

KHẢO SÁT MÔ HÌNH GÂY TỔN THƯƠNG THẬN CẤP BẰNG CISPLATIN Ở CHUỘT NHẮT TRẮNG

Nguyễn Ngọc Phụng¹, Mai Thành Chung² và Nguyễn Thị Thu Hương^{1*}

¹Khoa Dược - Điều dưỡng, Trường Đại học Tây Đô

²Trung tâm Sâm và Dược liệu TP. Hồ Chí Minh

(*Email: huongsam@hotmail.com)

Ngày nhận: 12/9/2020

Ngày phân biện: 20/10/2020

Ngày duyệt đăng: 29/11/2020

TÓM TẮT

Cisplatin được sử dụng hiệu quả trong hóa trị liệu nhiều loại bệnh ung thư. Tuy nhiên, độc tính trên thận là một trong những tác dụng phụ làm hạn chế việc sử dụng cisplatin với chuyển biến từ tổn thương thận cấp đến tổn thương thận mạn. Sử dụng cisplatin trong xây dựng mô hình gây tổn thương thận cấp trên chuột nhắt trắng là lựa chọn phù hợp do tính đơn giản và có nhiều điểm tương đồng với độc tính trên thận do cisplatin gây ra ở bệnh nhân ung thư. Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu khảo sát một mô hình thực nghiệm gây tổn thương thận cấp bằng cisplatin nhằm ứng dụng trong sàng lọc ứng viên có tác dụng bảo vệ thận từ dược liệu. Kết quả của đề tài đã chọn được liều tối ưu của cisplatin là 15 mg/kg, chuột được tiêm phúc mô sau 72 giờ có sự tăng nồng độ creatinin, BUN (blood ure nitrogen) trong huyết tương và tăng hàm lượng MDA (malondialdehyd) trong dịch đồng thể thận. Quercetin được sử dụng làm thuốc thử nghiệm, ở liều uống 30 mg/kg và 50 mg/kg đều làm giảm nồng độ creatinin, BUN trong huyết tương và hàm lượng MDA trong thận của chuột nhắt trắng bị gây tổn thương thận cấp bằng cisplatin, thể hiện tác dụng bảo vệ thận trước tổn thương oxy hoá gây bởi cisplatin.

Từ khoá: Cisplatin, tổn thương thận cấp, creatinin, BUN, MDA, quercetin

Trích dẫn: Nguyễn Ngọc Phụng, Mai Thành Chung và Nguyễn Thị Thu Hương, 2020. Khảo sát mô hình gây tổn thương thận cấp bằng cisplatin ở chuột nhắt trắng. Tạp chí Nghiên cứu khoa học và Phát triển kinh tế Trường Đại học Tây Đô. 10: 251-262.

*PGS.TS. Nguyễn Thị Thu Hương - Giảng viên Khoa Dược và Điều dưỡng, Trường Đại học Tây Đô

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo thống kê của cơ quan nghiên cứu ung thư quốc tế (International Agency for Research on Cancer – IARC), năm 2018 trên toàn thế giới có 18,08 triệu ca ung thư mới mắc với trên 9,5 triệu ca tử vong và Việt Nam ước tính có 164,671 nghìn ca mới mắc với trên 114,871 nghìn ca tử vong (Ferlay et al., 2018). Cisplatin (cis-diamine dichloroplatinum II) là một thuốc hóa trị ung thư có chứa platinum được chỉ định trong phác đồ hóa trị nhiều loại bệnh ung thư. Việc điều trị bằng cisplatin đã được chứng minh đạt hiệu quả nhưng kèm theo nhiều tác dụng phụ trên lâm sàng. Tồn thương thận bắt đầu vài ngày sau khi điều trị bằng cisplatin với sự gia tăng nồng độ creatinin, nitơ ure máu (BUN), gây tổn thương oxy hóa thận do làm tăng các gốc tự do và làm suy giảm các chất chống oxy hóa trong các tế bào thận (Shaloam et al., 2014).

Do tỷ lệ mắc bệnh ngày càng tăng, nhờ sự phát triển của khoa học nhiều mô hình động vật thực nghiệm đã được nghiên cứu để nắm bắt được cơ chế gây bệnh và đưa mô hình vào tìm kiếm, thử nghiệm các thuốc mới trong điều trị. Trước thực trạng điều trị ung thư bằng cisplatin hiện nay và tỉ lệ tổn thương thận cấp ngày càng tăng cao, việc mô phỏng mô hình gây tổn thương thận bằng cisplatin trên chuột nhắt trắng được lựa chọn do tính đơn giản và có nhiều điểm tương đồng với độc tính trên thận của cisplatin gây ra ở người. Do đó nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu ứng dụng mô hình thực nghiệm gây tổn thương thận cấp bằng cisplatin trong

sàng lọc thuốc mới có tác dụng bảo vệ thận.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Động vật thử nghiệm

Các thử nghiệm được thực hiện trên chuột nhắt trắng đực *Swiss albino* (*Mus musculus* var *albino*), 6 - 7 tuần tuổi, trọng lượng trung bình 28 ± 2 gam. Chuột và thực phẩm nuôi được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế - TP. Nha Trang. Chuột được để ổn định 1 tuần trong môi trường thí nghiệm (chu kỳ 12 giờ sáng - tối, $27 \pm 2^\circ\text{C}$ và độ ẩm tương đối $< 70\%$) trong lồng kích thước $25 \times 35 \times 15$ cm (8 chuột/lồng) với nước uống đầy đủ. Thử tích cho uống (p.o.) hoặc tiêm màng bụng (i.p.) là 10 ml/kg trọng lượng chuột.

2.1.2. Thuốc thử nghiệm

Cisplatin và quercetin (có độ tinh khiết $\geq 97\%$, định lượng bằng HPLC) được cung cấp bởi Sigma Aldrich – Mỹ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát mô hình gây tổn thương thận cấp bằng cisplatin trên chuột nhắt trắng

Chuột được chia ngẫu nhiên thành các lô ($n = 7$) với thời gian khảo sát 7 ngày như sau: Lô đối chứng sinh lý (tiêm i.p. NaCl 0,9%) và các lô cisplatin (i.p. liều duy nhất cisplatin với các liều 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg và 30 mg/kg). Cisplatin được hòa tan trong dimethylformamide (DMF) với tỷ lệ 1

mg cisplatin/ 0,1 ml DMF, sau đó pha trong NaCl 0,9% vừa đủ 10 ml.

Chuột được chia ngẫu nhiên thành các lô (n = 10) với thời gian khảo sát 14 ngày như sau: Lô đối chứng sinh lý (tiêm i.p. NaCl 0,9%) và các lô cisplatin (i.p. liều duy nhất cisplatin với các liều 10 mg/kg, 15 mg/kg. Cisplatin được hòa tan trong dimethylformamide (DMF) với tỷ lệ 1 mg cisplatin/ 0,1 ml DMF, sau đó pha trong NaCl 0,9% vừa đủ 10 ml.

Chỉ tiêu khảo sát: Thời gian và phân suất tử vong, đánh giá các chỉ tiêu sinh hóa: Nồng độ creatinin, BUN (Blood ure nitrogen) trong huyết tương, malondialdehyd (MDA) trong dịch đồng thể thận, đánh giá mô học vi thể thận, từ đó chọn liều cisplatin để gây mô hình tổn thương thận cấp trên chuột cho các thử nghiệm sàng lọc thuốc hoặc được liệu.

2.2.2. Khảo sát tác dụng của quercetin trên mô hình gây tổn thương thận bằng cisplatin

Chuột được chia ngẫu nhiên thành các lô (n = 8) như sau:

- Nhóm cisplatin (-): Chuột được tiêm NaCl 0,9% (i.p.) liều duy nhất. Sau đó, được chia thành lô đối chứng sinh lý (uống nước cất) và 2 lô thử uống quercetin liều 30 mg/kg; 50mg/kg.

- Nhóm cisplatin (+): Chuột ở các lô chứng (uống nước cất) và 2 lô thử (uống quercetin liều 30 mg/kg; 50 mg/kg) được cho uống theo phác đồ dự phòng 5 ngày trước khi gây mô hình tổn thương thận cấp bằng cisplatin. Một giờ sau khi cho uống mẫu thử ở ngày thứ năm, chuột

được tiêm phúc mạc cisplatin liều duy nhất (liều lựa chọn từ thử nghiệm 2.2.1.). Vào ngày 8, một giờ sau lần cho uống cuối cùng lấy khoảng 0,06 ml máu tĩnh mạch đuôi chuột để tiến hành định lượng các chỉ số creatinin, BUN trong huyết tương và mổ tách lấy thận chuột đem định lượng MDA trong dịch đồng thể thận và khảo sát mô bệnh học thận (được thực hiện tại Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Chợ Rẫy TP.HCM).

2.2.3. Định lượng creatinin và BUN trong huyết tương

Định lượng creatinin được thực hiện theo hướng dẫn của bộ kit creatinin Liquicolor của Human Diagnostic Ltd. Co. (Germany).

Mẫu thử nghiệm được gửi tại Trung tâm chẩn đoán Y khoa Medic Tp.HCM. Quy trình định lượng BUN dựa vào bộ kit BUN ELISA (cat.No MBS 3801103) do My BioSource cung cấp.

2.2.4. Phương pháp định lượng MDA trong dịch đồng thể thận chuột

- Tiến hành: Tách thận chuột rồi nghiền đồng thể trong dịch đệm KCl 1,15% (tỷ lệ 1: 10) trong 1 phút ở tốc độ 13.000 vòng/phút. Lấy 1 ml dịch đồng thể thận bổ sung dung dịch đệm Tris-HCl (pH = 7,4) vừa đủ 3 ml, ủ ở 37 °C trong 1 giờ. Kết thúc phản ứng bằng 1ml acid tricloacetic 10%, ly tâm 10.000 vòng/phút, lấy 2 ml dịch trong cho phản ứng với 1ml acid thiobarbituric 0,8% ở 100 °C trong 15 phút và đo màu ở $\lambda = 532$ nm.

- Tính toán kết quả: Hàm lượng MDA (nM/g protein) được tính theo phương

trình hồi quy tuyến tính của chất chuẩn MDA (Nguyễn Thị Thu Hương và cộng sự, 2020).

2.3. Đánh giá kết quả

Số liệu thực nghiệm thể hiện bằng số trung bình $M \pm SEM$ (Standard Error of the Mean - sai số chuẩn của giá trị trung bình). Xử lý số liệu bằng phần mềm MS Excel 2016, xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One –Way ANOVA và hậu kiểm bằng Student – Newman – Keuls test (phần mềm SigmaStat 3.5, USA). Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi $p < 0,05$ so với lô chứng.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy với thời gian khảo sát 7 ngày cisplatin gây tình trạng tử vong ở chuột đạt 86-100% ở liều i.p. 20 mg/kg và 30 mg/kg, tương ứng, trong khoảng 12 – 48 giờ sau khi tiêm. Cisplatin ở liều 10mg/kg gây tử

vong ở chuột vào ngày thứ 6 chiếm tỉ lệ 14,3% và liều 15 mg/kg có tỉ lệ tử vong vào ngày thứ 3 là 14,3%. Do đó 2 liều cisplatin 10 mg/kg và 15 mg/kg được tiếp tục khảo sát phân suất tử vong trên chuột nhất trắng với thời gian thử nghiệm 14 ngày. Cisplatin liều 10 mg/kg gây tử vong ở chuột vào ngày 6 chiếm tỉ lệ 10% và kết thúc thử nghiệm 14 ngày đạt tỉ lệ tử vong là 30%. Cisplatin liều 15 mg/kg gây tử vong ở chuột vào ngày 4 chiếm tỉ lệ 40%, ngày 6 là 60% và đạt tỉ lệ tử vong là 100% ở ngày 11. Điều này chứng tỏ cisplatin có tác động gây độc ở các cơ quan trong cơ thể chuột khi gây ảnh hưởng đến khả năng sống của chuột. Dựa vào phân suất tử vong, đề tài tiếp tục chọn cisplatin liều 10 mg/kg và 15 mg/kg để khảo sát tiếp trên các chỉ tiêu sinh hoá (creatinin trong huyết tương và MDA trong dịch đồng thể thận) ở thời điểm ngày 3 sau khi tiêm cisplatin nhằm xác định liều tối ưu gây mô hình tổn thương thận cấp trên chuột.

Bảng 1. Phân suất tử vong trong mô hình gây tổn thương thận cấp bằng cisplatin trên chuột nhắt trắng

Lô thử nghiệm	n	Thời gian xuất hiện tử vong (sau khi tiêm cisplatin)	Phân suất tử vong (%)
Thời gian khảo sát 7 ngày			
Chứng sinh lý	7	-	0
Cisplatin 10 mg/kg	7	Ngày 6	14,3
Cisplatin 15 mg/kg	7	Ngày 3	14,3
Cisplatin 20 mg/kg	7	Ngày 2	86
Cisplatin 30 mg/kg	7	Ngày 2	100
Thời gian khảo sát 14 ngày			
Chứng sinh lý	10	-	0
Cisplatin 10 mg/kg	10	Ngày 6	10
		Ngày 11	20
		Ngày 13	30
Cisplatin 15 mg/kg	10	Ngày 4	40
		Ngày 6	60
		Ngày 11	100

n: Số chuột thử nghiệm

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy lô tiêm phức mô cisplatin liều 10 mg/kg có nồng độ creatinin trong huyết tương và hàm lượng MDA trong dịch đồng thể thận chưa có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý. Chuột được tiêm phức mô cisplatin liều 15 mg/kg có nồng độ creatinin trong huyết tương và hàm lượng MDA trong dịch đồng thể thận tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ở thời điểm ngày 3 sau khi

tiêm cisplatin ($p < 0,001$). Có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$) giữa 2 liều cisplatin 10 mg/kg và 15 mg/kg ở cả hai chỉ tiêu là nồng độ creatinin trong huyết tương và hàm lượng MDA trong dịch đồng thể thận. Do đó liều cisplatin 15 mg/kg được chọn để tiếp tục khảo sát thêm một số chỉ tiêu khác là nồng độ BUN và đánh giá mô bệnh học thận.

Bảng 2. Nồng độ creatinin trong huyết tương và hàm lượng MDA trong dịch đồng thể thận trong mô hình gây tổn thương thận cấp bằng cisplatin trên chuột nhắt trắng

Lô thử nghiệm (n = 10)	Nồng độ creatinin trong huyết tương (mg/dl)	Hàm lượng MDA trong thận (nM/g protein)
Chứng sinh lý	0,65 ± 0,02	118,77 ± 7,89
Cisplatin 10 mg/kg	0,69 ± 0,02 ^{###}	131,96 ± 4,28 ^{###}
Cisplatin 15 mg/kg	1,79 ± 0,09 ^{***}	227,72 ± 7,38 ^{***}

n: Số chuột thử nghiệm; ^{***}: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p < 0,001$); ^{###}: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô cisplatin liều 15 mg/kg ($p < 0,001$).

Bảng 3. Nồng độ BUN trong mô hình tổn thương thận cấp bằng cisplatin liều 15 mg/kg trên chuột nhắt trắng

Lô thử nghiệm (n=10)	Nồng độ BUN trong huyết tương (mg/dl)
Chứng sinh lý	25,09 ± 0,53
Cisplatin 15 mg/kg	126,75 ± 12,75 ^{***}

n: Số chuột thử nghiệm; ^{***}: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p < 0,001$)

Kết quả đánh giá mô bệnh học thận chuột cho thấy mô thận ở lô tiêm cisplatin liều 15 mg/kg ở ngày thứ 3 chưa thể hiện rõ tổn thương so với lô chứng sinh lý (như cầu thận không bị teo, không có hiện tượng mất đường viền bàn chải, co nhân hay hoá không bào), chỉ khoảng 30% có viêm mô kẽ thận nhẹ. Ở lô tiêm cisplatin 15 mg/kg sau 10 ngày có kết quả mô bệnh học thận gần như nằm trong giới hạn bình thường (Bảng 4).

Bảng 4. Kết quả khảo sát mô học thận mô hình gây tổn thương thận cấp bằng cisplatin liều 15 mg/kg trên chuột nhắt trắng

Tình trạng	Chứng sinh lý	Cisplatin 15 mg/kg	
		Ngày 3	Sau 10 ngày
Mất bờ chân trái	0/3	0/3	0/3
Nhân co lại	0/3	0/3	0/3
Có không bào	0/3	0/3	0/3
Cầu thận teo nhỏ	0/3	0/3	0/3
Viêm mô kẽ thận	0/3	1/3	0/3
Thận trong giới hạn bình thường	3/3	2/3	3/3

Tổng hợp các kết quả khảo sát trên thời gian và phân suất tử vong, đánh giá các chỉ tiêu sinh hóa: Nồng độ creatinin, BUN trong huyết tương, MDA trong dịch đồng thể thận, đánh giá mô bệnh học thận; đề tài đã chọn liều cisplatin 15 mg/kg để gây mô hình tổn thương thận cấp trên chuột cho các thử nghiệm sàng lọc thuốc hoặc được liệu. Quercetin, một flavonoid phổ biến trong nhiều thực vật với hoạt tính sinh học đa dạng được chọn làm hợp chất kiểm tra đáp ứng của mô hình.

Kết quả ở Bảng 5 cho thấy nồng độ creatinin trong huyết tương ở lô chứng bệnh lý tiêm cisplatin tăng 165,63%, đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p < 0,001$), chứng tỏ có sự suy giảm chức

năng thận chuột gây bởi cisplatin. Lô chuột cho uống quercetin liều 30 mg/kg trong 8 ngày và được tiêm cisplatin vào ngày 5 có nồng độ creatinin giảm (56,47%) đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ($p < 0,001$) và chưa phục hồi về giá trị sinh lý bình thường ($p = 0,06$ so với lô chứng sinh lý). Tương tự, lô chuột uống quercetin liều 50 mg/kg trong 8 ngày và được tiêm cisplatin vào ngày 5 có nồng độ creatinin giảm (61,18 %), đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ($p < 0,001$) và phục hồi về giá trị sinh lý bình thường ($p = 0,128$ so với lô chứng sinh lý). Không ghi nhận có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê ($p = 0,094$) giữa 2 liều quercetin.

Bảng 5. Kết quả khảo sát tác dụng của quercetin trên nồng độ creatinin trong huyết tương chuột nhắt trắng bị gây tổn thương thận cấp bằng cisplatin liều 15 mg/kg

Nhóm	Lô thử nghiệm (n=8)	Liều (mg/kg)	Nồng độ creatinin trong huyết tương (mg/dl)
Cisplatin (-)	Chứng sinh lý	-	0,64 ± 0,03
	Quercetin	30	0,70 ± 0,02
		50	0,59 ± 0,03
Cisplatin (+)	Chứng bệnh lý		1,70 ± 0,05 ^{***}
	Quercetin	30	0,74 ± 0,03 ^{**###}
		50	0,66 ± 0,03 ^{###}

(+): nhóm tiêm cisplatin; ***: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p < 0,001$); **: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p < 0,01$); ###: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chứng bệnh lý ($p < 0,001$)

Kết quả ở Bảng 6 cho thấy nồng độ BUN ở lô chứng bệnh lý tiêm cisplatin tăng 343,26%, đạt ý nghĩa thống kê so với chứng sinh lý ($p < 0,001$), chứng tỏ có sự suy giảm chức năng thận chuột gây bởi cisplatin. Lô chuột cho uống quercetin liều 30 mg/kg trong 8 ngày và được tiêm cisplatin vào ngày 5 có nồng

độ BUN giảm (71,19%), đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ($p < 0,001$) và phục hồi về giá trị sinh lý bình thường ($p = 0,222$ so với lô chứng sinh lý). Tương tự, lô chuột uống quercetin liều 50 mg/kg trong 8 ngày và được tiêm cisplatin vào ngày 5 có nồng độ BUN giảm (59,69%), đạt ý nghĩa thống kê so

với lô chứng bệnh lý ($p < 0,001$) nhưng chưa phục hồi về giá trị sinh lý bình thường ($p = 0,004$ so với lô chứng sinh

lý). Ghi nhận có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$) giữa 2 liều quercetin.

Bảng 6. Kết quả khảo sát tác dụng của quercetin trên nồng độ BUN trong huyết tương chuột nhắt trắng bị gây tổn thương thận cấp bằng cisplatin liều 15 mg/kg

Nhóm	Lô thử nghiệm (n = 8)	Liều (mg/kg)	Nồng độ BUN trong huyết tương (mg/dl)
Cisplatin (-)	Chứng sinh lý	-	24,78 ± 1,05
	Quercetin	30	26,69 ± 0,93
		50	28,01 ± 0,54
Cisplatin (+)	Chứng bệnh lý		109,84 ± 5,72 ^{***}
	Quercetin	30	31,65 ± 3,64 ^{###aa}
		50	44,28 ± 3,65 ^{**###}

(+): nhóm tiêm cisplatin; **: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p < 0,01$); ***: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p < 0,001$); ###: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chứng bệnh lý ($p < 0,001$); aa: Khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô (+) quercetin 50 mg/kg ($p < 0,01$)

Kết quả ở Bảng 7 cho thấy hàm lượng MDA trong dịch đồng thể thận ở lô chứng bệnh lý tiêm cisplatin tăng 81,87% đạt ý nghĩa thống kê so với chứng sinh lý ($p < 0,001$), chứng tỏ có sự tổn thương peroxy hoá lipid ở tế bào thận chuột gây ra bởi cisplatin. Lô chuột cho uống quercetin liều 30 mg/kg trong 8 ngày và được tiêm cisplatin vào ngày 5 có hàm lượng MDA giảm (50,08%) đạt ý nghĩa thống kê so với chứng bệnh lý ($p < 0,001$) và không khác biệt đạt ý nghĩa

thống kê so với chứng sinh lý ($p = 0,116$), phục hồi về giá trị sinh lý bình thường. Tương tự, lô chuột uống quercetin liều 50 mg/kg trong 8 ngày và được tiêm cisplatin vào ngày 5 có hàm lượng MDA giảm (36,97%), đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ($p < 0,001$) nhưng chưa phục hồi về giá trị sinh lý bình thường ($p = 0,016$ so với lô chứng sinh lý). Đề tài ghi nhận có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$) giữa 2 liều thử của quercetin.

Bảng 7. Kết quả khảo sát tác dụng của quercetin trên hàm lượng MDA trong thận chuột nhắt trắng bị gây tổn thương thận cấp bằng cisplatin liều 15 mg/kg

Nhóm	Lô thử nghiệm (n = 8)	Liều (mg/kg)	Hàm lượng MDA trong thận (nM/g protein)
Cisplatin (-)	Chứng sinh lý	-	131,05 ± 5,34
	Quercetin	30	142,56 ± 6,76
		50	138,55 ± 4,04
Cisplatin (+)	Chứng bệnh lý		238,26 ± 4,93 ^{***}
	Quercetin	30	118,94 ± 4,87 ^{###aaa}
		50	150,18 ± 5,84 ^{###*}

(+): nhóm tiêm cisplatin; *: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p < 0,05$); ^{***}: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p < 0,001$); ^{###}: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chứng bệnh lý ($p < 0,001$); ^{aaa}: Khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô (+) quercetin 50 mg/kg ($p < 0,001$)

Kết quả khảo sát mô bệnh học thận chuột cho thấy sau khi tiêm cisplatin 3 ngày, mô thận ở lô chứng tiêm cisplatin chưa thể hiện rõ tổn thương so với lô chứng sinh lý (chỉ khoảng 30% viêm mô

kẽ thận nhẹ). Lô cho uống quercetin 30 mg/kg và 50 mg/kg đều có kết quả vi thể thận nằm trong giới hạn bình thường (Bảng 8).

Bảng 8. Phân tích mô học thận và tác dụng của quercetin trong mô hình gây tổn thương thận cấp bằng cisplatin

Tình trạng	Chứng (-)	Chứng (+)	Quercetin 30 mg/kg		Quercetin 50 mg/kg
			(-)	(+)	(+)
Mất bờ chân trái	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Nhân co lại	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Có không bào	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Cầu thận teo nhỏ	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Viêm mô kẽ thận	0/3	1/3 nhẹ	0/3	0/3	0/3
Thận trong giới hạn bình thường	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3

(-): nhóm bình thường; (+): nhóm tiêm cisplatin

3.2. Thảo luận

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng tổn thương thận bắt đầu vài ngày sau khi tiêm cisplatin dẫn đến tình trạng nhiễm độc thận với sự gia tăng nồng độ

creatinin, nitơ ure máu (BUN), các gốc tự do và làm suy giảm các chất chống oxy hóa trong các tế bào thận gây tổn thương oxy hóa thận (Shaloam and Paul, 2014). Nồng độ creatinin và BUN là chỉ

tiêu đánh giá mức độ suy thận và MDA được xem như là một dấu hiệu sinh học chính của tổn thương tế bào do stress oxy hóa. Điều này chứng tỏ cisplatin có tác động gây độc ở tế bào thận chuột, gây ảnh hưởng đến khả năng sống của chuột dẫn đến tỉ lệ tử vong cao. Kết quả thực nghiệm cho thấy có sự tương đồng với các công bố trước đây (Kusumoto et al., 2011; Mingjun et al., 2019) trong đó cisplatin liều duy nhất tiêm phúc mạc 15 mg/kg đã làm tăng các chỉ tiêu trên sau 3 ngày tiêm. Nghiên cứu dược động học cho thấy nồng độ trong cisplatin đạt đỉnh (pic) lần thứ nhất sau 15 phút, sau đó giảm dần, đạt đỉnh lần thứ 2 sau 48 – 72 giờ và vẫn còn tích lũy ở thận sau 1 – 3 tháng tiêm liều đơn cisplatin (Pabla and Dong, 2008). Kết quả nghiên cứu cho thấy, lô chuột thuộc nhóm được tiêm cisplatin liều 15 mg/kg ở ngày thứ 3 sau khi tiêm có một số biểu hiện khi quan sát đại thể như giảm hoạt động, lông không mượt, có biểu hiện tiêu chảy, tăng các chỉ số sinh hóa chẩn đoán tổn thương thận như creatinin, BUN, MDA và bắt đầu tử vong ngày thứ 3 với phân suất tử vong là 14,3%, trước khi chết chuột có hiện tượng run toàn thân, kết quả khảo sát mô bệnh học chưa cho thấy có sự thay đổi bệnh lý. Tuy nhiên, theo nghiên cứu của Martina et al. (2018) bệnh nhân đang tổn thương thận cấp nặng trên lâm sàng nhưng hình ảnh mô học hoàn toàn bình thường hoặc tổn thương rất nhẹ. Kết quả nghiên cứu của đề tài trên chuột thử nghiệm cho thấy có sự tương đồng, tuy nhiên cần khảo sát tiếp tục mô hình gây tổn thương thận mạn bằng cisplatin để có thể ghi nhận

được các thay đổi về mô bệnh học thận. Vì vậy, cisplatin liều 15 mg/kg là lựa chọn tối ưu trong thời gian 3 ngày sau tiêm và thử nghiệm thành công mô hình gây tổn thương thận cấp bằng cisplatin.

Quercetin là hoạt chất có khả năng chống oxy hóa thông qua việc tác động trực tiếp đến các gốc tự do, liên kết với ion kim loại chuyển tiếp để ngăn chặn phản ứng oxy hóa xảy ra và tăng cường chức năng chống oxy hóa nội sinh, quercetin còn chống viêm và kháng apoptosis (Alexander et al., 2016). Quercetin thường được chọn làm chất đối chiếu trong nghiên cứu sàng lọc thuốc có tác dụng bảo vệ thận nhờ tác dụng ngăn ngừa các tổn thương do stress oxy hóa, kháng viêm và kháng apoptotic. Quercetin làm giảm nồng độ creatinin, BUN, IL-1 β , IL-6 và TNF- α trong huyết thanh chuột bị gây tổn thương thận cấp bằng cisplatin (Tan Rui-Zhi et al., 2020). Tác dụng bảo vệ thận của quercetin không ảnh hưởng đến tác dụng kháng ung thư của cisplatin (Penélop et al., 2017). Nghiên cứu này lần nữa khẳng định tác dụng bảo vệ thận của quercetin. Tổng hợp các kết quả thực nghiệm đã cho thấy quercetin liều uống 30 mg/kg và 50 mg/kg đều có tác dụng làm giảm các chỉ tiêu sinh hóa creatinin, BUN và MDA bị tăng do độc tính trên thận của cisplatin ở liều 15 mg/kg. Tuy nhiên, quercetin liều 30 mg/kg lại thể hiện tác dụng điển hình hơn liều 50 mg/kg trên các chỉ tiêu BUN và MDA. Ngoài ra, quercetin ở cả hai liều 30 mg/kg và 50 mg/kg đều không ảnh hưởng trên các chỉ tiêu sinh hóa creatinin, BUN và MDA ở chuột bình

thường, cho thấy tiềm năng của các thực vật có sự hiện diện của quercetin trong tác dụng bảo vệ thận, làm giảm độc tính trên thận của thuốc hóa trị cisplatin.

4. KẾT LUẬN

Đề tài đã chọn được liều tối ưu của cisplatin là 15 mg/kg, được tiêm phúc mô sau 72 giờ làm tăng nồng độ creatinin, BUN (blood ure nitrogen) trong huyết tương và tăng hàm lượng MDA (malondialdehyd) trong thận của chuột nhắt trắng. Quercetin ở liều uống 30 mg/kg và 50 mg/kg có tác dụng làm giảm nồng độ creatinin, BUN trong huyết tương và hàm lượng MDA trong thận của chuột nhắt trắng bị gây tổn thương thận cấp bằng cisplatin, thể hiện tác dụng bảo vệ thận trước tổn thương oxy hoá gây ra bởi cisplatin.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Alexander VAD, Radhakrishnan A, Subramani P. 2016. Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. *Pharmacognosy Review*, 10(20): 84-89.

2. Ferlay J., Colombet M., Soerjomataram I., Mathers C., Parkin DM, Piñeros M., Znaor A., Bray F., 2018. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018 GLOBOCAN sources and methods. *International Journal of Cancer*, 144(8):1941-1953

3. Kusumoto M., Kamobayashi H., Sato D., Komori M., Yoshimura M., Hamada A., Kohda Y., Tomita K., Saito H., 2011. Alleviation of cisplatin-induced acute kidney injury using

phytochemical polyphenols is accompanied by reduced accumulation of indoxyl sulfate in rats. *Clinical and Experimental Nephrology*, 15(6): 820-830.

4. Martina P. and Zeljka VH., 2018. Cisplatin-Induced Rodent Model of Kidney Injury: Characteristics and Challenges. *BioMed Research International*, 2018:1462802.

5. Mingjun S., McMillan KL., Wu J., Gillings N., Flores B., Orson WM. and Ming CH., 2019. Cisplatin nephrotoxicity as a model of chronic kidney disease, *Laboratory Investigation*, 98(8): 1105–1121.

6. Nguyễn Thị Thu Hương, Mai Thành Chung, Nguyễn Ngọc Phụng. 2020. Tác dụng bảo vệ thận của sâm Việt Nam chế biến trước độc tính trên thận của cisplatin. *Tạp chí Dược liệu*, 25(2):116-121.

7. Pabla N. and Dong Z., 2008. Cisplatin nephrotoxicity: Mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney International*, 73(9): 994-1007.

8. Sánchez-González PD., López-Hernández FJ., Montserrat D., Marta P., Sánchez-López E., Jürgen T., Ruiz-Ortega M., López-Novoa JM., Morales AI., 2017. Differential effect of quercetin on cisplatin-induced toxicity in kidney and tumor tissues, *Food and Chemical Toxicology*, 107:226-236.

9. Shaloam D., Tchounwou PB., 2014. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action.

European Journal of the Pharmacology, 50: 364-437.

10. Tan RZ., Chen W., Chong D., Xia Z., Ying Y., Yi L., Hui-Yao L., Tao H., Li W., 2020. Quercetin protects

against cisplatin-induced acute kidney inhibiting Mincle/Syk/NF- κ B signaling maintained macrophage inflammation. *Phytotherapy Research*, 34(1):139-152.

STUDYING ACUTE KIDNEY INJURY MODEL INDUCED BY CISPLATIN ON MOUSE

Nguyen Ngoc Phung¹, Mai Thanh Chung² and Nguyen Thi Thu Huong^{1*}
¹*Faculty of Pharmacy and Nursery, Tay Do University*
²*Research Center of Ginseng and Medicinal Materials, Ho Chi Minh City*
 (*Email: huongsam@hotmail.com)

ABSTRACT

Cisplatin is a widely used and highly effective cancer chemotherapeutic agent. One of the limiting cisplatin uses is nephrotoxicity, its side effect causes the acute kidney injury to chronic kidney disease transition. Cisplatin rodent model is well appreciated and widely used model due to its simplicity and it has many similarities to human cisplatin nephrotoxicity. The present study aims to set up a mouse model of acute kidney injury induced by cisplatin in order to select medicinal candidates for the renoprotective effects. The results revealed that the optimal dosage of cisplatin was 15 mg/kg. This dosage resulted in a significant increase in plasma concentrations of creatinine, BUN (blood urea nitrogen), and in renal malondialdehyde (MDA) levels after 72 hours of intraperitoneal injection in mice. Quercetin required as a positive reagent ameliorated plasma creatinine, BUN, and renal MDA levels at the doses of 30 mg/kg and 50 mg/kg, suggesting the renoprotective effect of quercetin on cisplatin-induced renal oxidative stress.

Keywords: Acute kidney injury, BUN, cisplatin, creatinine, MDA, quercetin