đó, khi chiếu UVA trong một thời gian dài sẽ gây phá hoại nghiêm trọng đến màng tế bào gan cũng như các nội quan khác.

Trong thực tế, chỉ những liều UV cực cao mới dẫn đến hoại tử mô gan (Pohle, & Bunting, 1932), vì thế suy ra khi tác dụng với liều thấp hơn, mô gan cũng sẽ có những thay đổi nhất định nhưng chưa đến mức quá nghiêm trọng. Bên cạnh đó, UVA có khả năng thay đổi số lượng tế bào máu, đồng thời, nó cũng làm thay đổi đặc tính oxi hóa của gan và hồng cầu (Svobodová et al., 2011).

Hiện nay, đã có rất nhiều công trình nghiên cứu ảnh hưởng của tia cực tím (tia UV) lên da, nhưng những báo cáo liên quan đến ảnh hưởng của chúng lên mô không phải da thật sự còn quá ít. Mặc dù chúng ta đều biết tia cực tím đã được nghiên cứu là làm thay đổi hoạt tính superoxide dismutase (SOD) và glutathione (GSH) trong gan cũng như là những vấn đề gây ra stress oxi hóa ở da, gan và máu của chuột không lông. Nhìn chung, chúng gây độc cho cơ thể sinh vật vì làm thay đổi cấu trúc của các đại phân tử thiết yếu (Navarro et al., 1997; Park et al., 2014; Svobodová et al., 2011). Do đó, cũng có thể thấy rằng gan đã có những tổn thương nhất định trong quá trình tiếp xúc với UV trong thời gian dài, những hình ảnh ổ viêm hay xuất huyết trong cấu tạo vi thể của gan tuy chưa được giải thích rõ ràng về nguyên nhân nhưng nó cũng sẽ là một ghi nhận có độ tin cậy khá cao cho việc tìm hiểu sâu hơn về ảnh hưởng của tia cực tím đối với các nội quan khác bên trong cơ thể chuột hoặc trong tương lai có thể nghiên cứu trên người.

3.3.2. Ảnh hưởng lên thận

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tia UV lên hình thái giải phẫu thận chuột nhắt trắng được đánh giá thông qua cấu tạo vi thể gan, cụ thể là đánh giá về mô học được thể hiện qua Hình 6.



Hình 6. Cấu tạo vi thể thận chuột nhắt trắng sau 60 ngày thí nghiệm ở các nghiệm thức (X40); H&E

A: Đối chứng; **B:** Ngưỡng chiếu 3 giờ; **C:** Ngưỡng chiếu 6 giờ; **D:** Ngưỡng chiếu 9 giờ
TCT: tiểu cầu thận; OT: ống thận; Lym: tế bào lympho; XH: xuất huyết; Mũi tên to: tiểu cầu thận bị phá hủy

Khi quan sát hình ảnh mô thận theo phương pháp nhuộm H&E, ta sẽ thấy rõ được sự khác biệt giữa các nghiệm thức dưới ảnh hưởng của tia UV. Ở nghiệm thức đối chứng (Hình A), ta thấy mô thận không có dấu hiệu bất thường, có thể thấy rõ các cấu trúc như tiểu cầu thận, ống thận. Trong khi đó, ở các nghiệm thức 3, 6 và 9 giờ (Hình B, C, D, tương ứng) đã có sự xuất hiện của các tế bào lympho và tạo thành ổ viêm (Hình D). Hiện tượng xuất huyết cũng được tìm thấy ở hầu hết các mẫu nhuộm ở các nghiệm thức thí nghiệm. Bên cạnh đó, cấu trúc tế bào bên trong thận đang bị phá hủy từ từ, không còn nhận rõ cấu trúc ống thận và tiểu cầu thận (nghiệm thức 6 giờ và 9 giờ).

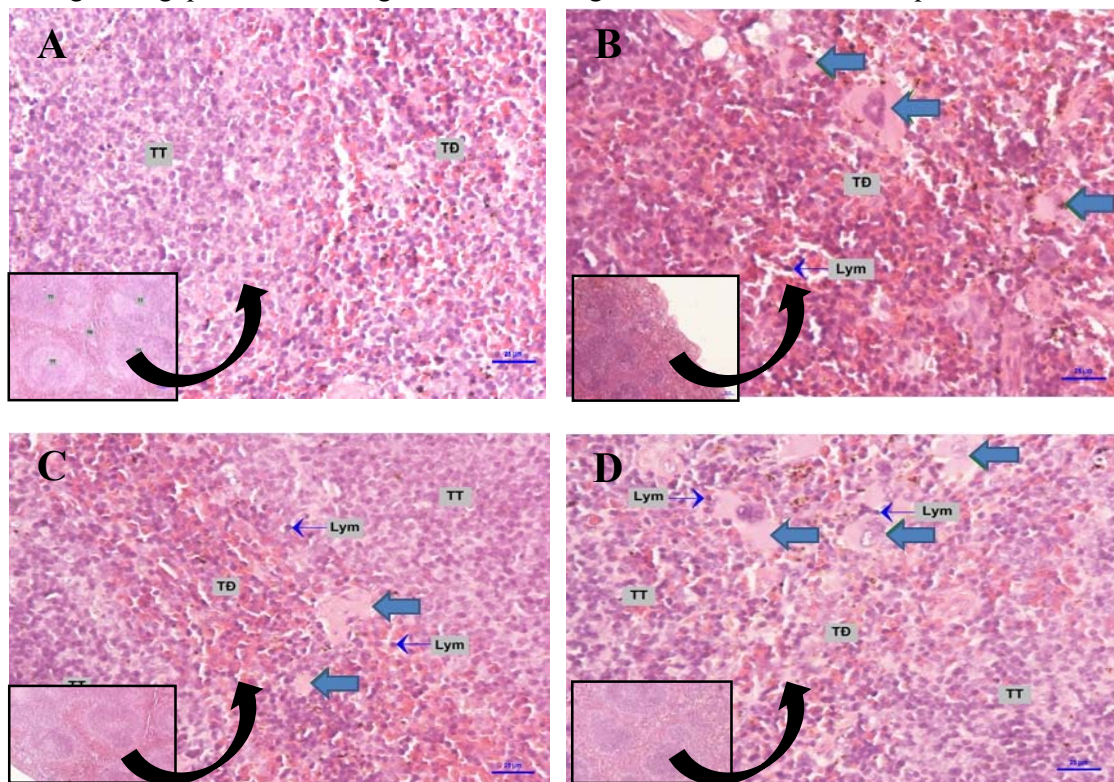
Bàn luận:

Dựa theo công trình nghiên cứu của Maldague (1969), chuột bị chiếu xạ bằng tia X có thể dẫn đến ung thư thận. Ung thư thận chỉ phát triển từ những tổn thương thận có thể quan sát được (Maldague, 1969). Có nghĩa là, khi tiếp xúc với tia cực tím, thận chuột sẽ bị những tổn thương nhất định mà con người có thể quan sát được và nếu tiếp xúc ở những liều chiếu cao hơn, có thể dẫn đến ung thư. Bên cạnh đó, đã có nghiên cứu cho thấy rằng khi chiếu xạ với liều X 02020.0 Gy, thận có dấu hiệu bị oxi hóa DNA ở phần ống và cầu thận. Từ 16 đến 24 tuần sau đó, sự thay đổi đã tiến triển thành xơ cứng cầu thận và teo ống thận (Robbins, Zhao, Davis, Toyokuni, & Bonsib, 2002). Thời gian chiếu UVC lên chuột

công (rat) đã ảnh hưởng đến cấu trúc của thận: Sau 14 ngày hình thành không bào ở ống lượn xa, sự trong suốt của các điện tử trong tế bào biểu mô quanh tiểu cầu thận, mao mạch giãn ra; sau 28 ngày, sự hình thành các nang ở ống thận và độ giãn nở của các mao mạch tăng lên; sau 60 ngày, xuất hiện hoại tử tế bào, các tế bào của ti thể, mao mạch, nội mô bị biến dạng (Türker, & Yel, 2014). Như vậy, kết quả của chúng tôi cũng cho thấy những tổn thương ở cấu trúc thận tăng dần theo ngưỡng thời gian chiếu UVA: tiểu cầu thận, ống thận bị phá hủy và xuất huyết trong mô thận. Những thay đổi về mức độ tổn thương cấu trúc bên trong thận có thể do dưới tác dụng của tia UVA theo ngưỡng thời gian đã phá vỡ cấu trúc tế bào và từ đó làm giảm chức năng của chúng (Somosy, 2000). Hiện nay vẫn chưa thấy dữ liệu nào công bố về ảnh hưởng của UVA lên mức độ tổn thương cấu trúc của thận ở chuột cũng như các động vật có vú khác. Hạn chế của nghiên cứu này là chưa khảo sát ảnh hưởng của UVA lên các cường độ chiếu khác. Vì vậy, các nghiên cứu ở mức độ sâu hơn cần thực hiện và khảo sát các cường độ UVA khác cần được bổ sung để làm rõ ảnh hưởng cấp tính cũng như mãn tính của UVA lên mô hình chuột cũng như các động vật có vú khác.

3.3.3. Ảnh hưởng lên lách

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tia UV lên hình thái giải phẫu lách chuột nhắt trắng được đánh giá thông qua cấu tạo vi thể gan, cụ thể là đánh giá về mô học được thể hiện qua Hình 7.



Hình 7. Cấu tạo vi thể lách chuột nhắt trắng sau 60 ngày thí nghiệm ở các ngưỡng chiếu (X40); H&E
A: Đối chứng; **B:** Ngưỡng chiếu 3 giờ; **C:** Ngưỡng chiếu 6 giờ; **D:** Ngưỡng chiếu 9 giờ
 TD: tủy đỏ; TT: tủy trắng; Lym: tế bào lympho; mũi tên to: xung huyết

Dựa vào kết quả phân tích mẫu mô lách bằng phương pháp nhuộm H&E, ta thấy rõ tia UVA cũng ảnh hưởng rất lớn đến mô lách. Ở nghiệm thức đối chứng, sự phân bố của tủy đỏ và tủy trắng một cách rõ ràng, không có dấu hiệu bất thường bên trong. Riêng ở các nghiệm thức thí nghiệm, cấu trúc này đều có sự thay đổi, ở nhiều vùng quan sát, không còn phân biệt rõ giữa vùng tủy trắng, tủy đỏ và vùng tủy đỏ có dấu hiệu lan rộng hơn. Đồng thời, các tế bào mô lách xuất hiện các vùng xung huyết rõ rệt, nếu quan sát kỹ đó là các vùng có màu hồng nhạt hoặc đôi khi có cả xác bạch cầu hoặc hồng cầu ở bên trong. Bên cạnh đó, ở cả vùng tủy đỏ và tủy trắng đều có sự xuất hiện rải rác của các tế bào lympho, bắt màu đen. Kết quả này càng thể hiện rõ ở nghiệm thức 6 giờ và 9 giờ so với 3 giờ. Những dấu hiệu trên hoàn toàn phù hợp với công trình nghiên cứu của tác giả Doan Suy Nghi (2016) khi nhận định về ảnh hưởng của tia UV đối với lách chuột nhắt trắng: chiếu tia tử ngoại liều 300 lux, 600 lux thấy hiện tượng tan huyết; chiếu tia tử ngoại liều 800 lux, 1000 lux quan sát thấy hiện tượng xung huyết (Doan, 2016). Tác giả này chỉ chiếu tia tử ngoại trong 30 phút cho một cường độ, mà không có sự khảo sát về thời gian chiếu UV. Hiện nay, vẫn chưa thấy có công bố nào về ảnh hưởng của tia UV nói chung và UVA nói riêng về cấu trúc giải phẫu của lách ở động vật có vú. Vì vậy, kết quả của nghiên cứu này mới chỉ dừng ở mô tả và có thể xem là một ghi nhận ban đầu. Cần có những nghiên cứu ở mức sâu hơn về ảnh hưởng của UVA lên lách của động vật có để có kết luận rõ ràng hơn.

Tóm lại, có thể nhận định là dưới tác dụng của các ngưỡng thời gian chiếu UVA khác nhau đã làm tổn thương đến cấu trúc của gan, thận, lách chuột. Mức độ tổn thương từ nhẹ: xuất hiện tế bào lympho, xung huyết (ngưỡng chiếu 3 giờ) sang nặng xung huyết lan rộng, xuất hiện nhiều tế bào lympho, có nhiều ổ viêm, hoại tử (ngưỡng chiếu 6 và 9 giờ).

4. Kết luận

Các ngưỡng thời gian chiếu UVA (3, 6 và 9 giờ) ở cường độ 24 mJ/cm²/phút trong 8 tuần liên tục đã ảnh hưởng tới khối lượng, tế bào máu và nội quan chuột: khối lượng chuột có xu hướng giảm theo sự tăng dần thời gian chiếu; số lượng hồng cầu tăng mạnh sau 4 tuần và giảm mạnh sau 8 tuần (đặc biệt là tại mốc 6 và 9 giờ); số lượng bạch cầu tăng không theo quy luật sau 4 tuần và giảm theo sự tăng dần thời gian chiếu sau 8 tuần; số lượng tiểu cầu tăng theo sự tăng thời gian chiếu sau 4 tuần và giảm theo sự tăng thời gian chiếu sau 8 tuần; cấu trúc của gan, thận, lách bị tổn thương từ nhẹ (xuất hiện tế bào lympho, xung huyết) ở ngưỡng chiếu 3 giờ sang nặng (xung huyết lan rộng, xuất hiện nhiều tế bào lympho, có nhiều ổ viêm, hoại tử) ở ngưỡng chiếu 6 và 9 giờ.

Cần tiếp tục thực hiện các nghiên cứu về ảnh hưởng của các cường độ UVA lên khối lượng, tế bào máu, các nội quan chuột để có những kết luận chặt chẽ hơn về tác động của UVA lên 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 và 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.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Blum, H. F., Grady, H. G., & Kirby-Smith, J. S. (1943). Effect of ultraviolet radiation on body weight of mice. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 138(2), 378-384. doi: 10.1152/ajplegacy.1943.138.2.378
- Broucek, J., & Kovalcik, K. (1989). The effect of excessive artificial UV radiation on the measurement of blood parameters and phagocytosis in calves. *DTW. Deutsche tierärztliche Wochenschrift*, 96(6), 318-320.
- Crosby, W. H. (1959). Normal functions of the spleen relative to red blood cells: a review. *Blood*, 14(4), 399-408.
- Doan, S. N. (2016). Study on the structural changes of the liver, spleen white mice (swiss) under the effect of ultraviolet [Nghien cuu su thay doi cau truc cua mo, gan, lach chuoat nhac trang (Swiss) duoi tac dung cua tia tu ngoai]. *Journal of Science and Technology, Hue University of Sciences*, 4(1), 73-82.
- Ellinger, F. (1938). Acetonitril Test for Thyroid According to Reid Hunt and Irradiation With Ultraviolet Light. *Radiologica*, 3, 195.
- Ellinger, F. (1939). The Influence of Ultra-violet Rays on the Body Weight. *Radiology*, 32(2), 157-160. doi: 10.1148/32.2.157
- Geldenhuis, S., Hart, P. H., Endersby, R., Jacoby, P., Feelisch, M., Weller, R. B., . . . & Gorman, S. J. D. (2014). Ultraviolet radiation suppresses obesity and symptoms of metabolic syndrome independently of vitamin D in mice fed a high-fat diet. *63(11)*, 3759-3769.
- Hamblin, M. R. (2017). Ultraviolet Irradiation of Blood: “The Cure That Time Forgot”? *Ultraviolet Light in Human Health, Diseases and Environment* (pp. 295-309): Springer.
- James G. Fox, S. W. B., Muriel, T. Davisson, Christian, E. Newcomer, Fred, W. Quimby, & Abigail L. Smith,. (2007). *The Mouse in Biomedical Research* (Vol. III): Elsevier Inc.
- Kabat, I. A., Sysa, J., Zakrzewska, I., & Leyko, W. (1976). Effect of UV-irradiation of shifts of energy-rich phosphate compounds: ADP, ATP and AXP in human red blood cells represented by a trigonometrical polynomial. *Zentralbl Bakteriolog Orig B*, 162(3-4), 393-401.
- Komatsu, T., Sasaki, S., Manabe, Y., Hirata, T., & Sugawara, T. (2017). Preventive effect of dietary astaxanthin on UVA-induced skin photoaging in hairless mice. *PLoS ONE*, 12(2), e0171178. doi: 10.1371/journal.pone.0171178
- Krotz, F., Sohn, H. Y., & Pohl, U. (2004). Reactive oxygen species: players in the platelet game. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 24(11), 1988-1996. doi: 10.1161/01.ATV.0000145574.90840.7d
- Maldague, P. (1969). *Comparative study of experimentally induced cancer of the kidney in mice and rats with X-rays*. Paper presented at the Proceedings of a symposium on radiation-induced cancer organized by The international atomic energy agency in collaboration with the world health organization and held in Athens, 28 april - 2 May 1969
- McGarry, M. P., Protheroe, C. A., & Lee, J. J. (2010). *Mouse hematology*: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- McMillan, T., Leatherman, E., Ridley, A., Shorrocks, J., Tobi, S., Whiteside, J. J. J. o. P., & Pharmacology. (2008). Cellular effects of long wavelength UV light (UVA) in mammalian cells. *60(8)*, 969-976.
- Moysan, A., Marquis, I., Gaboriau, F., Santus, R., Dubertret, L., & Morlière, P. J. J. o. i. d. (1993). Ultraviolet A-induced lipid peroxidation and antioxidant defense systems in cultured human skin fibroblasts. *100(5)*, 692-698.

- Mulero, M., Rodriguez-Yanes, E., Nogues, M. R., Giral, M., Romeu, M., Gonzalez, S., & Mallol, J. (2008). Polypodium leucotomos extract inhibits glutathione oxidation and prevents Langerhans cell depletion induced by UVB/UVA radiation in a hairless rat model. *Exp Dermatol*, 17(8), 653-658. doi: 10.1111/j.1600-0625.2007.00684.x
- Navarro, J., Obrador, E., Pellicer, J. A., Aseni, M., Vina, J., & Estrela, J. M. (1997). Blood glutathione as an index of radiation-induced oxidative stress in mice and humans. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Free Radic Biol Med*, 22(7), 1203-1209. doi: 10.1016/s0891-5849(96)00554-0
- 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
- Park, H. M., Shon, J. C., Lee, M. Y., Liu, K. H., Kim, J. K., Lee, S. J., & Lee, C. H. (2014). Mass spectrometry-based metabolite profiling in the mouse liver following exposure to ultraviolet B radiation. *PLoS ONE*, 9(10), e109479. doi: 10.1371/journal.pone.0109479
- Pillai, S., Oresajo, C., & Hayward, J. (2005). Ultraviolet radiation and skin aging: roles of reactive oxygen species, inflammation and protease activation, and strategies for prevention of inflammation-induced matrix degradation - a review. *Int J Cosmet Sci*, 27(1), 17-34. doi: 10.1111/j.1467-2494.2004.00241.x
- Pohle, E. A., & Bunting, C. J. A. R. (1932). Studies of the Effect of Roentgen Rays on the Liver Histological Changes in the Liver of Rats Following Exposure to Single Graded Doses of Filtered Roentgen Rays. *I3(2)*, 117-124.
- Robbins, M. E., Zhao, W., Davis, C. S., Toyokuni, S., & Bonsib, S. M. J. M. (2002). Radiation-induced kidney injury: a role for chronic oxidative stress?. *I3(2)*, 133-141.
- Sanford, H. N. (1928). Effect of Ultraviolet Light on the Blood of New-Born Infants: II. Erythrocytes and Hemoglobin. *American Journal of Diseases of Children*, 35(1), 9-13.
- Slominski, A. T., Zmijewski, M. A., Skobowiat, C., Zbytek, B., Slominski, R. M., & Steketeer, J. D. (2012). Sensing the environment: regulation of local and global homeostasis by the skin's neuroendocrine system. *Adv Anat Embryol Cell Biol*, 212, v, vii, 1-115.
- Somosy, Z. (2000). Radiation response of cell organelles. *Micron*, 31(2), 165-181.
- Svobodova, A., Walterova, D., & Vostalova, J. (2006). Ultraviolet light induced alteration to the skin. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 150(1), 25-38.
- Svobodová, A. R., Galandáková, A., Šiánská, J., dolezál, D., Ulrichová, J., & Vostálová, J. (2011). Acute exposure to solar simulated ultraviolet radiation affects oxidative stress-related biomarkers in skin, liver and blood of hairless mice. *Biol Pharm Bull*, 34(4), 471-479. doi: 10.1248/bpb.34.471
- Tekin, S., Turker, H., Guven, T., & Yel, M. (2016). The effects of ultraviolet C radiation on the ultrastructure of the liver cells of mole rats. *Ultrastruct Pathol*, 40(1), 51-56. doi: 10.3109/01913123.2015.1088909
- Turker, H. (2014). Haematological effects of ultraviolet-c radiation on swiss albino mice. *International Journal of Toxicology and Applied Pharmacology*, 4(1), 17-22.
- Türker, H., & Yel, M. (2014). Effects of ultraviolet radiation on mole rats kidney: A histopathologic and ultrastructural study. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 7(2), 182-187. doi: 10.1016/j.jrras.2014.02.004
- Verschooten, L., Claerhout, S., Van Laethem, A., Agostinis, P., & Garmyn, M. (2006). New strategies of photoprotection. *Photochem Photobiol*, 82(4), 1016-1023. doi: 10.1562/2006-04-27-ir-884.1

- Wang, L., Zhang, X., Li, Y. X., Xu, L. Q., Li, C. L., Zhang, Z. B., . . . & Li, Y. C. (2016). Aqueous Extract of *Clerodendranthus spicatus* Exerts Protective Effect on UV-Induced Photoaged Mice Skin. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 9623957. doi: 10.1155/2016/9623957
- Wondrak, G. T., Jacobson, M. K., & Jacobson, E. L. (2006). Endogenous UVA-photosensitizers: mediators of skin photodamage and novel targets for skin photoprotection. *Photochem Photobiol Sci*, 5(2), 215-237. doi: 10.1039/b504573h
- Yazdi, G. T., Jaafar, M. S., & Abdullah, W. Z. (2016). The Effects of Ultraviolet Light Irradiation on Hematological and Morphological Characteristics and Potassium Level of Human Blood for Transfusion Associated Graft Versus Host Disease Prevention. *Biomedical Technologies*, 3(3-4), 80-85.

**EFFECTS OF UVA LIGHT EXPOSURE ON THE BODY WEIGHT,
THE BLOOD CELLS AND INTERNAL ORGANS OF ALBINO MOUSE (*Mus musculus* var. *albino*)**
Nguyen Thi Thuong Huyen^{1*}, Bui Thi Kim Ngan², Truong Van Tri¹, Pham Van Ngot¹

¹ Ho Chi Minh City University of Education

² Tran Dai Nghia High School for the Gifted

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

Received: September 03, 2019; Revised: September 23, 2019; Accepted: September 29, 2019

ABSTRACT

In Vietnam, most of the studies on effects caused by UV lights have focused mainly on skin; especially, there has not published any paper on the effect of UVA lights on the body weight, the blood cells, and internal organs. This study aims to evaluate the influences of UVA light exposure on the body weight, the blood cells, and internal organs of albino mouse. Female mice (six-week-old) were shaved the hair of the dorsal skin which was then exposed to a single dose of UVA for 3, 6 and 9 hours to compare with the control mice for eight weeks. The results show that the weight body tended to decrease linearly when the exposure time is longer; the number of red blood cells increased sharply after 4 weeks and decreased sharply after 8 weeks (especially for those with 6 and 9 hour exposure time); the number of white blood cells increased irregularly after 4 weeks but decreased linearly after when the exposure time is longer; the number of platelets increased sharply after 4 weeks when the exposure time is longer but decreased sharply after 8 weeks when the exposure time is longer; the structures of the liver, kidney, and spleen were injured mildly for those with 3 hour exposure and badly injured for those with 6 and 9 hour exposure.

Keywords: Histopathology; Mice blood cell; *Mus musculus* var. *albino*; UVA; Ultraviolet radiation