

Xây dựng mô hình chuột nhắt chủng Swiss bị loét dạ dày tá tràng bằng phương pháp WIRS

Trần Hữu Dũng^{1*}, Đặng Công Thuận², Trần Đức Nguyên Phúc¹

(1) Khoa Dược, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

(2) Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Xây dựng một mô hình chuẩn động vật bị viêm loét dạ dày, tá tràng với mức độ viêm loét được xác định cụ thể như trên người để sử dụng cho các thử nghiệm nghiên cứu thuốc điều trị bệnh đang rất cần thiết. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng mô hình chuột nhắt chủng Swiss bị loét dạ dày tá tràng bằng phương pháp gây stress và đánh giá sự phù hợp của mô hình đã xây dựng. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Gây loét dạ dày tá tràng cho chuột Swiss bằng phương pháp WIRS (Water Immersion Restraint Stress) trong 3, 5, 7 và 9 ngày. Lựa chọn thời gian gây loét tối ưu nhất dựa vào hình ảnh đại thể, vi thể và nồng độ các biomarker sinh học liên quan tình trạng viêm nhiễm bao gồm Glutathione và Malondialdehyde. Mô hình đã xây dựng sẽ được đánh giá sự phù hợp bằng cách gây loét với điều kiện đã lựa chọn để xác định tính lặp lại, sau đó quan sát các tổn thương viêm loét với trạng thái không điều trị trong 7, 14, 21 và 28 ngày để xác định sự tự lành bệnh theo thời gian. **Kết quả:** Sau 9 ngày, tình trạng viêm loét trên dạ dày tá tràng chuột đã đáp ứng tất cả các tiêu chí đánh giá. Nếu không được điều trị, chuột cần đến 28 ngày thì dạ dày tá tràng mới trở về trạng thái sinh lý bình thường. **Kết luận:** Mô hình có triển vọng để ứng dụng vào các nghiên cứu tác dụng điều trị viêm loét dạ dày tá tràng của thuốc trên động vật thí nghiệm.

Từ khóa: loét dạ dày tá tràng, WIRS, chuột nhắt chủng Swiss.

Develop gastric ulcer model on Swiss mice by WIRS method

Tran Huu Dung^{1*}, Dang Cong Thuan², Tran Duc Nguyen Phuc¹

(1) Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

(2) Department of Pathology, Hue University of Medicine and Pharmacy Hospital

Abstract

Background: Building a standard animal model of gastric and duodenal ulcers with specific pathological levels as in humans for the application of drug treatment trials is very necessary. So this study was aimed to build a Swiss mice model of gastric and duodenal ulcers using the stress method and evaluate the suitability of the built model. **Materials and method:** Gastric ulcer was induced in mice for 3, 5, 7, 9 consecutive days by WIRS (Water Immersion Restraint Stress) method. The most optimal ulcer induction time was chosen based on macroscopic, microscopic assessment on mice stomachs and concentrations of biological biomarkers related to inflammation including Glutathione and Malondialdehyde. The built model was evaluated for suitability by inducing ulcers under selected conditions to determine repeatability, then observing the lesions after 7, 14, 21 and 28 days to determine the self-healing status over time. **Results:** After 9 days, the ulcerative status of the mouse gastroduodenal mucosa met all the evaluation criteria. Without treatment, it took 28 days for the gastroduodenal mucosa to return to normal physiological state. **Conclusion:** The model has potential for application for the gastric ulcer treatment studies of research medicines in experimental animals.

Keywords: gastroduodenal ulcer, WIRS, Swiss mice.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Loét dạ dày tá tràng là một bệnh rất thường gặp trên thế giới, không chỉ phổ biến ở những nước đang phát triển mà ngay cả ở những nước phát triển. Loét dạ dày tá tràng chiếm khoảng 35% các bệnh lý về tiêu hóa. Tỷ lệ mắc bệnh loét dạ dày tá tràng trên thế giới được báo cáo từ 21 nghiên cứu (năm 2021) với tổng

cỡ mẫu là 788.525 người trong độ tuổi 17 - 82 tuổi là 8,4% [1]. Tại Việt Nam, theo điều tra dịch tễ của Bộ Y tế, loét dạ dày tá tràng là bệnh đứng đầu trong các bệnh liên quan đến đường tiêu hóa. Tỷ lệ mắc trong cả cuộc đời là 11 - 14% ở nam và 8 - 11% ở nữ [2].

Đã có khá nhiều các nghiên cứu trên thế giới và trong nước về các mô hình thử nghiệm dược lý

*Tác giả liên hệ: Trần Hữu Dũng. Email: thdung@huemed-univ.edu.vn

Ngày nhận bài: 18/1/2025; Ngày đồng ý đăng: 10/4/2025; Ngày xuất bản: 10/6/2025

chống loét dạ dày tá tràng của các dịch chiết, cao thuốc dược liệu hay bài thuốc y học cổ truyền trên động vật thí nghiệm [3-5]. Nhìn chung, hầu hết các mô hình thử nghiệm này đều theo nguyên lý sử dụng thuốc chống loét chứ chưa phải điều trị loét dạ dày tá tràng, bởi thuốc thử nghiệm được cho động vật uống ngay đồng thời trước hay sau khi sử dụng các hóa chất gây loét dạ dày tá tràng, với mục đích là xác định sự hạn chế hay chống lại sự gây loét của các hóa chất này so với nhóm chứng không được điều trị. Trong khi cơ chế điều trị loét lại cần yêu cầu gây loét dạ dày tá tràng động vật trước rồi mới sử dụng thuốc để điều trị làm lành vết loét. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu bao gồm xây dựng mô hình chuột nhắt chủng Swiss bị loét dạ dày tá tràng bằng phương pháp WIRS và đánh giá sự phù hợp của mô hình đã xây dựng. Từ đó làm cơ sở triển khai các nghiên cứu dược lý đánh giá khả năng điều trị loét dạ dày tá tràng của các thuốc thực nghiệm sau này.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu nghiên cứu

Động vật thí nghiệm: Chuột nhắt chủng Swiss 8 tuần tuổi, trọng lượng 30 - 35 g/con, khỏe mạnh, không phân biệt giới tính, con cái không mang thai. Chuột được nuôi với chế độ ăn bình thường 7 ngày trong cùng điều kiện (12 giờ sáng, 12 giờ tối, nhiệt độ phòng) để thích nghi với môi trường mới.

2.2. Xây dựng mô hình chuột Swiss bị loét dạ dày tá tràng bằng phương pháp WIRS

Sử dụng phương pháp nghiên cứu thực nghiệm có đối chứng nhằm tạo mô hình chuột loét dạ dày, tá tràng bằng cách cho chuột (đã được nhịn đói một thời gian để đảm bảo dạ dày rỗng) nhúng trong nước lạnh trong một thời gian dài để gây stress bằng phương pháp WIRS (WIRS = Water Immersion Restraint Stress).

Chọn ngẫu nhiên 60 chuột, cho nhịn đói 36 giờ trước khi tiến hành thí nghiệm. Sau đó, chuột được chia ngẫu nhiên thành 5 nhóm (N = 12):

Nhóm chứng: Uống nước cất hàng ngày;

Nhóm WIRS3: Gây stress lên chuột trong 3 ngày;

Nhóm WIRS5: Gây stress lên chuột trong 5 ngày;

Nhóm WIRS7: Gây stress lên chuột trong 7 ngày;

Nhóm WIRS9: Gây stress lên chuột trong 9 ngày.

Phương pháp gây stress bằng WIRS: Sau khi nhịn đói 36 giờ, cho chuột vào một ống falcon 50 mL có đục lỗ, đầu ống falcon được gắn vào các lỗ trên tấm xốp, cho tấm xốp vào bể nước ở nhiệt độ $16 \pm 1^\circ\text{C}$ sao cho đầu chuột hướng lên trên theo phương thẳng đứng (mức nước đến phần mồm mũi

kiểm của chuột). Ngâm trong vòng 6 giờ [6 - 8]. Sau đó, chuột được lấy ra ngoài, cho ăn uống tự do rồi tiếp tục nhịn đói đến buổi sáng hai hôm sau. Đối với nhóm chứng, chuột được nhịn đói 42 giờ tương ứng thời gian gây stress cho các nhóm trên sau đó mới cho ăn uống tự do trở lại. Thí nghiệm được tiến hành lặp lại trong 3, 5, 7 và 9 ngày tương ứng với các nhóm chuột như trên.

Sau khi hoàn thành quy trình gây loét, giết chuột bằng cách gây trật khớp cổ (Cervical Dislocation), mổ bụng để tách phần dạ dày - tá tràng. Mổ dạ dày theo bờ cong lớn và rửa sạch bằng nước muối sinh lý. Chọn mổ ngẫu nhiên 6 chuột ở mỗi nhóm để quan sát đại thể dạ dày tá tràng bằng mắt thường hoặc kính lúp sau đó bảo quản trong formol 10% để tiến hành phân tích mô bệnh học để đánh giá vi thể [9]. 6 chuột còn lại ở mỗi nhóm mổ lấy mô dạ dày, tá tràng để tiến hành định lượng nồng độ Glutathione và Malondialdehyde.

Đánh giá đại thể: dạ dày sau khi mổ và rửa sạch được đặt trên một tấm bảng nền trắng. Quan sát những tổn thương trên niêm mạc bằng mắt thường hoặc kính lúp có độ phóng đại 30 lần dưới ánh sáng tự nhiên hoặc ánh sáng đèn. Xử lý hình ảnh bằng phần mềm xử lý hình ảnh ImageJ. Tính chỉ số loét theo thang điểm của Guth và cộng sự, tính toán dựa vào cả chiều dài và chiều rộng của vết loét [10].

Đánh giá vi thể: mô dạ dày tá tràng chuột được ngâm formol 10% ở nhiệt độ phòng trong 72 giờ. Sau đó, mẫu được tiến hành cố định, xử lý, đúc khối, cắt và dán mảnh mô, nhuộm Hematoxylin & Eosin để quan sát hình ảnh mô bệnh học dưới kính hiển vi tại Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế [11].

Định lượng Glutathione: Glutathione (GSH) được định lượng bằng phương pháp đo độ hấp thụ ở 420 nm sử dụng bộ kit Reduced Glutathione Colorimetric Assay Kit của Elabsience dựa trên phương pháp được phát triển bởi Ellman [12].

Định lượng Malondialdehyde: Malondialdehyde (MDA) được định lượng bằng phương pháp đo độ hấp thụ ở 532 nm sử dụng bộ kit Malondialdehyde Colorimetric Assay Kit của Elabsience dựa trên phương pháp được phát triển bởi Ohkawa [13].

+ Tiêu chí đánh giá mô hình gây loét dạ dày tá tràng phù hợp:

- **Đại thể:** quan sát rõ tổn thương niêm mạc bằng mắt thường hoặc kính lúp. Chỉ số loét ở nhóm WIRS cao hơn nhóm chứng bình thường ($p < 0,05$).

- **Vi thể:** tổn thương sâu ít nhất là đến lớp cơ niêm của dạ dày tá tràng trên toàn bộ nhóm chuột khảo sát [2].

- *Định lượng*: nồng độ GSH giảm trong khi nồng độ MDA tăng ở nhóm gây bệnh so với nhóm chứng bình thường ($p < 0,05$).

2.3. Đánh giá sự phù hợp của mô hình đã xây dựng

2.3.1. Xác định tính lặp lại của mô hình đã xây dựng

Chọn ngẫu nhiên 30 chuột khỏe mạnh, tiến hành thí nghiệm gây loét dạ dày tá tràng bằng phương pháp WIRS dựa trên mô hình đã xây dựng. Sau khi kết thúc thí nghiệm, chọn ngẫu nhiên 6 cá thể chuột, giết chuột bằng cách gây trật khớp cổ, mổ bụng để tách phần dạ dày – tá tràng. Mổ dạ dày theo bờ cong lớn và rửa sạch bằng nước muối sinh lý. Quan sát đại thể mô học bằng mắt thường hoặc kính lúp để xác định mức độ và chỉ số loét, sau đó các mẫu mô được ngâm trong formol để làm giải phẫu bệnh học cho quan sát vi phẫu học. Yêu cầu tất cả chuột đều bị loét dạ dày, tá tràng với mức độ đạt tất cả tiêu chí đánh giá.

2.3.2. Xác định sự phục hồi các tổn thương viêm loét theo thời gian

Lấy 24 chuột đã gây loét dạ dày tá tràng thành công, chia ngẫu nhiên thành 4 nhóm ($N=6$) và nuôi dưỡng với chế độ ăn uống bình thường như sau.

- Nhóm WIRS+7: nuôi thêm 7 ngày nữa với chế độ ăn bình thường;

- Nhóm WIRS+14: nuôi thêm 14 ngày nữa với chế độ ăn bình thường;

- Nhóm WIRS+21: nuôi thêm 21 ngày nữa với chế độ ăn bình thường;

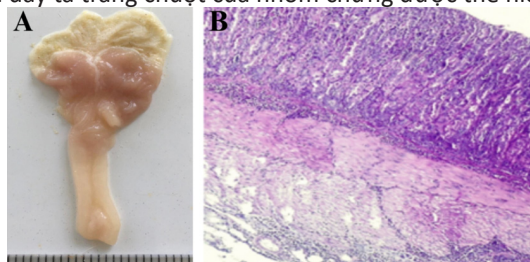
- Nhóm WIRS+28: nuôi thêm 28 ngày nữa với chế độ ăn bình thường.

Tại các thời điểm tương ứng số ngày nuôi dưỡng, giết tất cả chuột các nhóm bằng cách gây trật khớp cổ, mổ bụng để tách dạ dày tá tràng. Mổ dạ dày theo bờ cong lớn và rửa sạch bằng nước muối sinh lý. Đánh giá mức độ và tình trạng vết loét dạ dày tá tràng thông qua các hình ảnh đại thể và vi thể như trên để xác định sự tự phục hồi các tổn thương viêm loét dạ dày tá tràng theo thời gian [14].

3. KẾT QUẢ

3.1. Xây dựng mô hình chuột Swiss bị loét dạ dày tá tràng bằng phương pháp WIRS

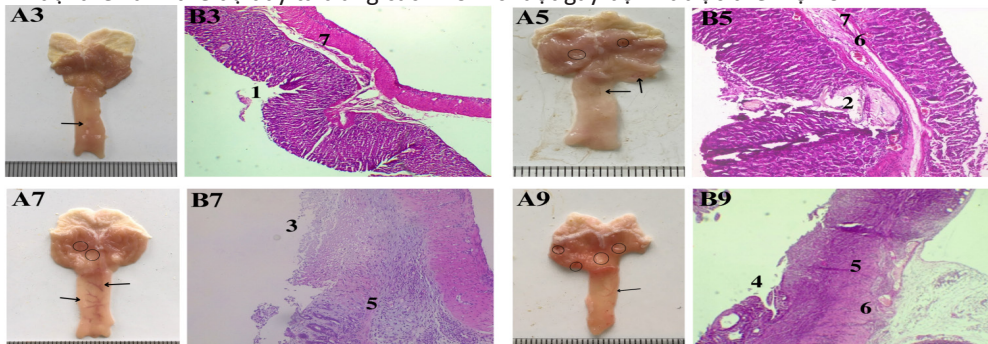
Kết quả đại thể và vi thể dạ dày tá tràng chuột của nhóm chứng được thể hiện ở Hình 1.



Hình 1. Hình ảnh đại thể (A) và vi thể (B) dạ dày tá tràng chuột nhóm chứng

Ở nhóm chứng, không có tổn thương trên đại thể dạ dày tá tràng. Niêm mạc dạ dày có những nếp gấp, trong khi niêm mạc tá tràng trơn láng. Trên hình ảnh vi thể, dạ dày tá tràng bình thường, có đủ 4 lớp từ ngoài vào trong bao gồm niêm mạc, dưới niêm mạc, cơ chính và thanh mạc.

Hình ảnh đại thể và vi thể dạ dày tá tràng các nhóm chuột gây bệnh được thể hiện ở Hình 2.



Hình 2. Hình ảnh đại thể (A) và vi thể (B) dạ dày tá tràng chuột nhóm WIRS3, WIRS5, WIRS7 và WIRS9.

Mũi tên: sung huyết; vòng tròn: tổn thương loét.

1. Loét nông lớp biểu mô; 2. Loét đến lớp cơ niêm; 3. Loét đến lớp dưới niêm mạc; 4. Loét đến cơ chính; 5. Xâm nhập bạch cầu trung tính; 6. Sung huyết; 7. Phù nề dưới niêm mạc

Tình trạng viêm loét trên đại thể có xu hướng nghiêm trọng dần từ nhóm WIRS3 đến WIRS9. Trong khi ở nhóm WIRS3 chỉ ghi nhận tình trạng sung huyết nhẹ thì ở nhóm WIRS5 đã phát hiện được các tổn thương loét bằng mắt thường. Trên nhóm WIRS7, niêm mạc dạ dày tá tràng có xu hướng chuyển sang màu đỏ thẫm, các vết loét có diện tích lớn và sung huyết rầm rộ hơn. Ở nhóm WIRS9, thậm chí số ổ loét và diện tích vết loét còn lớn hơn trên nhóm WIRS7.

Trên hình ảnh vi thể, ngay từ ngày gây loét thứ 3 (nhóm WIRS3), dạ dày tá tràng chuột đã xuất hiện tình trạng viêm cấp thể hiện ở sự xâm nhập bạch cầu trung tính, sung huyết và phù nề dưới niêm mạc.

Ngoài ra, giữa các nhóm chuột gây bệnh có sự khác biệt rõ rệt về tình trạng vết loét. Trong khi ở nhóm WIRS3, dạ dày tá tràng chỉ loét nông lớp biểu mô thì đến nhóm WIRS5, có 2 chuột khảo sát loét đến lớp cơ niêm. Ở nhóm WIRS7, có 6 chuột đã loét đến lớp cơ niêm và 2 chuột loét đến lớp dưới niêm mạc. Nghiêm trọng nhất là trên nhóm WIRS9 khi có 8 chuột loét đến lớp cơ niêm, 2 chuột loét đến lớp dưới niêm mạc và 2 chuột loét đến lớp cơ chính.

Từ các hình ảnh vết loét thực nghiệm ở trên đại thể, chỉ số loét (UI) dạ dày tá tràng của các nhóm chuột được xác định dựa trên công thức tính chỉ số loét của Guth và cộng sự (1979) [11]. Kết quả được thể hiện trong *Bảng 1*.

Bảng 1. Chỉ số loét của các nhóm chuột thí nghiệm

Nhóm chuột (N=12)	Chứng	WIRS3	WIRS5	WIRS7	WIRS9
UI trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn	0,0 $\pm$ 0,0	1,5* $\pm$ 0,5	6,5* $\pm$ 1,4	12,2* $\pm$ 1,5	21,2* $\pm$ 3,2

*: khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so với nhóm chứng ($p < 0,05$)

Từ hình ảnh vi thể, tỉ lệ chuột loét dạ dày tá tràng với độ sâu vết loét phù hợp với yêu cầu (ít nhất đến lớp cơ niêm) được thể hiện ở *Bảng 2*.

Bảng 2. Số lượng và tỷ lệ chuột bị loét với độ sâu phù hợp

Nhóm chuột (N=12)	Tỉ lệ chuột loét đến lớp cơ niêm	Tỉ lệ chuột loét đến lớp dưới niêm mạc	Tỉ lệ chuột loét đến lớp cơ chính	Tổng tỷ lệ chuột bị loét
Chứng	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
WIRS3	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
WIRS5	16,7%	0,0%	0,0%	16,7%
WIRS7	50,0%	16,7%	0,0%	66,7%
WIRS9	66,7%	16,7%	16,7%	100,0%

Kết quả định lượng nồng độ Glutathione và Malondialdehyde trong mô dạ dày tá tràng chuột nhóm chứng và nhóm WIRS9 được thể hiện ở *Bảng 3*.

Bảng 3. Nồng độ GSH và MDA trung bình trong mô dạ dày tá tràng các nhóm chuột

Nhóm chuột	Nồng độ	Nồng độ GSH trong mô ($\mu\text{mol/g}$)	Nồng độ MDA trong mô (mmol/g)
Nhóm chứng		3,8 $\pm$ 0,5	1,4 $\pm$ 0,3
Nhóm WIRS9		1,5* $\pm$ 0,2	3,3* $\pm$ 0,4

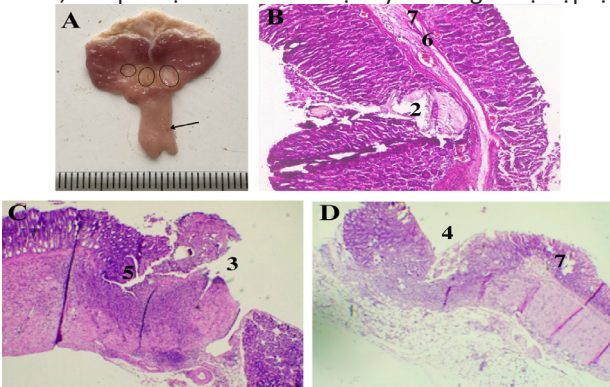
*: khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so với nhóm chứng ($p < 0,05$)

Kết quả cho thấy nồng độ GSH trong mô dạ dày tá tràng ở nhóm WIRS9 là 1,5 $\pm$ 0,2 $\mu\text{mol/g}$, giảm 2,5 lần so với nhóm chứng bình thường (3,8 $\pm$ 0,5 $\mu\text{mol/g}$). Trong khi nồng độ MDA trong mô dạ dày tá tràng ở nhóm WIRS9 là 3,3 $\pm$ 0,4 mmol/g , tăng đến 2,4 lần so với nhóm chứng (1,4 $\pm$ 0,3 mmol/g). Tất cả đều khác biệt có ý nghĩa so với nhóm chứng ($p < 0,05$).

3.2. Đánh giá sự phù hợp của mô hình đã xây dựng.

3.2.1. Xác định tính lặp lại của mô hình đã xây dựng.

Sau 9 ngày gây loét bằng WIRS, kết quả đại thể và vi thể dạ dày tá tràng chuột lặp lại được thể hiện ở Hình 3.



Hình 3. Hình ảnh đại thể (A) và vi thể (B, C, D) dạ dày tá tràng chuột sau 9 ngày gây loét bằng WIRS. Mũi tên: sung huyết; vòng tròn: tổn thương loét.

2. Loét đến lớp cơ niêm; 3. Loét đến lớp dưới niêm mạc; 4. Loét đến cơ chính; 5. Xâm nhập bạch cầu trung tính; 6. Sung huyết; 7. Phù nề dưới niêm mạc

Bảng 4. Chỉ số loét của các nhóm chuột thí nghiệm

Nhóm chuột	Chứng	WIRS9	WIRS9_TĐ
UI trung bình ± độ lệch chuẩn	0,0 ± 0,0	21,2* ^Δ ± 3,2	20,3* ^Δ ± 2,7

*: khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so với nhóm chứng ($p < 0,05$)

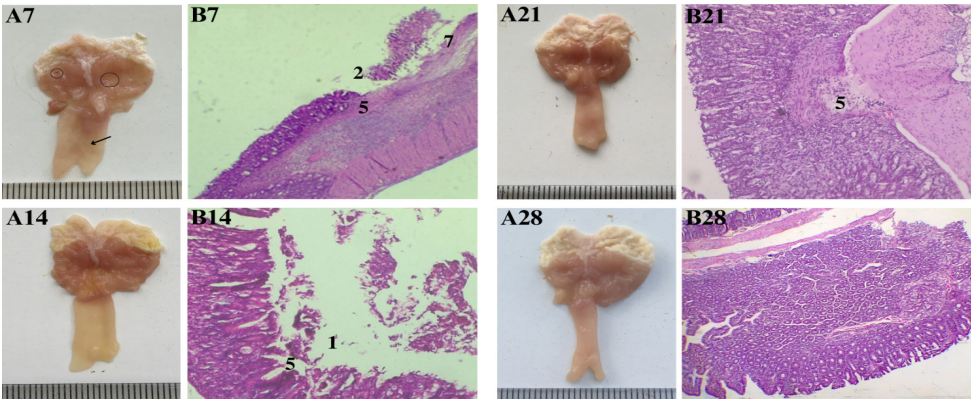
^Δ: không khác biệt có ý nghĩa khi so với nhóm gây bệnh ($p > 0,05$)

Trên hình ảnh đại thể (Hình 3A), niêm mạc dạ dày tá tràng chuyển sang màu đỏ thẫm, mất nếp nhăn. Dễ dàng quan sát được các tổn thương loét cùng với hiện tượng sung huyết. Chỉ số loét trên nhóm WIRS9_TĐ không có sự khác biệt có ý nghĩa so với nhóm WIRS9 ($p > 0,05$) (Bảng 4). Trên hình ảnh vi thể (Hình 3B, C, D), đã có 3 chuột (50%) loét đến lớp cơ niêm, 2 chuột (33,3%) loét đến lớp dưới niêm mạc và 1 chuột (16,6%) loét đến cơ chính. Ngoài ra còn xuất hiện tình trạng viêm cấp thể hiện ở hình ảnh bạch cầu trung tính xâm nhập, sung huyết và phù

nề lớp dưới niêm mạc. Kết quả đại thể và vi thể đều tương tự như trên nhóm WIRS9 đã khảo sát. Như vậy, mô hình gây loét đã thể hiện tính lặp lại với các điều kiện động vật, môi trường, nguyên vật liệu, hóa chất, quy trình được xây dựng.

3.2.2. Xác định sự tự phục hồi các tổn thương viêm loét theo thời gian

Kết quả đại thể và vi thể dạ dày tá tràng trên các nhóm chuột WIRS+7, WIRS+14, WIRS+21 và WIRS+28 được thể hiện ở Hình 4.



Hình 4. Đại thể (A) và vi thể (B) dạ dày tá tràng chuột thời điểm 7, 14, 21, 28 ngày sau khi gây bệnh.

Mũi tên: sung huyết; vòng tròn: tổn thương loét.

1. Loét nông lớp biểu mô; 2. Loét đến lớp cơ niêm; 3. Loét đến lớp dưới niêm mạc; 4. Loét đến cơ chính; 5. Xâm nhập bạch cầu trung tính; 6. Sung huyết; 7. Phù nề dưới niêm mạc

Trên hình ảnh đại thể nhóm WIRS+7, dạ dày tá tràng vẫn còn các tổn thương loét cùng với tình trạng sung huyết. Tuy nhiên có thể thấy sự phục hồi nếp nhăn trên niêm mạc cùng với chỉ số loét đã giảm đi đáng kể sau 7 ngày với chế độ nuôi dưỡng bình thường. Trong khi đó, trên nhóm WIRS+14, WIRS+21 và WIRS+28, đã không còn phát hiện bất kỳ tổn thương nào trên đại thể dạ dày tá tràng.

Trên hình ảnh vi thể nhóm WIRS+7, dạ dày tá tràng vẫn còn loét ít nhất đến lớp cơ niêm, trong đó 1 chuột (16,6%) loét đến lớp dưới niêm mạc. Hiện tượng viêm cấp vẫn còn rầm rộ, thể hiện ở việc xâm nhập bạch cầu trung tính, sung huyết và phù nề dưới niêm mạc. Ở nhóm WIRS+14, dạ dày tá tràng chỉ còn sự bong tróc lớp biểu mô. Bạch cầu trung tính vẫn còn xâm nhập với mật độ cao, tuy nhiên không còn hiện tượng sung huyết và phù nề dưới niêm mạc. Trên nhóm WIRS+21, sau 21 ngày với chế độ nuôi dưỡng bình thường, đã không còn phát hiện tổn thương loét, chỉ còn hiện tượng viêm cấp với sự xâm nhập bạch cầu trung tính. Đến nhóm WIRS+28, dạ dày tá tràng trên hình ảnh vi thể đã không còn bất kỳ dấu hiệu tổn thương nào. Sự phục hồi tổn thương viêm loét đã gần như hoàn thành.

4. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu này, tiêu chí đánh giá việc gây loét dạ dày tá tràng thành công của mô hình bao gồm: trên đại thể, quan sát rõ tổn thương niêm mạc dạ dày tá tràng bằng mắt thường hoặc kính lúp, với chỉ số loét cao hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng ($p < 0,05$); trên vi thể có thể thấy rõ tổn thương ít nhất đến lớp cơ niêm của dạ dày tá tràng; và các dấu ấn sinh học liên quan đến tình trạng viêm nhiễm bao gồm nồng độ GSH giảm trong khi nồng độ MDA tăng khác biệt có ý nghĩa so với nhóm chứng ($p < 0,05$). Qua kết quả khảo sát cho thấy chỉ có nhóm WIRS9 là đáp ứng với cả 3 tiêu chí đánh giá.

WIRS là một trong những phương pháp phổ biến để gây ra tình trạng loét dạ dày tá tràng trên động vật thí nghiệm. Tình trạng căng thẳng gây ra bởi WIRS làm tăng giải phóng histamine dẫn đến tăng tiết acid, giảm sản xuất chất nhầy do sự ức chế tổng hợp prostaglandin và gây giảm lưu lượng máu đến dạ dày. Đây là nguyên nhân chủ yếu thúc đẩy sự hình thành vết loét dạ dày do stress gây ra [15]. Ngoài ra, tình trạng viêm nhiễm trong quá trình phát triển của bệnh còn dẫn đến sự sản sinh quá mức các phần tử hoạt động chứa oxy (ROS, reactive oxygen species) từ các bạch cầu trung tính xâm nhập vào ổ viêm gây tổn thương tế bào và cuối cùng dẫn đến tổn

thương niêm mạc [16, 17]. ROS peroxide hóa lipid màng tế bào, tạo ra sản phẩm chuyển hóa là MDA và 4-hydroxynonenal (4-HNE) [18]. Ngoài ra, sự tăng sinh ROS thúc đẩy hoạt động của các tác nhân chống oxy hóa bao gồm superoxide dismutase (SOD), catalase và glutathione peroxidase (GPx). Trong đó, GPx đảm nhận vai trò khử H_2O_2 thành nước đi kèm với việc chuyển đổi GSH thành dạng oxy hóa của nó [19]. Do đó, việc định lượng nồng độ GSH và MDA phản ánh hoạt động của ROS, từ đó giúp đánh giá trình trạng viêm nhiễm trong mô dạ dày, tá tràng.

Kết quả trên nhóm WIRS9 phù hợp với nghiên cứu của Wael M Elsaed và cộng sự (2018) [20]. Trong nghiên cứu này, chuột Albino, sau khi được cho nhịn đói 12 giờ, bị gây loét dạ dày tá tràng bằng cách trói vào một tấm ván gỗ và ngâm trong nước lạnh ($6 \pm 0,6^\circ C$) trong 6 giờ. Quy trình được lặp lại trong 7 ngày. Kết quả đại thể nhóm gây bệnh cho thấy các vết thương nghiêm trọng rõ rệt trong niêm mạc dạ dày ở dạng xuất huyết đáy vị và những phần còn lại của dạ dày với chỉ số loét là $20,01 \pm 1,08$. Các vết loét xuất hiện dưới dạng các mảng màu đỏ sẫm có nhiều dạng và kích thước khác nhau với tăng máu tới niêm mạc dạ dày. Hình ảnh vi thể nhóm gây bệnh cho thấy tổn thương nghiêm trọng niêm mạc dạ dày thể hiện bởi hình ảnh loét biểu mô niêm mạc với các dấu hiệu bong tróc tế bào lót và thoái hóa các tuyến dạ dày, xuất hiện không bào. Lớp dưới niêm mạc có một vùng xuất huyết rõ rệt với tắc nghẽn mạch máu. Sự phù hợp giữa hai nghiên cứu thể hiện ở điểm gây stress bằng WIRS kéo dài. Tuy nhiên, thay vì sử dụng nhiệt độ $6 \pm 0,6^\circ C$ trong 7 ngày, nghiên cứu đã thực hiện quá trình gây stress trong vòng 9 ngày ở $16 \pm 1^\circ C$ để giảm thiểu sự chết chuột do nhiệt độ quá lạnh gây ra. Để quá trình gây bệnh được tối ưu hơn, nghiên cứu cũng tăng thời gian nhịn đói của chuột lên 36 giờ để tăng thời gian tháo rỗng dạ dày, tăng cảm giác đói từ đó tăng tiết acid dịch vị. Sự tối ưu này đã được thể hiện ở hình ảnh vi thể khi dạ dày tá tràng chuột đã loét ít nhất đến lớp cơ niêm trong khi ở nghiên cứu của Wael M Elsaed và cộng sự (2018) thì chỉ có sự bong tróc lớp niêm mạc khi gây loét.

Với một mô hình gây bệnh trên động vật được xây dựng nhằm sử dụng cho các thử nghiệm thuốc điều trị thì việc xác định sự tự phục hồi các tổn thương và tình trạng viêm loét theo thời gian của chuột bị bệnh mà không được điều trị là rất quan trọng, nhằm tạo cơ sở cho các nghiên cứu đánh giá tác dụng điều trị của thuốc thực nghiệm đạt độ tin cậy và chính xác, nhất là với các thuốc sử dụng dài ngày trên các bệnh mãn tính như viêm loét dạ dày, tá tràng. Mô hình

gây bệnh trong nghiên cứu này đã tạo ra tổn thương viêm loét cần đến 28 ngày để hồi phục hoàn toàn, được thể hiện trên hình ảnh vi thể dạ dày tá tràng không còn xuất hiện bất kỳ dấu hiệu tổn thương nào.

Trong nghiên cứu của Kuroiwa và cộng sự (1990) [14] để xác định thời gian phục hồi của vết loét dạ dày tá tràng chuột do WIRS gây ra, các chỉ số loét trên dạ dày chuột được quan sát tại 1; 3; 7; 14 và 21 ngày sau khi gây bệnh. Kết quả cho thấy các tổn thương dạ dày quan sát trên đại thể đã giảm đáng kể sau 3 ngày, đến ngày thứ 21 thì dạ dày trở về trạng thái bình thường, được thể hiện rõ trên hình ảnh đại thể. Tuy nhiên nghiên cứu của chúng tôi còn thực hiện thêm sự đánh giá trên hình ảnh vi thể nhằm ghi nhận những tổn thương mà không thể thấy được trên đại thể, từ đó cho thấy dạ dày tá tràng nhóm WIRS+21 vẫn còn tổn thương. Đến nhóm WIRS+28 mới phục hồi hoàn toàn, nghĩa là sau 28 ngày không được điều trị đã không còn quan sát thấy sự viêm loét trên hình ảnh vi thể dạ dày, tá tràng chuột. Qua kết quả khảo sát của nghiên cứu này đã cho thấy việc

xác định tính phù hợp của một mô hình gây bệnh trên động vật là một yếu tố rất quan trọng, giúp các thử nghiệm đánh giá tác dụng dược lý thuốc trên động vật trở nên đáng tin cậy hơn và loại trừ được các sai số do mô hình thực nghiệm gây nên.

5. KẾT LUẬN

Mô hình gây loét dạ dày tá tràng chuột bằng phương pháp WIRS với các điều kiện thực hiện bao gồm cho chuột nhịn đói 36 giờ, sau đó nhúng trong nước ở 16°C trong 6 tiếng. Mô hình này đã thể hiện việc gây bệnh tối ưu trên chuột sau 9 ngày thực hiện.

Mô hình cho thấy sự lặp lại với các điều kiện động vật, môi trường, nguyên vật liệu, hóa chất và quy trình gây bệnh được xây dựng, và cần đến 28 ngày thì dạ dày tá tràng chuột mới trở về trạng thái sinh lý bình thường. Qua đó cho thấy đây là mô hình phù hợp để sử dụng cho các thử nghiệm đánh giá tác dụng điều trị bệnh viêm loét dạ dày, tá tràng trên chuột Swiss bị gây bệnh tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Salari N, Darvishi N, Shohaimi S, Bartina Y, Ahmadipanah M, Salari HR, et al. The global prevalence of peptic ulcer in the world: A systematic review and meta-analysis. *Indian J Surg* 2022 Oct; 84(5):913-21.
- Trần Văn Huy. Giáo trình Đại học Bệnh học nội khoa.
- Huế: Nhà xuất bản Đại học Huế; 2020.
- Phạm Thị Vân Anh. Tác dụng điều trị loét dạ dày tá tràng của Dạ dày Hoàn Bà Giảng trên thực nghiệm. Bộ môn Dược lý - Đại học Y Hà Nội, Hà Nội 2018.
- Almasaudi SB, El-Shitany NA, Abbas AT, Abdel-dayem UA, Ali SS, Al Jaouni SK, et al. Antioxidant, anti-inflammatory, and antiulcer potential of manuka honey against gastric ulcer in rats. *Oxid Med Cell Longev* 2016; 2016(1):3643824.
- Bi WP, Man HB, Man MQ. Efficacy and safety of herbal medicines in treating gastric ulcer: a review. *World Journal of Gastroenterol* 2014 Dec 7; 20(45):17020.
- Yao K, Cao L, Ding H, Gao Y, Li T, Wang G, et al. Increasing Aspartoacylase in the Central Amygdala: The Common Mechanism of Gastroprotective Effects of Monoamine-Based Antidepressants Against Stress. *Frontiers Pharmacol* 2022 Feb 25; 13:823291.
- Xu Y, Jia J, Xie C, Wu Y, Tu W. Transient receptor potential ankyrin 1 and substance P mediate the development of gastric mucosal lesions in a water immersion restraint stress rat model. *Digestion* 2018 Mar 20; 97(3):228-39.
- Elgohary R, Abdelsalam RM, Abdel-Salam OM, Khattab MM, Salem NA, El-Khyat ZA, et al. Protective effect of cannabinoids on gastric mucosal lesions induced by water immersion restraint stress in rats. *Iran J Basic Med Sci* 2021 Sep; 24(9):1182.
- Adinortey MB, Ansah C, Galyuon I, Nyarko A. In vivo models used for evaluation of potential antigastroduodenal ulcer agents. *Ulcers* 2013; 2013(1):796405.
- Ren S, Wei Y, Wang R, Wei S, Wen J, Yang T, Chen X, Wu S, Jing M, Li H, Wang M. Rutaecarpine ameliorates ethanol-induced gastric mucosal injury in mice by modulating genes related to inflammation, oxidative stress and apoptosis. *Front Pharmacol*. 2020 Nov 26; 11:600295.
- Bộ Y tế. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Giải phẫu bệnh, tế bào học. Hà Nội: Nhà xuất bản Y học; 2016.
- Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959 May 1; 82(1):70-7.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979 Jun 1; 95(2):351-8.
- Kuroiwa M, Sugiyama S, Goto H, Tsukamoto Y, Nakazawa S, Ozawa T. The role of mucosal prostaglandin levels in healing of water immersion-induced gastric ulcers in rats. *Scand J Gastroenterol*. 1990 Jan 1; 25(1):59-65.
- Adinortey MB, Ansah C, Galyuon I, Nyarko A. In vivo models used for evaluation of potential antigastroduodenal ulcer agents. *Ulcers* 2013; 2013(1):796405.
- Choudhary P, Roy T, Chatterjee A, Mishra VK, Pant S, Swarnakar S. Melatonin rescues swim stress induced gastric ulceration by inhibiting matrix metalloproteinase-3 via down-regulation of inflammatory signaling cascade. *Life Sci* 2022 May 15; 297:120426.
- Kim YJ, Kim EH, Hahm KB. Oxidative stress in inflammation-based gastrointestinal tract diseases:

Challenges and opportunities. J Gastroenterol Hepatol 2012 Jun; 27(6):1004-10.

18. Woźniak B, Woźniak A, Kasprzak HA, Drewa G, Mila-Kierzenkowska C, Drewa T, Planutis G. Lipid peroxidation and activity of some antioxidant enzymes in patients with glioblastoma and astrocytoma. J Neurooncol 2007 Jan; 81:21-6.

19. Weydert CJ, Cullen JJ. Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. Nat Protoc 2010 Jan; 5(1):51-66.

20. Elsaed WM, Alahmadi AM, Al-Ahmadi BT, Taha JA, Tarabishi RM. Gastroprotective and antioxidant effects of fluvoxamine on stress-induced peptic ulcer in rats. J Taibah Univ Med Sci 2018 Oct 1; 13(5):422-31.