

## TẠO VÀ ĐÁNH GIÁ MÔ HÌNH CHUỘT NHẮT TRẮNG (SWISS ALBINO) BÉO PHÌ DO KHẨU PHẦN ĂN GIÀU CHẤT BÉO

NGUYỄN CAO TRÍ, VÕ MINH TUẤN, NGÔ MỸ TIÊN, NGUYỄN LÊ DUY, TRẦN VĂN HIẾU

*Khoa Sinh học – Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM  
tvhieu@hcmus.edu.vn*

**Tóm tắt.** Béo phì là một bệnh phức tạp, mãn tính do đó rất khó để nghiên cứu các vấn đề liên quan đến béo phì ở người trong thời gian dài. Vì vậy, một số mô hình béo phì do khẩu phần ăn ở động vật được xây dựng và phát triển đã cung cấp thông tin giá trị về sinh bệnh học và giải pháp điều trị bệnh béo phì. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng chuột Swiss albino được chia làm hai nhóm thử nghiệm và theo dõi trong 24 tuần: nhóm ăn chế độ ăn ít chất béo (CTL) và chế độ ăn giàu chất béo (HFD). Kết quả cho thấy, lượng calo hấp thu, cân nặng và tỉ lệ mỡ cơ thể của nhóm HFD cao hơn so với nhóm CTL. Vào tuần 16 của giai đoạn thử nghiệm, nhóm HFD cho thấy chỉ số cholesterol toàn phần, acid uric, ALT và AST cao hơn so với nhóm CTL và cho thấy có tình trạng gan nhiễm mỡ. Như vậy, mô hình chuột Swiss albino béo phì do khẩu phần ăn là chìa khóa quan trọng để nghiên cứu và phát triển các giải pháp ngăn ngừa và điều trị béo phì.

**Từ khóa:** Béo phì, béo phì do khẩu phần ăn, mô hình chuột béo phì, Swiss albino.

### GENERATING AND EVALUATING HIGH FAT DIET - INDUCED OBESITY SWISS ALBINO MICE MODEL

**Abstract.** Obesity is a complex and chronic disease, so it is difficult to study issues related to obesity for a long time. Therefore, some of high fat diet-induced obesity animal models have been created and developed, providing valuable information about pathogenesis and treatment solutions for obesity. In this study, we used Swiss albino mice that were divided into two experimental groups and followed for 24 weeks: the group eating a low-fat diet (Normal group - CTL) and a high-fat diet (HFD). Results showed that daily calories from fat intake, weight and the body fat ratio of HFD group was higher than that of CTL group. At week 16 of the experimental period, the HFD group showed the total cholesterol, uric acid, ALT and AST were higher than that of the CTL group, and also showed macrovesicular steatosis formation. In conclusion, obesity model from Swiss albino was established which played an important key for researching and developing obesity treatments.

**Key words.** Diet-induced obesity, obesity, obesity mouse model, Swiss albino.

### GIỚI THIỆU

Béo phì là một vấn đề sức khỏe cộng đồng, xảy ra khi cơ thể tích tụ quá nhiều mỡ hay cân nặng vượt ngưỡng cho phép, được xác định dựa trên sự tương quan của chỉ số BMI (Body Mass Index – chỉ số khối cơ thể). Thừa cân béo phì đang là mối đe dọa nghiêm trọng đối với sức khỏe con người, có thể gây ra các bệnh mạn tính không lây nhiễm như kháng insulin, rối loạn mỡ máu, gan nhiễm mỡ, ngừng thở khi ngủ... [9]. Tại Việt Nam, theo thống kê của Viện Dinh dưỡng Quốc gia vào năm 2015, tỉ lệ trẻ em béo phì tại thành phố Hồ Chí Minh và Hà Nội lần lượt là 50% và 41% và có xu hướng tăng nhanh với tốc độ tăng 40% mỗi năm [22]. Số liệu trên cho thấy tình trạng mắc bệnh béo phì ngày càng trẻ hóa, phát triển một cách nhanh chóng và trở thành vấn đề sức khỏe cộng đồng đáng lo ngại tại Việt Nam. Việc nghiên cứu về các vấn đề của béo phì trên người sẽ mất rất nhiều thời gian và công sức [15], vì vậy các mô hình béo phì trên các loài động vật gặm nhấm là biện pháp thay thế phù hợp để nghiên cứu các khía cạnh cơ chế của bệnh béo phì cũng như các tác động sinh lý của nó [20], nhờ một số ưu điểm như rút ngắn thời gian thí nghiệm do có vòng đời ngắn và đặc biệt có hệ gen gần giống con người.

Tuy nhiên, thách thức lớn ở đây là phải chọn ra mô hình động vật béo phì phù hợp và có sự tương quan với các bệnh lí thường gặp ở người. Trong các mô hình chuột béo phì hiện nay, mô hình sử dụng nhiều nhất là mô hình chuột béo phì do thiếu hụt gen mã hóa leptin (chuột ob/ob) [10] hoặc gen mã hóa thụ thể của leptin (chuột db/db),... [4]. Tuy nhiên, trên thực tế việc khiếm khuyết những gen trên rất hiếm gặp ở người nên các mô hình này gặp khó khăn trong việc nghiên cứu các bệnh liên quan. Vì vậy, một số mô hình chuột béo phì do chế độ ăn đã được xây dựng và góp phần nghiên cứu cơ chế cũng như giải pháp điều trị béo phì.

Thực phẩm giàu chất béo đã được chứng minh là có khả năng làm tăng khối lượng cơ thể và bệnh tiểu đường ở nhiều chủng chuột khác nhau [18]. Trong nhiều năm vừa qua, đã có nhiều nghiên cứu cho thấy động vật thí nghiệm có sự thay đổi rõ rệt khi sử dụng chế độ ăn giàu chất béo. Một số động vật cho thấy có sự gia tăng về tỉ lệ chất béo trong cơ thể, trong khi đó cũng có một số loài không có đáp ứng với chế độ ăn này [14]. Chủng chuột đen C57BL/6J được coi là mô hình chuột béo phì do chế độ ăn phổ biến nhất do sự nhạy cảm với chế độ ăn nhiều chất béo và có sự tương đồng về hiện tượng rối loạn chuyển hóa trong giai đoạn béo phì vì khi được cho ăn chế độ ăn giàu chất béo, chủng chuột này có sự tăng khối lượng, insulin máu và đường huyết [5]. Tuy nhiên đây không phải chủng chuột thường được sử dụng cho các nghiên cứu tại Việt Nam nên việc tạo mô hình chuột béo phì do khẩu phần ăn trên chủng C57BL/6J thường tốn nhiều chi phí cũng như đòi hỏi cần phải nhập khẩu chuột về Việt Nam. Mặt khác, tại Việt Nam, chuột nhắt trắng Swiss albino (*Mus musculus*) là giống chuột rất thường được sử dụng trong nghiên cứu về bệnh ở người. Do đó, chúng tôi đã nghiên cứu thiết lập và tạo một mô hình chuột béo phì do chế độ ăn với chi phí thấp hơn và thuận tiện hơn cho các nghiên cứu về béo phì trong nước bằng cách sử dụng chủng chuột nhắt trắng Swiss albino. Kết quả tạo mô hình chuột béo phì do khẩu phần ăn của nghiên cứu này sẽ giúp các nghiên cứu về cơ chế, giải pháp điều trị béo phì có khả thi hơn trong tương lai.

## 1. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Vật liệu sinh học

Chuột nhắt trắng Swiss albino (*Mus musculus*) (chuột cái, cân nặng 18 – 20 g) đạt chuẩn cung cấp từ Viện Kiểm nghiệm thuốc thành phố Hồ Chí Minh. Chuột được nuôi ổn định một tuần trước khi tiến hành thí nghiệm. Thức ăn dùng để nuôi chuột trong thời gian trước thí nghiệm là cám viên được cung cấp tại Viện Pasteur (thành phần bao gồm đạm tổng số 21%, chất béo 5 – 7%, chất xơ 5 – 6%, chất khoáng tổng hợp 6 – 8%), nước uống được lấy nguồn nước lọc dân dụng và áp dụng chu kỳ ngày đêm là 12 giờ sáng/tối với nhiệt độ thích hợp  $25\pm 3^{\circ}\text{C}$ .

### 2.2. Tạo mô hình chuột béo phì do khẩu phần ăn giàu chất béo

Chuột được chia ngẫu nhiên thành hai nhóm (n=12) được cho ăn 24 tuần như sau: nhóm đối chứng (CTL) được cho ăn chế độ ăn 10% chất béo; nhóm ăn béo (HFD) được cho ăn chế độ ăn 60% chất béo (Research Diet, Mỹ) [17]. Hàm lượng các chất trong chế độ ăn được thể hiện trong **bảng 1** và **bảng 2** và **bảng 3**.

**Bảng 1.** Thành phần dinh dưỡng trong khẩu phần ăn 60% béo

Các thành phần dinh dưỡng	Thành phần	Khối lượng (g)
Protein	Casein, Lactic, 30 Mesh	200
Protein	Cystine, L	3
Carbohydrate	Lodex 10	125
Carbohydrate	Sucrose	72,8
Chất xơ	Solka Floc, FCC200	50
Chất béo	Mỡ heo	245
Chất béo	Dầu đậu nành, USP	25
Khoáng chất	Các muối của Na+, K+, Ca2+	50
Vitamine	Choline Bitartrate	2
Vitamine	Các vitamin A, B và D	1
Chất màu	Dye, Blue FD&C #1, Alum. Lake 35-42%	0,05
		Tổng cộng: 773,85

**Bảng 2.** Thành phần dinh dưỡng trong khẩu phần ăn đối chứng

Các thành phần dinh dưỡng	Thành phần	Khối lượng (g)
Protein	Casein, Lactic, 30 Mesh	200
Protein	Cystine, L	3
Carbohydrate	Sucrose	354
Carbohydrate	Bột ngô	315
Carbohydrate	Lodex 10	35
Chất xơ	Solka Floc, FCC200	50
Chất béo	Mỡ heo	20
Chất béo	Dầu đậu nành, USP	25
Khoáng chất	Các muối của Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Ca <sup>2+</sup>	50
Vitamine	Choline Bitartrate	2
Vitamine	Các vitamin A, B và D	1
Chất màu	Dye, Yellow FD&C #5, Alum. Lake 35-42%	0,05
		<b>Tổng cộng: 1055,05</b>

**Bảng 3.** Hàm lượng các chất trong chế độ ăn

	D12492	D12450J
Protein (% kcal)	20	20
Carbohydrate (% kcal)	20	70
Fat (% kcal)	60	10
Năng lượng cung cấp (kcal/g)	5,2	3,8

Thí nghiệm tuân thủ theo các nguyên tắc thí nghiệm trên động vật như số lượng động vật thí nghiệm là nhỏ nhất và sử dụng các biện pháp gây chết nhanh chóng, tránh gây đau đớn kéo dài trong trường hợp cần thu mẫu.

### 2.3. Đánh giá mô hình dựa trên cân nặng chuột và lượng thức ăn tiêu thụ hằng ngày

Lượng thức ăn tiêu thụ (g/ngày) được ghi nhận hằng ngày. Tổng lượng calo nhận được của mỗi nhóm sẽ được tính dựa trên lượng thức ăn tiêu thụ hằng ngày. Bên cạnh đó, khối lượng được ghi nhận tương ứng cho mỗi cá thể chuột vào mỗi tuần trong suốt quá trình thí nghiệm (24 tuần).

### 2.4. Đánh giá mô hình dựa trên các chỉ số sinh hóa

Sau các thí nghiệm cho ăn tương ứng với mỗi nhóm, chuột được bỏ đói trong 12 giờ và sẽ được gây mê với thành phần thuốc mê như **bảng 4**.

**Bảng 4.** Thành phần thuốc gây mê

	Nồng độ stock (mg/mL)	Thể tích pha trộn (mL)	Liều dùng (mg/kg)	Liều tiêm cho chuột
Ketamine	100	1	100	-
Xylazine	20	0,5	10	-
PBS 1X		3,5		-
Tổng thể tích		5		0,05 mL/10 g

Liều lượng 0,05 mL cho mỗi 10 g thể trọng để tiến hành thu máu (n=3) vào các tuần 8, 12, 16 và 24. Máu được bảo quản ở 4°C, sau đó tiến hành ly tâm ở tốc độ 5000 vòng trong 10 phút để thu huyết thanh. Mẫu huyết thanh thu được sẽ được tiến hành phân tích bằng máy sinh hóa bán tự động Erba Chem 5v3 để đo các chỉ số sau: triglyceride (TG) [19], cholesterol toàn phần (TC) [3], cholesterol lipoprotein tỉ trọng cao (HDL-c) [12], nồng độ enzyme Alanine-amino transferase (ALT) [1] và Aspartate-amino transferase (AST) [2], acid uric [21]. Chỉ số cholesterol lipoprotein tỉ trọng thấp (LDL-c) sẽ được tính theo công thức:

$$\text{LDL-c} = \text{TC} - \text{HDL-c} - \text{TG}/5 \quad (1)$$

## 2.5. Đánh giá mô hình dựa trên tỉ lệ mỡ và đánh giá mô học gan

Sau thí nghiệm thu máu, các cá thể chuột được giải phẫu thu nhận tổng lượng mô mỡ và mô gan. Việc thu mỡ sẽ gồm hai công đoạn là thu mỡ nâu và mỡ trắng, ghi nhận khối lượng mỡ tương ứng của hai nhóm chuột. Trong đó, mỡ nâu là phần mỡ được thu ở phần lưng gần các chi chuột, có thể dễ dàng thấy được sau khi đã cắt lớp da ở sau lưng. Phần mỡ nội tạng tập trung chủ yếu trong vùng ổ bụng, xung quanh các nội quan. Sau khi mở màng bụng chuột, có thể thấy và thu nhận được bằng cách dùng kéo lọc mỡ. Tổng lượng mỡ thu được (gồm mỡ nâu và mỡ nội tạng) được chia cho khối lượng của chuột theo công thức và ghi nhận giá trị trung bình:

$$\frac{\text{Khối lượng mỡ nâu và mỡ nội tạng}}{\text{Khối lượng cơ thể chuột}} \times 100 (\%) \quad (2)$$

Sau đó, mẫu gan thu được sẽ được cân trực tiếp để ghi nhận khối lượng. Cuối cùng, mẫu gan sau khi được cắt lát sẽ được cố định trong formaldehyde 10% trong ít nhất 24 giờ, sau đó được đúc khối bằng parafin, cắt lát và nhuộm màu với hematoxylin và eosin để đánh giá hình thái tế bào. Mẫu nhuộm sẽ được chụp ở độ phóng đại 20X và 40X để đánh giá tình trạng nhiễm mỡ ở gan. Vùng tế bào mỡ được tính toán bằng phần mềm ImageJ với độ lặp lại ba lần.

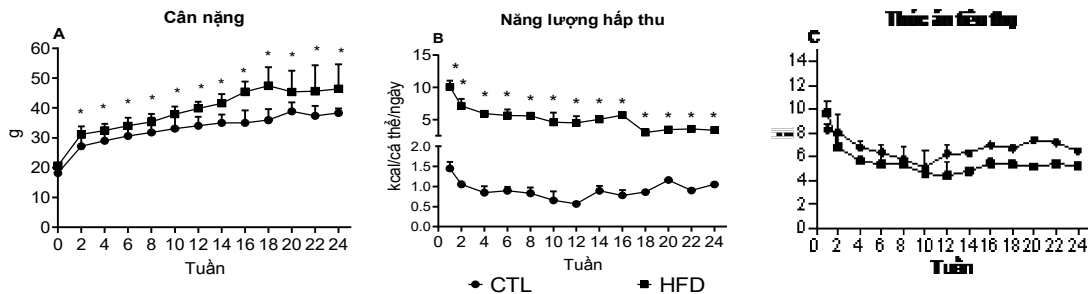
## 2.6. Xử lý thống kê

Tất cả dữ liệu được hiển thị dưới dạng giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của giá trị trung bình với độ lặp lại ba lần. Số liệu được xử lý bằng phần mềm Graphpad để vẽ đồ thị. Tất cả so sánh thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng phép thử ANOVA giữa hai nhóm và giữa các tham số trong cùng một nhóm tại các thời điểm khác nhau. Giá trị  $P < 0,05$  được coi là có ý nghĩa thống kê. Bên cạnh đó, kết quả xét nghiệm mô học sẽ được phân tích bằng phần mềm ImageJ để tính toán tỉ lệ tế bào mỡ hiện diện trong mô gan.

## 2. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1 Đánh giá mô hình dựa trên lượng thức ăn tiêu thụ và cân nặng

Kết quả cho thấy lượng calo hấp thu khác nhau có ảnh hưởng đến cân nặng của hai nhóm chuột trong suốt quá trình thí nghiệm. Lượng thức ăn tiêu thụ của hai nhóm cũng có sự chênh lệch đáng kể (hình 1C) nhưng do thành phần của chế độ ăn khác nhau nên lượng calo hấp thu của nhóm HFD trong 24 tuần cao hơn so với nhóm CTL (5,68±0,51 kcal so với 0,90±0,14 kcal) (hình 1B). Việc hấp thu năng lượng cao trong 24 tuần của nhóm HFD dẫn đến việc cân nặng của nhóm chuột này có xu hướng tăng nhanh hơn so với nhóm CTL (hình 1C). Sau hai tuần thử nghiệm, cân nặng của nhóm HFD đã cao hơn và có sự khác biệt so với nhóm CTL (31,15±2,69 g so với 27,23±2,95 g). Sau 24 tuần, cân nặng của nhóm HFD đạt được 46,41±8,24 g, trong khi đó nhóm cân nặng của nhóm CTL chỉ 38,30±1,90 g. Như vậy, sau 24 tuần sử dụng chế độ ăn giàu chất béo, nhóm HFD đã tăng cân nhanh hơn so với nhóm đối chứng (CTL).



**Hình 1. Kết quả cân nặng và mức năng lượng hấp thu của hai nhóm chuột sau 24 tuần thử nghiệm.** A: kết quả cân nặng. B: mức năng lượng hấp thu của hai nhóm chuột. C: lượng thức ăn tiêu thụ của hai nhóm chuột. CTL: nhóm đối chứng, HFD: nhóm ăn khẩu phần giàu chất béo. Dấu "\*" thể hiện số liệu có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

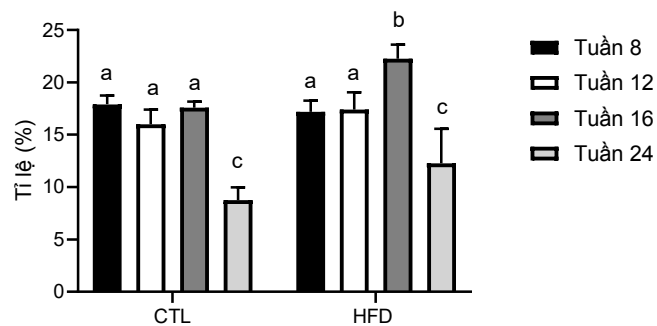
Mô hình chuột béo phì do chế độ ăn trong thí nghiệm này được dựa trên cơ sở thí nghiệm của Della Vedova và cộng sự năm 2016 trên chủng chuột C57BL/6J [7]. Kết quả thí nghiệm cho thấy chuột bắt đầu

có sự khác biệt cân nặng sau hai tuần, kết quả tương đồng với thí nghiệm của Della Vedova và cộng sự năm 2016 [7].

### 3.2 Đánh giá mô hình dựa trên tỉ lệ mỡ cơ thể

Sau khi đã đánh giá về cân nặng trung bình, lượng thức ăn thì tỉ lệ mỡ so với khối lượng cơ thể là một chỉ tiêu cần phải quan tâm. Chất béo được lưu trữ khắp cơ thể trong các tế bào gọi là tế bào mỡ. Các tế bào mỡ có thể tăng hoặc giảm kích thước tùy vào lượng chất béo mà cơ thể đang lưu trữ. Việc tiêu thụ một lượng lớn chất béo từ thức ăn (60% kcal từ chất béo) sẽ gây tích tụ mỡ và gây tăng cân ở chuột.

Kết quả cho thấy tỉ lệ mỡ của nhóm HFD và nhóm CTL không có sự khác biệt sau 8 tuần (CTL: 17,90±0,85%; HFD: 17,20±1,06%) cũng như sau 12 tuần thì tỉ lệ mỡ của hai nhóm vẫn không có sự khác biệt (CTL: 16,00±1,41%; HFD: 17,40±1,65%) (hình 2). Mặt khác, đến tuần 16, tỉ lệ mỡ của nhóm HFD có xu hướng tăng cao hơn so với nhóm CTL (CTL: 17,60±0,57%; HFD: 22,27±1,36%). Hơn thế nữa, ở tuần 24, lượng mỡ của hai nhóm của xu hướng giảm (nhóm CTL giảm từ 17,6±0,57 xuống 8,77±1,21%; nhóm HFD từ 21,93±1,85 xuống 12,25±3,32%). Như vậy, sau 16 tuần thử nghiệm, tỉ lệ mỡ cơ thể của hai nhóm bắt đầu có sự khác biệt. Có thể thấy, chúng tôi đã bước đầu tạo được mô hình chuột béo phì do khẩu phần ăn khi sự khác biệt về cân nặng xuất hiện từ tuần thứ hai cũng như có sự khác biệt về lượng mỡ cơ thể ở tuần 16 của thử nghiệm. Việc giảm tỉ lệ mỡ cơ thể khi kéo dài thử nghiệm đến tuần 24 cho thấy có sự bất thường trong quá trình chuyển hóa và trao đổi chất của hai nhóm chuột. Để làm rõ hơn về vấn đề này cần phải tiến hành đánh giá ảnh hưởng của chế độ ăn đối với các chỉ số sinh hóa.



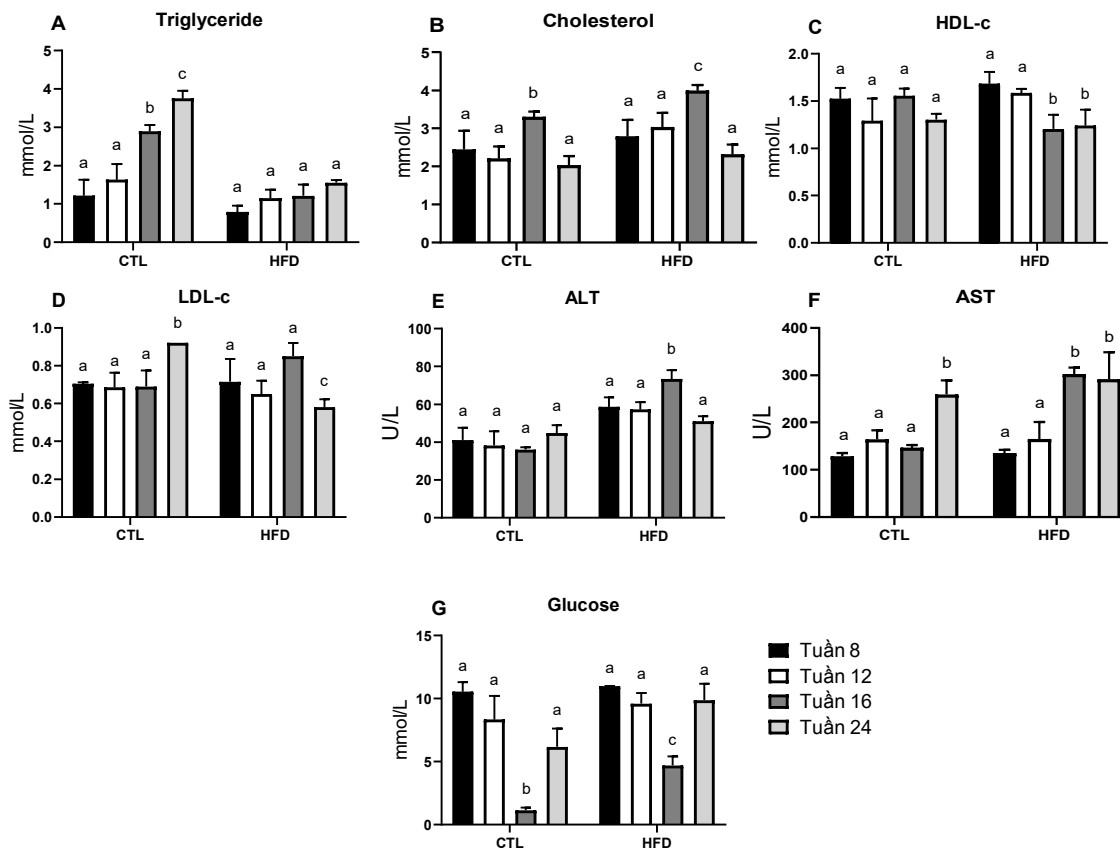
**Hình 2. Tỉ lệ mỡ cơ thể của hai nhóm chuột sau 8, 12, 16 và 24 tuần thử nghiệm.** CTL: nhóm đối chứng. HFD: nhóm ăn khẩu phần giàu chất béo. Các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt theo thống kê.

### 3.3 Đánh giá mô hình dựa trên các chỉ số sinh hóa

Các chỉ số sinh hóa khác nhau được đánh giá trong huyết thanh của các nhóm chuột CTL và HFD. Kết quả (hình 3) cho thấy sau khi sử dụng chế độ ăn giàu chất béo thì sau 8 tuần và 12 tuần thử nghiệm, các chỉ số sinh hóa như triglyceride, cholesterol, HDL-c, LDL-c, ALT, AST của nhóm HFD không có sự khác biệt so với nhóm CTL. Tuy nhiên tại thời điểm tuần 16 của thí nghiệm thì nhóm HFD bắt đầu có sự khác biệt. Cụ thể sau 16 tuần, nồng độ triglyceride của nhóm HFD không có sự khác biệt (1,12±0,30 mmol/L), trong khi đó nồng độ triglyceride của nhóm CTL tăng cao (2,90±0,16 mmol/L) (hình 3A). Mặt khác, nồng độ cholesterol toàn phần của nhóm HFD tăng cao hơn so với nhóm CTL (CTL: 3,30±0,14 mmol/L và HFD: 4,00±0,15 mmol/L) ( $P<0,05$ ) (hình 3B). Đồng thời, lượng HDL-c của nhóm HFD sau 16 tuần thấp hơn so với nhóm CTL (CTL: 1,56±0,08 mmol/L và HFD: 1,21±0,15 mmol/L) ( $P<0,05$ ) (hình 3C) nhưng nồng độ LDL-c của nhóm HFD không có sự khác biệt so với nhóm CTL sau 16 tuần ( $P>0,05$ ) (hình 3D). Hàm lượng các enzyme ALT và AST của nhóm HFD cũng có xu hướng tăng cao sau 16 tuần (hình 3E, 3F). Vào tuần cuối cùng của giai đoạn thử nghiệm, chỉ số cholesterol của hai nhóm đột ngột giảm xuống (CTL: 2,03±0,25 mmol/L và HFD: 2,32±0,25 mmol/L) (hình 3B). Bên cạnh đó, chỉ số glucose của hai nhóm tăng cao (CTL: 6,17±1,44 mmol/L và HFD: 8,78±2,08 mmol/L) (hình 3G). Các chỉ số khác không có sự thay đổi nhiều sau 24 tuần.

Như vậy, sau 16 tuần sử dụng chế độ ăn giàu chất béo thì nhóm HFD có xu hướng tăng cao các chỉ số mỡ máu, bên cạnh đó, chỉ số men gan ALT và AST cũng tăng cao là dấu hiệu cho thấy mô gan của nhóm

này đang bị tổn thương. Hai enzyme ALT và AST là hai enzyme nội bào có nhiệm vụ xúc tác các phản ứng sinh hóa trong cơ thể và thường được sử dụng làm chỉ tiêu vàng trong việc xét nghiệm các tổn thương gan. Vì vậy việc đánh giá mô học gan là điều không thể thiếu trong thí nghiệm này.



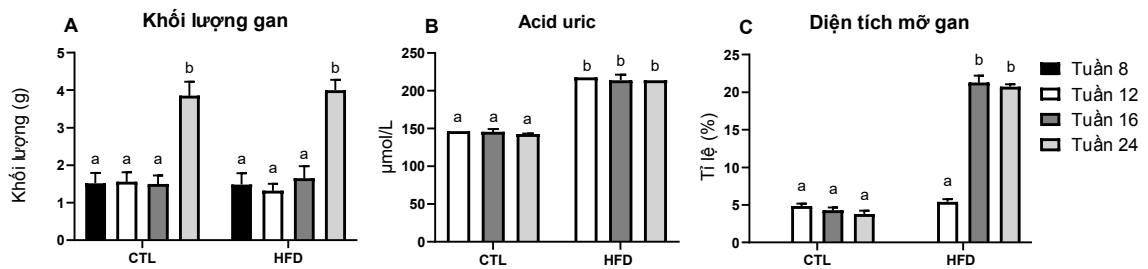
**Hình 3. Kết quả các chỉ số sinh hóa của các nhóm chuột tại các thời điểm 8, 12, 16 và 24 tuần thử nghiệm.** A: nồng độ triglyceride. B: nồng độ cholesterol toàn phần. C: nồng độ HDL-c. D: nồng độ LDL-c. E: nồng độ ALT. F: nồng độ AST. G: nồng độ glucose. CTL: nhóm đối chứng, HFD: nhóm ăn khẩu phần giàu chất béo. Chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt theo thống kê.

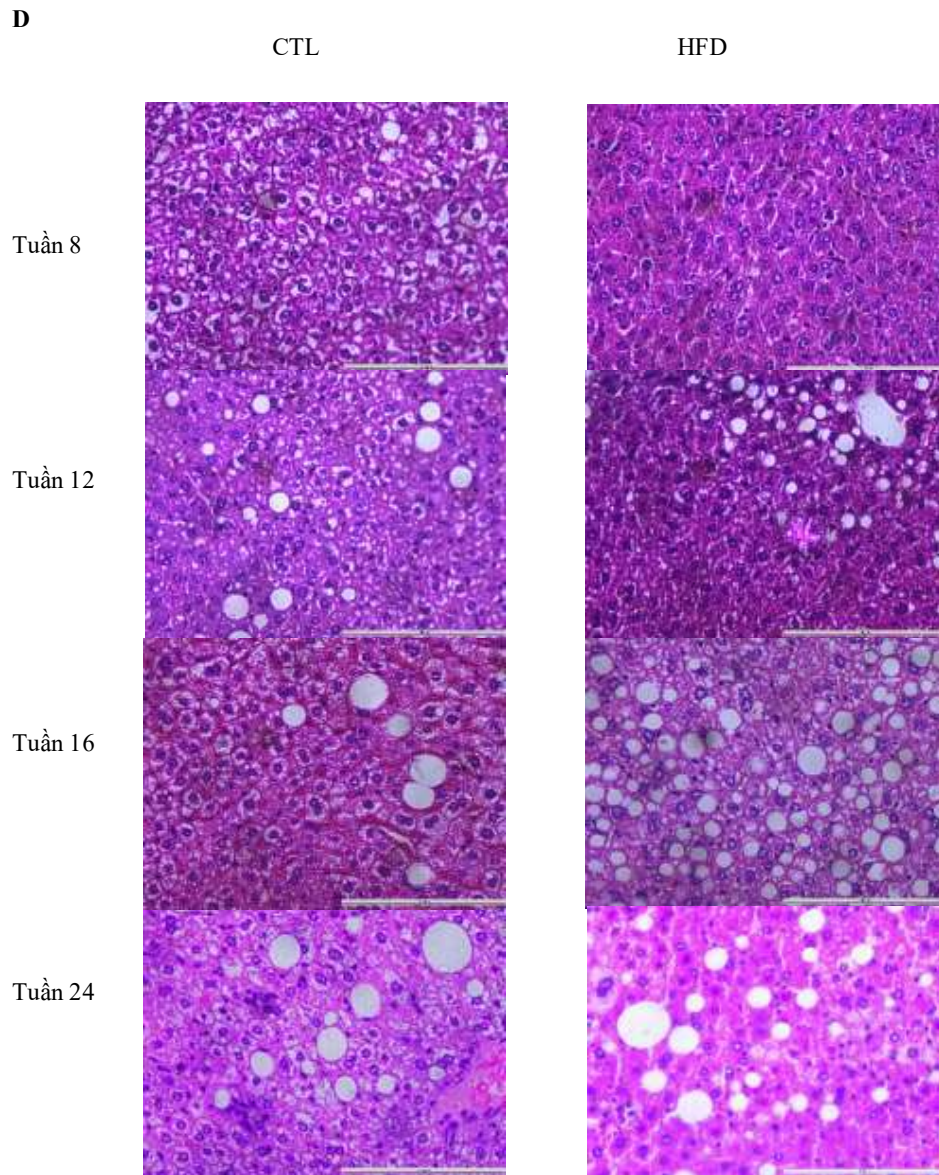
Sự gia tăng triglyceride trong máu là một trong những tiêu chuẩn để chẩn đoán hội chứng rối loạn chuyển hóa - một trong những hậu quả của béo phì [11]. Các acid béo tự do trong gan tăng cao có thể dẫn đến việc sản xuất quá mức các lipoprotein tỉ trọng rất thấp (VLDL-c) giàu triglyceride, từ đó dẫn đến nồng độ triglyceride trong máu tăng cao. Việc tăng nồng độ triglyceride cũng một phần phản ánh tình trạng kháng insulin [11]. Tuy nhiên, nhóm đối chứng dù không sử dụng chế độ ăn giàu chất béo nhưng nồng độ triglyceride vẫn cao hơn nhóm HFD có thể là do thành phần carbohydrate của chế độ ăn của nhóm đối chứng cao (70%). Carbohydrate bao gồm các gốc đường đơn giản như monosaccharide (glucose, fructose), disaccharide và polysaccharide. Trong đó, fructose được gan chuyển hóa thành triglyceride, vì vậy kết quả triglyceride của nhóm CTL cao hơn so với nhóm HFD. Việc hấp thu chế độ ăn giàu chất béo trong một thời gian dài sẽ gây rối loạn chuyển hóa, mô mỡ tăng tiết các hoạt chất nhóm adipocytokine (Interleukin-6, Tumor necrosis factor-alpha, Leptin, Adiponectin...). Tất cả những hiện tượng này đều có vai trò trong việc gây kháng insulin ở gan, kết quả là nồng độ glucose lúc đói tăng cao [7] và tình trạng này xảy ra tương tự với nhóm đối chứng khi nồng độ triglyceride trong máu quá cao. Việc kháng insulin một thời gian dài sẽ làm các nhóm chuột có nguy cơ mắc phải bệnh đái tháo đường loại 2.

### 3.4 Kết quả đánh giá acid uric máu và phân tích mô học

Nhằm đánh giá các biến chứng có liên quan tới béo phì, chúng tôi đã thực hiện phân tích chỉ số uric acid trong máu cũng như phân tích mô gan. Nồng độ acid uric của nhóm HFD luôn cao hơn so với nhóm CTL kể từ tuần thứ 12 của thử nghiệm (hình 4B). Cụ thể, giá trị acid uric trong máu của nhóm CTL dao động trong khoảng  $144,6 \pm 2,56$  còn của nhóm HFD là  $214,88 \pm 4,44$  ( $\mu\text{mol/L}$ ) trong hầu hết giai đoạn thử nghiệm. Béo phì là một nguyên nhân gây ảnh hưởng đến sự chuyển hoá uric acid, trong đó, tình trạng kháng insulin thường dẫn tới sự gia tăng hàm lượng acid uric trong máu. Trong trường hợp uric acid trong máu cao và thời gian kéo dài, có thể là một nguyên nhân dẫn đến sự tổn thương gan và gây nên gan nhiễm mỡ không do cồn (NAFLD – Non alcoholic fatty liver diseases) [13]. Darmawan và cộng sự năm 2017 đã cho thấy rằng chỉ số uric acid trong máu càng tăng thì càng có nguy cơ mắc NAFLD [6]. Vì vậy, chỉ số uric acid cao trong máu của nhóm HFD so với CTL phần nào cho thấy được chế độ ăn béo duy trì suốt 24 tuần thử nghiệm đã tác động lên sự thu nhận insulin như đã nhắc đến ở mục 3.3 và có khả năng dẫn đến gan nhiễm mỡ không do cồn.

Để khẳng định thêm cho sự ảnh hưởng của chế độ ăn béo lên gan, chúng tôi đã thực hiện việc nhuộm mà đánh giá mô học gan ở cả hai nhóm chuột. Đánh giá mô học gan được thực hiện với mỗi nhóm chuột tại ba thời điểm 8, 12, 16 và 24 tuần thử nghiệm. Gan sau khi được ghi nhận cân nặng sẽ tiến hành nhuộm H&E. Các lát cắt nhuộm H&E được phân tích bằng kính hiển vi với độ phóng đại 10X để có cái nhìn tổng quát, sau đó sẽ chụp ở độ phóng đại 40X để quan sát rõ các tế bào mỡ trong mô gan (hình 4D). Kết quả cho thấy trong 16 tuần thử nghiệm, khối lượng gan của hai nhóm không có sự khác biệt. Tuy nhiên vào tuần 24, khối lượng gan của hai nhóm này đột ngột tăng (CTL:  $3,85 \pm 0,38$  g và HFD:  $4,00 \pm 0,28$  g) (hình 4A). Bên cạnh đó, mặc dù sử dụng chế độ ăn giàu chất béo nhưng trong tám tuần đầu tiên, gan của nhóm HFD và nhóm CTL không có các tế bào mỡ (đốm trắng hình tròn) (hình 4D). Sau 12 tuần thử nghiệm, gan của hai nhóm này bắt đầu nhiễm mỡ nhưng tỉ lệ mỡ gan của nhóm HFD và nhóm CTL không có sự khác biệt. Tuy nhiên, gan của nhóm HFD có hiện tượng bị nhiễm mỡ nặng vào tuần 16 do sự xuất hiện của rất nhiều tế bào mỡ trong gan của nhóm này và nhóm CTL thì ngược lại (hình 4C, 4D). Như vậy, sau 24 tuần thử nghiệm, gan của nhóm HFD có hiện tượng bị nhiễm mỡ nặng.





**Hình 4. Đánh giá tình trạng nhiễm mỡ của gan.** A: khối lượng gan. B: nồng độ acid uric. C: tỉ lệ tế bào mỡ gan. D: kết quả đánh giá mô học mô gan. CTL: nhóm đối chứng, HFD: nhóm ăn khẩu phần giàu chất béo. Các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt theo thống kê. Thước đo kích thước 100  $\mu$ m.

Với giả thiết được đặt ra là một phần lượng mỡ cơ thể đã di chuyển và bắt đầu tích lũy trong gan ở tuần 24, điều này dẫn đến việc làm tăng khối lượng gan và tăng kích thước các tế bào mỡ trong gan. Việc vỡ tế bào mỡ gan sẽ tiết chất kích thích các đại thực bào mỡ xâm nhập và biệt hóa các tế bào đơn nhân, gây nên viêm gan [16], ngoài ra một nghiên cứu của Darmawan và cộng sự năm 2017 cho thấy có sự liên hệ giữa acid uric và tình trạng gan nhiễm mỡ. Vai trò của acid uric được giải thích thông qua việc tiết các cytokine gây viêm gan [6, 8]. Vì vậy nồng độ acid uric cao cho thấy tỉ lệ thuận với sự viêm gan và tình trạng gan nhiễm mỡ. Tuy nhiên, cơ chế về sự di chuyển của mỡ vào gan chưa được làm rõ ở nghiên cứu này.



Tóm lại, chủng chuột Swiss albino có thể được sử dụng làm mô hình béo phì do chế độ ăn giàu chất béo, mặc dù chủng chuột này vẫn chưa thực sự đáp ứng hoàn toàn với chế độ ăn giàu chất béo vì chỉ số triglyceride và LDL-c chưa cho thấy sự ảnh hưởng trong thí nghiệm này.

### 3. KẾT LUẬN

Mô hình chuột béo phì do khẩu phần ăn giàu chất béo được thiết lập thành công trên chủng chuột nhắt trắng Swiss albino trong 24 tuần. Nhóm chuột ăn khẩu phần ăn giàu chất béo đáp ứng được các yêu cầu của mô hình béo phì bao gồm chỉ số cân nặng, chỉ số mỡ máu cao hơn bình thường và có tình trạng gan nhiễm mỡ nặng. Hiện tại, ở Việt Nam chưa có nghiên cứu nào sử dụng chủng chuột Swiss albino để tạo mô hình chuột béo phì. Vì vậy kết quả nghiên cứu này sẽ giúp việc nghiên cứu và điều trị béo phì trên mô hình chuột béo phì tiện lợi hơn vì đây là chủng chuột phổ biến tại Việt Nam.

### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Sở Khoa học Công nghệ Thành phố Hồ Chí Minh trong khuôn khổ Đề tài mã số 235/2017/HĐ-SKHCN.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] *ALT (SGPT) Reagent Set (P803-HA726-01)*, Pointe Scientific.
- [2] *AST (SGOT) Reagent Set (P803-HA761-01)*, Pointe Scientific.
- [3] *Cholesterol (Liquid) Reagent Set (P803-C7510-BIO)*, Pointe Scientific.
- [4] Coleman DL, Obese and diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice, *Diabetologia*, vol. 14, no. 3, pp. 141-148, 1978.
- [5] Collins S, Martin TL, Surwit RS, and Robidoux J, Genetic vulnerability to diet-induced obesity in the C57BL/6J mouse: physiological and molecular characteristics, *Physiology behavior*, vol. 81, no. 2, pp. 243-248, 2004.
- [6] Darmawan G, Hamijoyo L, and Hasan IJAMI, Association between serum uric acid and non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis, vol. 49, no. 2, pp. 136-147, 2017.
- [7] Della Vedova MC, Muñoz MD *et al.*, A mouse model of diet-induced obesity resembling most features of human metabolic syndrome, *Nutrition metabolic insights*, vol. 9, pp. 93-102, 2016.
- [8] El Ridi R and Tallima HJJoar, Physiological functions and pathogenic potential of uric acid: A review, vol. 8, no. 5, pp. 487-493, 2017.
- [9] Freedman DS, Dietz WH, Srinivasan SR, and Berenson GS, The relation of overweight to cardiovascular risk factors among children and adolescents: the Bogalusa Heart Study, *Pediatrics*, vol. 103, no. 6, pp. 1175-1182, 1999.
- [10] Friedman JM and Halaas JL, Leptin and the regulation of body weight in mammals, *Nature*, vol. 395, no. 6704, pp. 763-770, 1998.
- [11] Ginsberg HN, Zhang Y-L, and Hernandez-Ono AJAomr, Regulation of plasma triglycerides in insulin resistance and diabetes, vol. 36, no. 3, pp. 232-240, 2005.
- [12] *HDL Cholesterol Precipitating Reagent Set (P803-H7511-01)*, Pointe Scientific.
- [13] Jaruvongvanich V, Ahuja W, Wirunsawanya K, Wijarnpreecha K, Ungprasert PJEjog, and hepatology, Hyperuricemia is associated with nonalcoholic fatty liver disease activity score in patients with nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis, vol. 29, no. 9, pp. 1031-1035, 2017.
- [14] Johnson PR, Greenwood M, Horwitz BA, and Stern JS, Animal models of obesity: genetic aspects, *Annual review of nutrition*, vol. 11, no. 1, pp. 325-353, 1991.
- [15] Kurth T, Gaziano JM *et al.*, Prospective study of body mass index and risk of stroke in apparently healthy women, *Circulation*, vol. 111, no. 15, pp. 1992-1998, 2005.

- [16] Lee J, Adipose tissue macrophages in the development of obesity-induced inflammation, insulin resistance and type 2 diabetes, *Archives of pharmacal research*, vol. 36, no. 2, pp. 208-222, 2013.
- [17] Nguyen SG, Kim J *et al.*, Laminarin favorably modulates gut microbiota in mice fed a high-fat diet, vol. 7, no. 10, pp. 4193-4201, 2016.
- [18] Sclafani A, Animal models-etiologic classification, *International journal of obesity*, vol. 8, pp. 491-508, 1984.
- [19] *Triglyceride (GPO) (Liquid) Reagent Set (P803-T7532-01)*, Pointe Scientific.
- [20] Tschöp M and Heiman ML, Rodent obesity models: an overview, *Experimental clinical endocrinology diabetes*, vol. 109, no. 06, pp. 307-319, 2001.
- [21] *Uric Acid (Liquid) Reagent Set (P803-U7581-BIO)*, Pointe Scientific.
- [22] Hương CTT. (2018 ) Phòng chống Thừa cân - Béo phì ở trẻ nhỏ.[Online].  
Available: <http://viendinhduong.vn/vi/tin-tuc---su-kien-noi-bat/phong-chong-thua-can---beo-phi-o-tre-nho.html>

Ngày nhận bài: 24/09/2019

Ngày chấp nhận đăng: 28/11/2019