

Mô Hình Động Vật Bệnh Lí



CBGD: PGS.TS Trương Hải Nhung
Email: thnhung@hcmus.edu.vn

BM Sinh lí học và CNSH Động vật & PTN Tế bào gốc
(Trường ĐH Khoa học Tự nhiên, ĐHQG TP.HCM)

Mục tiêu môn học

Mục tiêu	Mô tả (mức tổng quát)
G1	Hiểu được tầm quan trọng của mô hình động vật bệnh lý trong nghiên cứu và ứng dụng
G2	Biết được nguyên tắc xây dựng một số mô hình động vật bệnh lý
G3	Biết được quy trình tổng quát để tạo một mô hình bệnh lý và một số mô hình bệnh lý tiêu biểu
G4	Hiểu được tầm quan trọng của khía cạnh đạo lý trong nghiên cứu trên động vật
G5	Thực hành tư duy phản biện

KẾ HOẠCH :

1. Giữa kì (55%)
2. Thi cuối kì (45%)
4. Điểm khuyến khích

Tài liệu tham khảo:

Sách:

- *P. Michael Conn, Animal models for the study of human disease, Elsevier Inc, 2013*
- *L.F.M van Zutphen, V. Baumans, A.C. Beynen. Principles of laboratory animal science: a contribution to the human use and care of animals and to the quality of experimental results – Rev.ed., Elsevier Science B.V 2001*
- *P. Michael Conn, Source book of Models for Biomedical Research, Humana Press, 2008*
- *Yuehuei H. An, M.D. Richard J. Friedman, M.D. Animal Models In Orthopaedi Research. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA, 1999*

BÀI TẬP TẠI LỚP

	100%	Giỏi (8-10)	Khá (7-7.5)	Đạt (5-6.5)	Không đạt (<5)
Tiêu chí					
Cấu trúc sơ đồ	60%	Cấu trúc sơ đồ rõ ràng, đẹp, chính xác và có giải thích đầy đủ trên sơ đồ	Cấu trúc sơ đồ rõ ràng, chính xác, có giải thích nhưng chưa đầy đủ	Cấu trúc sơ đồ chính xác nhưng thiếu phần giải thích	Cấu trúc sơ đồ chưa chính xác hoặc chưa hoàn thiện
Giải thích trên sơ đồ	40%	Giải thích chính xác và đầy đủ các mối quan hệ trên sơ đồ	Giải thích chính xác nhưng chưa đầy đủ	Không có giải thích	Giải thích không chính xác, hoặc không có giải thích.

BÀI TẬP VỀ NHÀ

	100%	Giỏi (8-10)	Khá (7-7.5)	Đạt (5-6.5)	Không đạt (<5)
Giải thích rõ ràng các vấn đề trong bài tập và tóm tắt được các thông tin đã cung cấp trong bài tập	20%	Hiểu biết rõ và ộng về vấn đề trong bài tập Tóm tắt thông tin hiệu quả	Hiểu biết rõ và đầy đủ về vấn đề trong bài tập Tóm tắt thông tin đầy đủ	Có hiểu biết về vấn đề trong bài tập Tóm tắt thông tin đầy đủ	Ít hiểu biết về các vấn đề trong bài tập, tình hình hiện tại có liên quan đến các vấn đề của bài tập nêu ra Tóm tắt thiếu hoặc kém thông tin
Bàn luận và phân tích các thông tin trong bài tập •Tổ chức các ý logic, các ý kiến bàn luận chính được trình bày rõ ràng và dễ theo dõi •Phân tích các vấn đề và có các dẫn chứng thuyết phục	40%	Có phân tích và bàn luận các thông tin trong bài tập rất rõ ràng và thuyết phục	Có phân tích và bàn luận các thông tin trong bài tập rõ ràng, sử dụng dẫn chứng hiệu quả	Có phân tích và bàn luận các thông tin trong bài tập nhưng chưa rõ ràng, có sử dụng dẫn chứng	Phân tích và bàn luận các thông tin trong bài tập không tốt (hoặc không có phân tích và bàn luận)

BÀI TẬP VỀ NHÀ

Kết luận và các kiến nghị phù hợp với các ý kiến bàn luận và phân tích	20%	Kết luận, giải pháp và/ hoặc kế hoạch hành động hiệu quả được nêu rõ ràng Dữ liệu hoặc dẫn chứng cụ thể đã được sử dụng khi cần thiết để hỗ trợ việc phân tích và kết luận.	Kết luận và kiến nghị phù hợp và thuyết phục với các ý kiến bàn luận và phân tích	Kết luận và kiến nghị phù hợp với các ý kiến bàn luận và phân tích	Không có kết luận và kiến nghị phù hợp.
Hình thức trình bày bài viết • Tổ chức bài viết logic, các điểm bàn luận được trình bày rõ ràng và dễ theo dõi. • Các quan điểm và bàn luận được giải thích bằng việc sử dụng các khái niệm hoặc dẫn chứng khoa học. • Văn phong trong sáng, đúng ngữ pháp và chính tả	20%	Tổ chức bài viết logic, các điểm bàn luận và ý chính được trình bày rõ ràng và dễ theo dõi, có giải thích rõ ràng và dẫn chứng đầy đủ thuyết phục Bài viết tốt, không có lỗi chính tả và ngữ pháp	Tổ chức bài viết logic, các điểm bàn luận và ý chính được trình bày rõ ràng và dễ theo dõi, có giải thích rõ ràng và dẫn chứng đầy đủ. Bài viết không có lỗi chính tả và ngữ pháp	Tổ chức bài viết logic, các điểm bàn luận và ý chính được trình bày rõ ràng và dễ theo dõi, có một số ý giải thích và 1 số dẫn chứng Bài viết có một số lỗi chính tả và ngữ pháp	Tổ chức bài viết không logic, các điểm bàn luận được trình bày nhưng không có giải thích hoặc có giải thích nhưng không có dẫn chứng Bài viết mắc nhiều lỗi chính tả và ngữ pháp



VOI





Loài chó



Chim Hải Âu

Tính trung thực

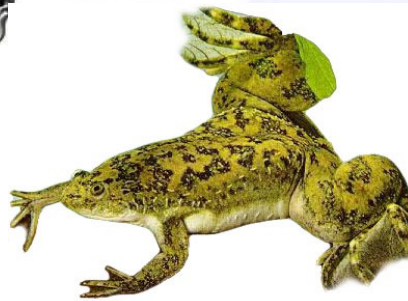




Puffin (Chim Hải âu rụt cổ)



I. Giới thiệu



MÔ HÌNH ĐỘNG VẬT TRONG NGHIÊN CỨU Y SINH

Là ngành học mang lại:

Giá trị khoa học và giá trị ứng dụng cao và là **chìa khóa vàng** trong nghiên cứu điều trị y sinh học

Giá trị kinh tế: mang lợi nhuận siêu khổng lồ



Lịch sử sử dụng động vật trong nghiên cứu cứu

- Tỉ thứ 2 Trước Công Nguyên, Galen (triết gia người Hy Lạp) đã nghiên cứu trên lợn, khi không đuôi.

Theo Galen: tất cả các thông tin rút ra từ nghiên cứu ĐV có thể áp dụng trực tiếp trên người

- Tỉ 16: Sai lầm của Galen mới được nhận thấy



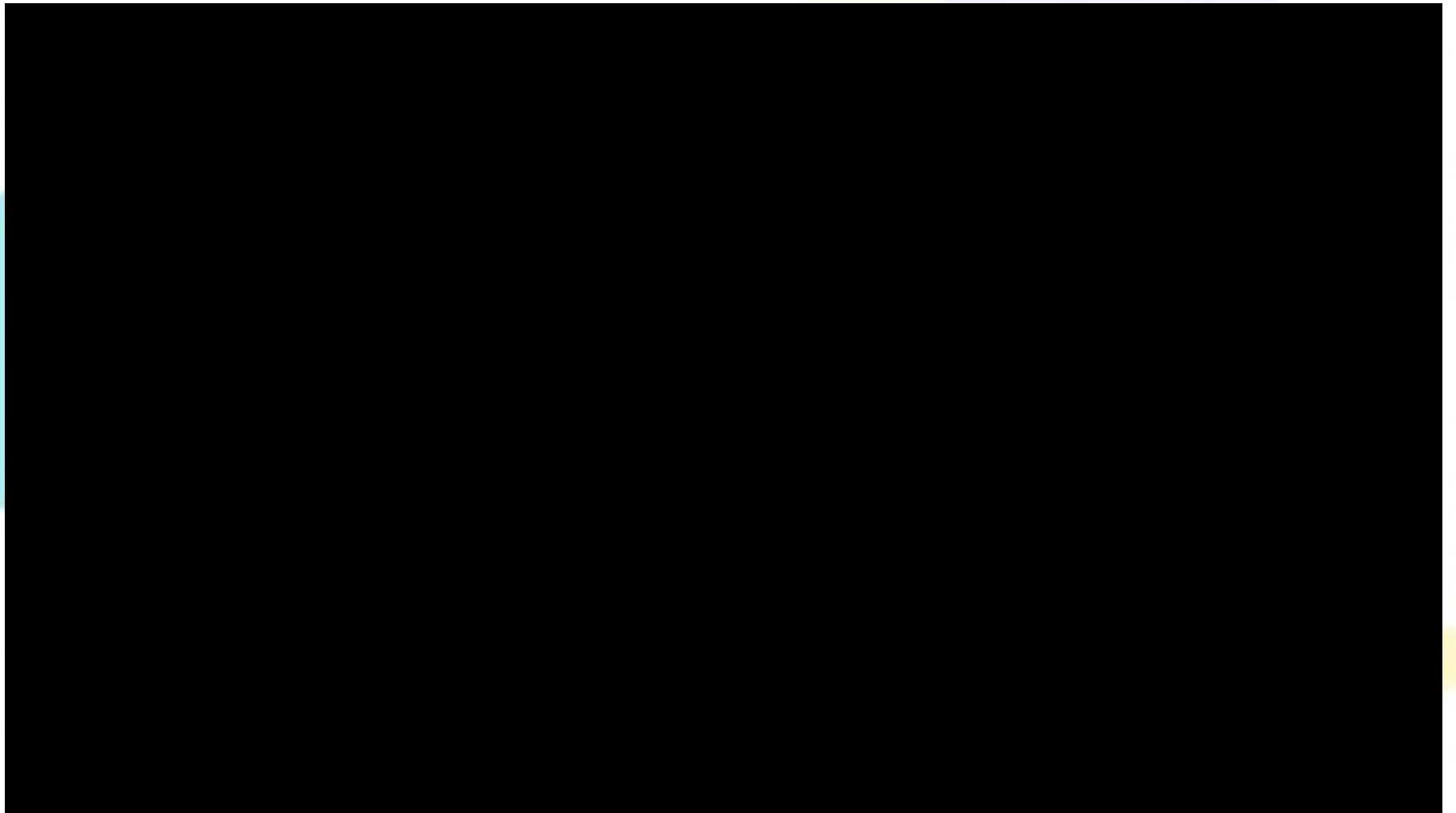
Lịch sử (tt)

- ¼ đầu Tỉ 19, nghiên cứu Đv chiếm 1/3 các nghiên cứu y sinh
- Từ 1901, 2/3 và 7 trong 10 giải Nobel Y sinh gần đây nhất là dựa trên nghiên cứu ở động vật
- Ngày nay, nghiên cứu trên động vật để



Lịch sử (tt)

- 1865, Claude Bernard xuất bản cuốn *“An Introduction to the Study of Experimental Medicine”* **được xem là ấn bản đầu tiên về induced animal model (động vật mô hình do cảm ứng)**
- Louis Pasteur và Robert Koch (thuyết bệnh sinh) **điểm mới** là sử dụng mô hình động vật bệnh nhiễm và sàng lọc, đánh giá các thuốc kháng khuẩn mới

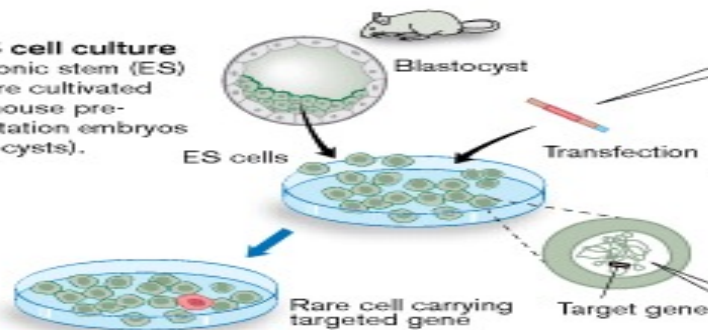


General strategy for gene targeting in mice

Step 1 Gene targeting in ES cells

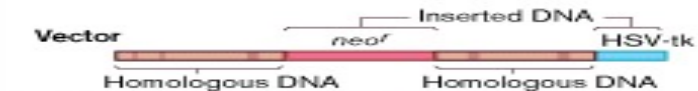
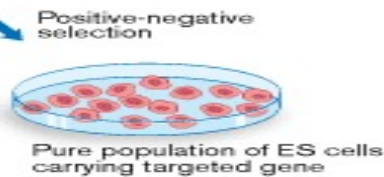
1. ES cell culture

Embryonic stem (ES) cells are cultivated from mouse pre-implantation embryos (blastocysts).



4. Proliferation of targeted ES cell

Selection for presence of *neo^r* and absence of HSV-tk enriches targeted ES cells.

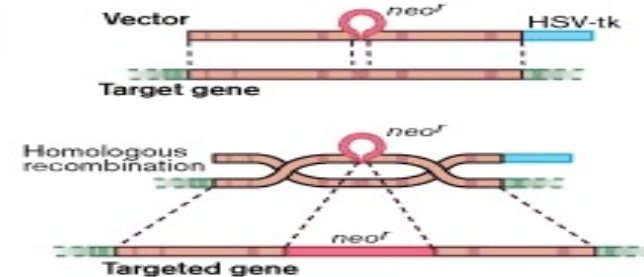


2. Construction of targeting vector

The vector contains pieces of DNA that are homologous to the target gene, as well as inserted DNA which changes the target gene and allows for positive-negative selection

3. ES cell transfection

The cellular machinery for homologous recombination allows the targeting vector to find and recombine with the target gene.



Step 2 From gene targeted ES cells to gene targeted mice

5. Injection of ES cells into blastocysts

The targeted ES cells are injected into blastocysts...

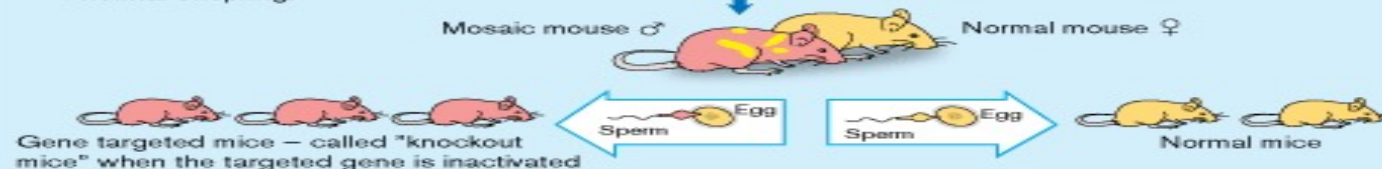
...where they mix and form a mosaic with the cells of the inner cell mass from which the embryo develops.

The injected blastocysts are implanted into a surrogate mother where they develop into mosaic embryos.



6. Birth and breeding of mosaic mice

The mosaic mice mate with normal mice to produce both gene targeted and normal offspring.



- Bệnh bại liệt

- Landsteiner và Popper đã nhiễm được bệnh này vào khi
- Salk và Sabin phát triển vaccine thông qua nghiên cứu trên gà và khỉ.



- Bệnh tiểu đường (Diabetes)

- Banting và Best chỉ ra tầm quan trọng của insulin trên chó.

Tại sao không thể thay thế mô hình động vật trong nghiên cứu y sinh?

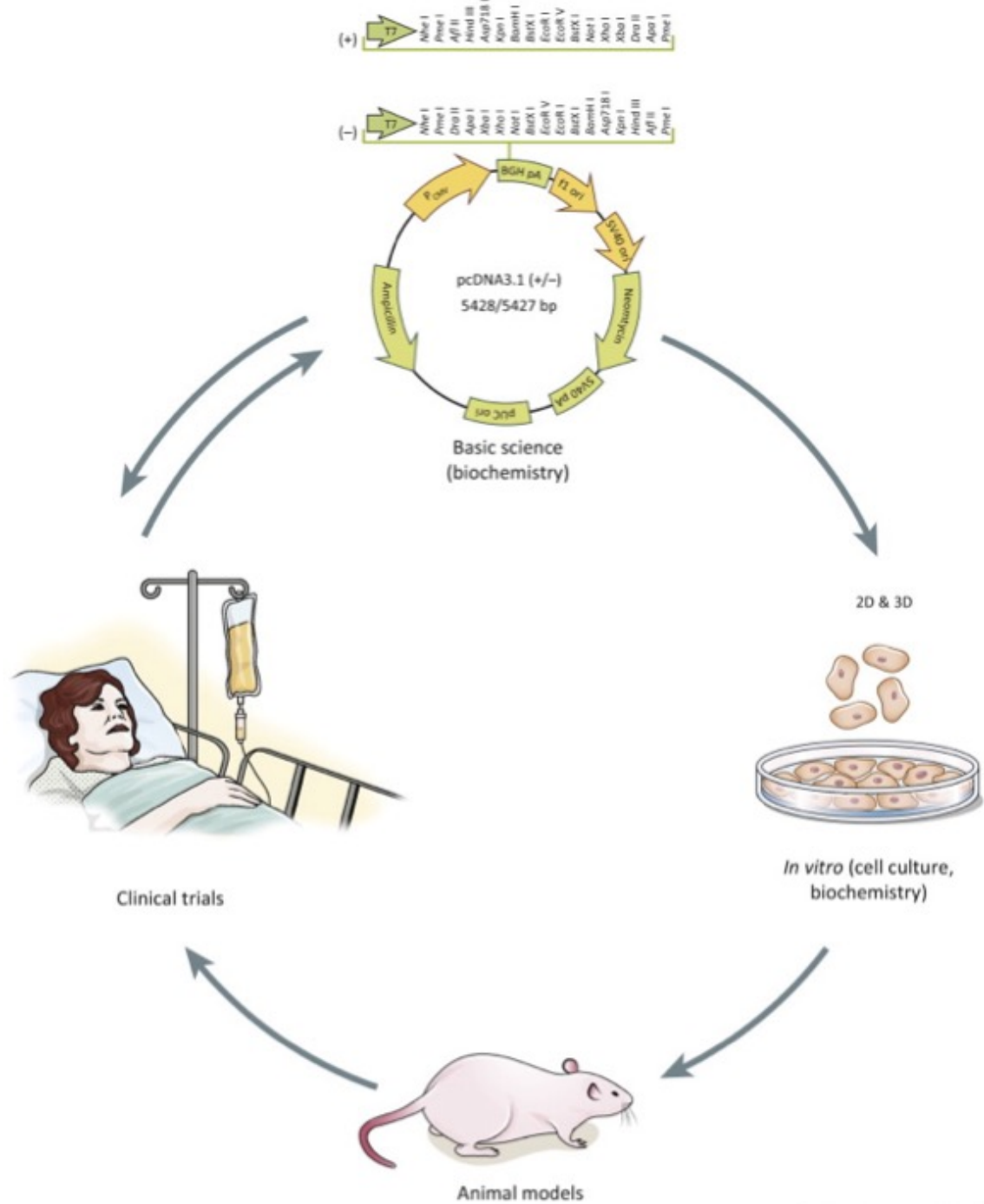
Trên nguyên tắc có thể thay thế bằng

- Mô hình điện toán
- Mô hình dòng tế bào
- Hay các mô hình phi động vật khác

VD: Mô hình điện toán dùng để sàng lọc mức độ gây độc của các chất...

Tuy nhiên Mô hình động vật vẫn giữ 1 giá trị nhất định và khó mà thay thế bằng 1 mô hình phi động vật nào được.

Vd: Bệnh mù, bệnh cao huyết áp....



Động vật nào được sử dụng trong nghiên cứu y sinh

- Chuột
- Chó
- Mèo
- Thỏ
- Động vật chăn nuôi
- Cá, ếch, chim
- Linh trưởng
- Nhiều động vật khác





**Chuột nhắt 20 cặp NST,
chuột cống 21 cặp**

90% giống người

30.000 gen

**Mảng DNA số 3 và 16
giống người**

**Ít hơn gen người
14%**

**38% hệ gen chuột lặp
lại xen kẽ**

**Tỷ lệ gen tương đồng
với người là 80%**

**80% nhóm gen liên kết
trùng khớp với người**

**Gen mở rộng thường liên
quan đến : miễn dịch,
sinh sản, khứu giác**

**Có sự biến đổi di truyền
lớn giữa domesticus và
musculus**

**Giống alen người
đến 67%**



Tại sao sử dụng động vật trong nghiên cứu

- Khám phá khoa học (To advance scientific understanding)
- Nghiên cứu bệnh (As models to study disease)
- Phát triển liệu pháp điều trị mới (To develop and test potential forms of treatment)
- Bảo vệ môi trường, bảo tồn (To protect the safety of people, animals and the environment)

II. MÔ HÌNH ĐỘNG VẬT TRONG NGHIÊN CỨU Y SINH HỌC

1. Khái niệm
2. Phân loại
3. Nguyên tắc xây dựng mô hình động vật
4. Giá trị kinh tế và giá trị khoa học

1. Khái niệm

“Một động vật có đặc tính sinh học bình thường được nghiên cứu hoặc động vật bệnh lí tự phát hoặc do cảm ứng có thể được khảo sát và những động vật có các hiện tượng tương tự các hiện tượng trên người hoặc các loài động vật khác”

(The U.S. National Research Committee on Animal Models for Research on Aging)

1. Khái niệm

“Một sinh vật sống có thể sử dụng để nghiên cứu các đặc điểm sinh học hoặc cách hoạt động, hoặc nghiên cứu các quá trình tiến triển bệnh (bệnh này có thể là tự phát hoặc do một tác nhân nào đó gây ra) và khảo sát các hiện tượng mà có 1 hoặc vài khía cạnh tương tự các hiện tượng trên con người hoặc những loài động vật khác.”

(Định nghĩa của Held dựa trên định nghĩa của Wessler)

1. Khái niệm

Tóm lại, mô hình động vật là :

Động vật có : đặc tính sinh học bình thường hoặc mang các bệnh lí mà các đặc tính sinh học hoặc tình trạng bệnh lí này có 1 hoặc nhiều điểm tương đồng với con người hay 1 loài động vật nào đó.

Các động vật có các đặc điểm như trên dùng trong nghiên cứu được gọi là động vật mô hình.

Animal Models

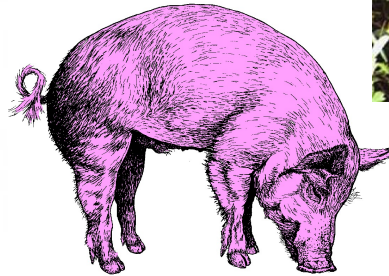
Mô hình động vật bệnh
lí người (Models' of
human diseases)

– Ví dụ:

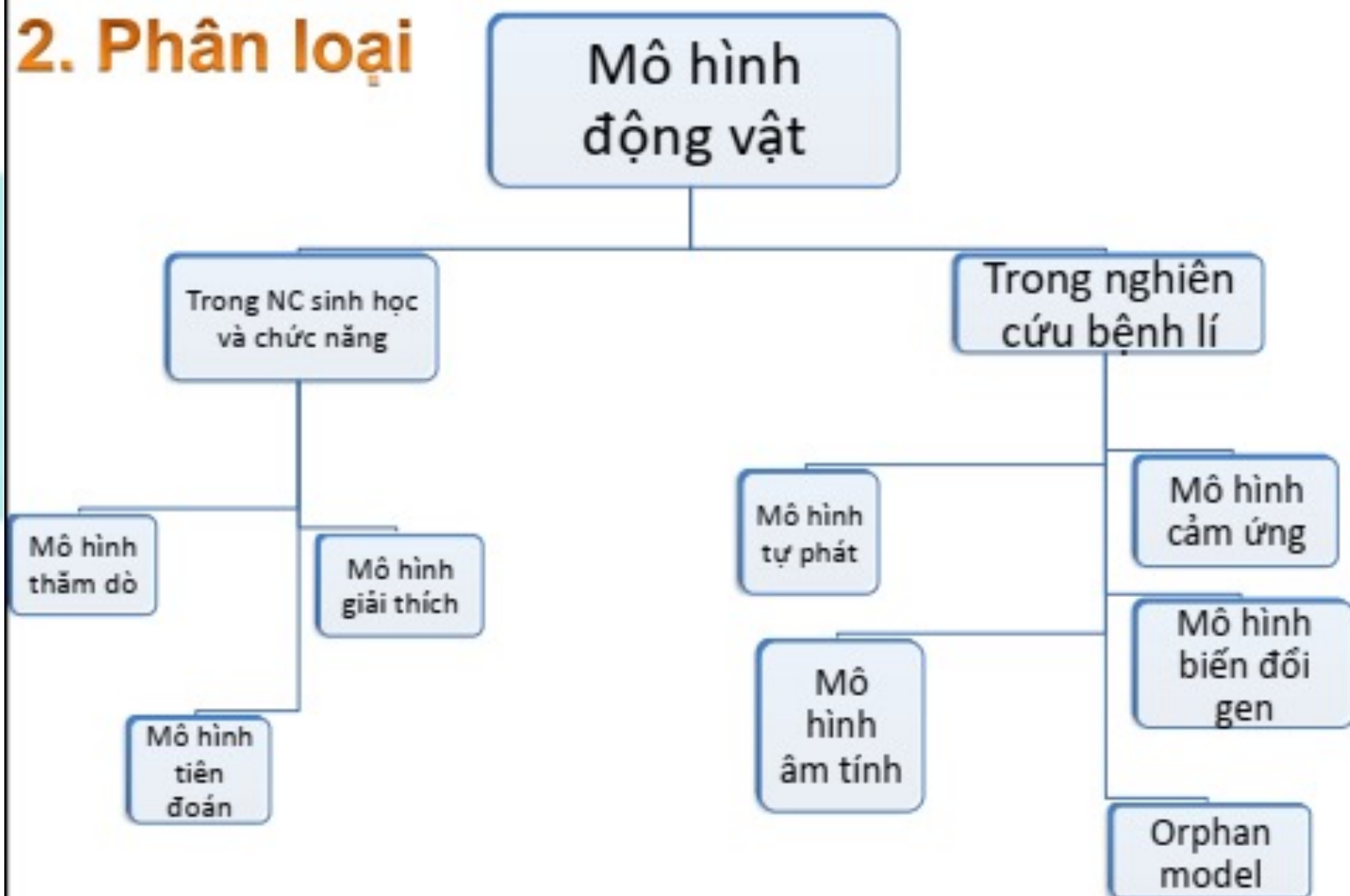
- Bệnh tiểu đường
- HIV
- Alzheimer's
- Bệnh tự miễn

• Một số động vật :

– Chuột, chuột rat, linh
trưởng, heo, thỏ, etc



2. Phân loại



2. Phân loại (tt)

1. Mô hình cảm ứng (Induced models)

Mục đích nghiên cứu được cảm ứng trên động vật khỏe mạnh

2. Mô hình tự phát, ngẫu nhiên (về di truyền)
(Spontaneous models)

Sự mô hình hóa các khiếm khuyết di truyền tương tự như trên con người. VD: chuột Nude

3. Động vật biến đổi gen (Genetically modified model)

4. Mô hình ĐV âm tính (negative animal models)

5. Orphan animal model : vd: BSE,...



Chuột mang khối u dị ghép

Chiết tách gen



trứng chuột



Phôi làm tổ trong tử cung chuột mẹ mang thai hộ

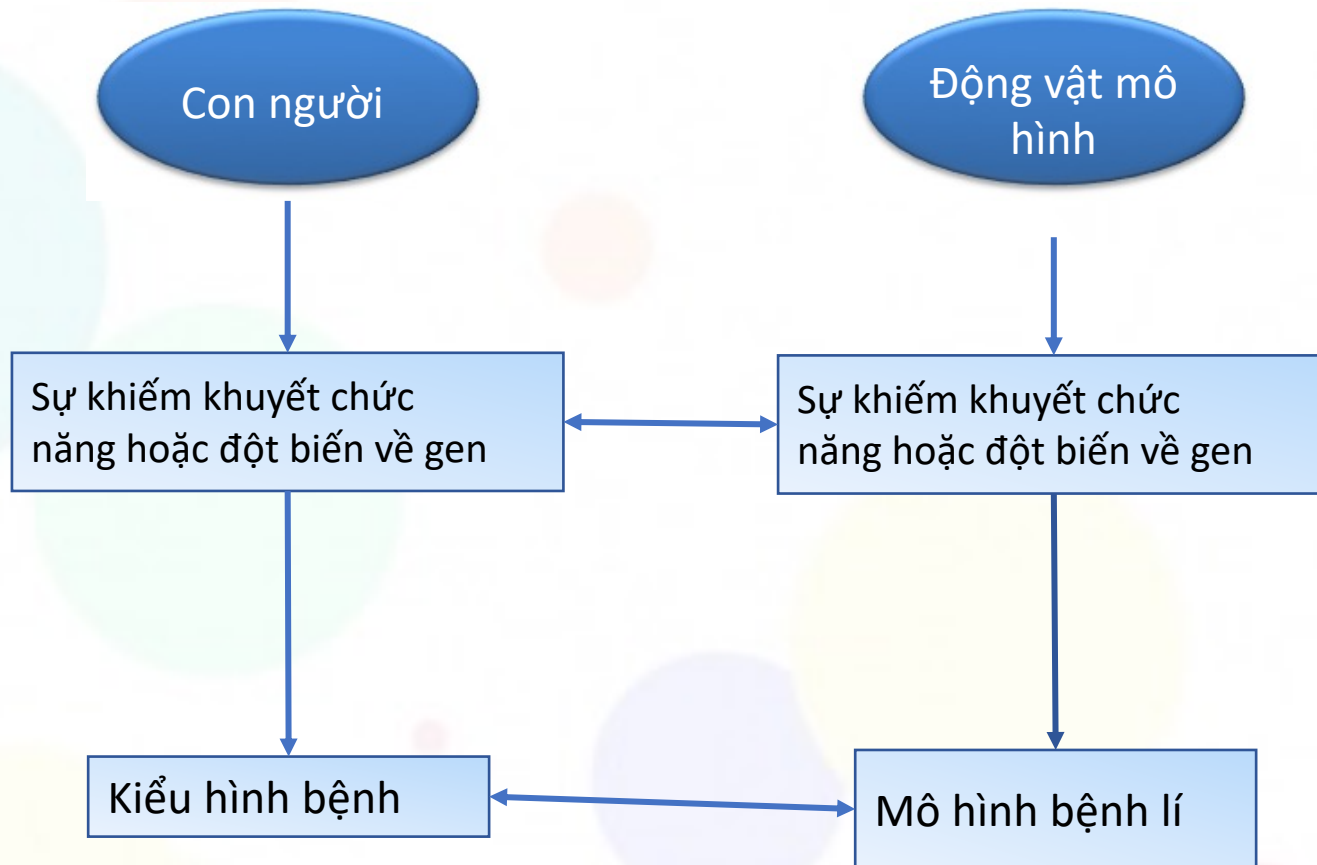


Chuột con



Chuột chuyển gen

3. Nguyên tắc xây dựng mô hình động vật



Bài tập tại lớp – Sơ đồ

- Câu hỏi: Vẽ sơ đồ các bước xây dựng mô hình chuột Bệnh lí đái tháo đường type 1
- Hình thức: thảo luận nhóm 3-4 người, mỗi nhóm vẽ 1 sơ đồ trên giấy và nộp lại sau 7 phút
- 3 nhóm nộp sớm nhất vẽ sơ đồ lên bảng → cả lớp thảo luận

Bệnh lý ĐTĐ
type I

Thiếu hụt tế bào tiết
insulin

Giảm insulin

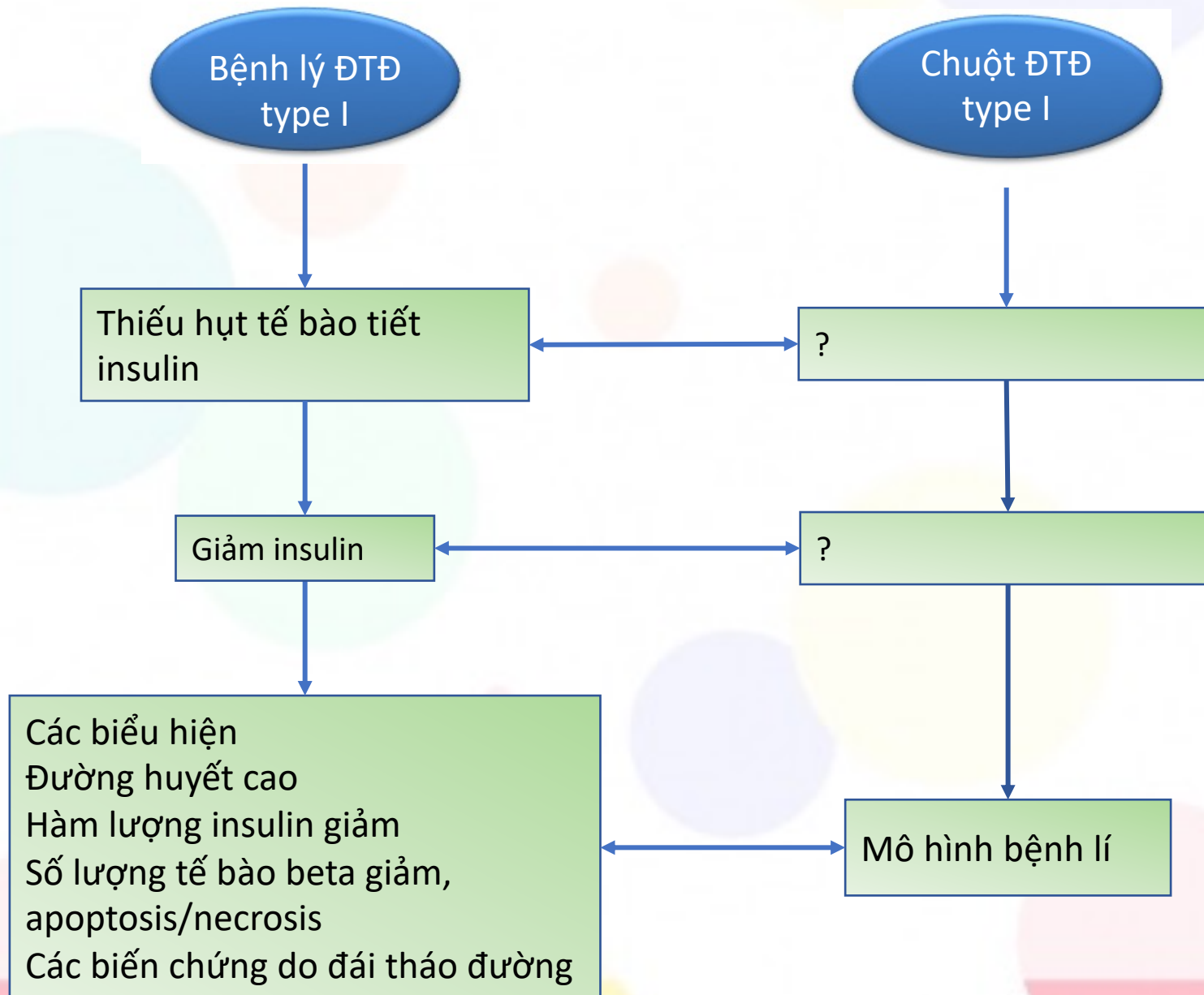
Các biểu hiện
Đường huyết cao
Hàm lượng insulin giảm
Số lượng tế bào beta giảm,
apoptosis/necrosis
Các biến chứng do đái tháo đường

Chuột ĐTĐ
type I

?

?

Mô hình bệnh lí



Chuột khỏe
mạnh

Các tác nhân gây hư hại tế
bào beta

Hoá chất (streptozotocin)

Đánh giá mô hình

Kiểm tra Glucose huyết

Kiểm tra insulin

Mô học tụy bất thường
Hoại tử tế bào beta

Nhuộm mô học H&E

Tăng cao nồng độ glucose

Giảm mạnh nồng độ Insulin

Đột biến gen

Chuột ĐTD
type I

Phẫu thuật



Dòng thuần và dòng lai

Inbred vs Outbred

Dòng thuần (Inbred)

- Cùng nguồn gốc
- Đồng hợp gen (giống)
- Kiểu hình giống nhau
- Có thể sử dụng như QC
- Di truyền ổn định



Tương tự dòng bất tử của các cá thể có kiểu gen xác định

Dòng lai (Outbred)

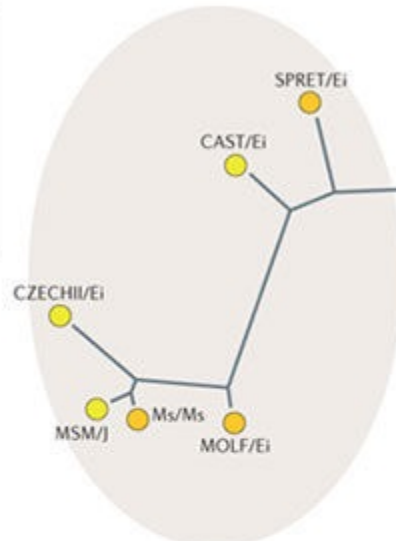
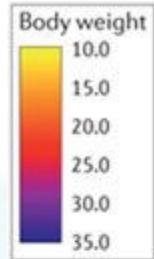
- Mỗi cá thể là khác nhau
- Không sử dụng làm giống (kiểu gen dị hợp)
- Kiểu hình thay đổi
- Không thể sử dụng làm QC
- Di truyền không ổn định



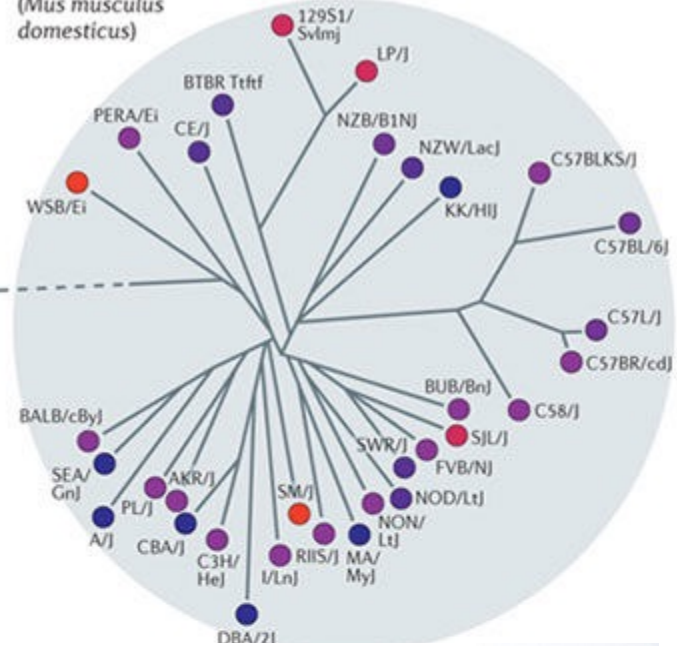
Kiểu gen dị hợp giống như quần thể người

a

Wild-derived strains
(*Mus musculus musculus*,
Mus musculus castaneus,
Mus spretus)



Classical inbred strains
(*Mus musculus domesticus*)

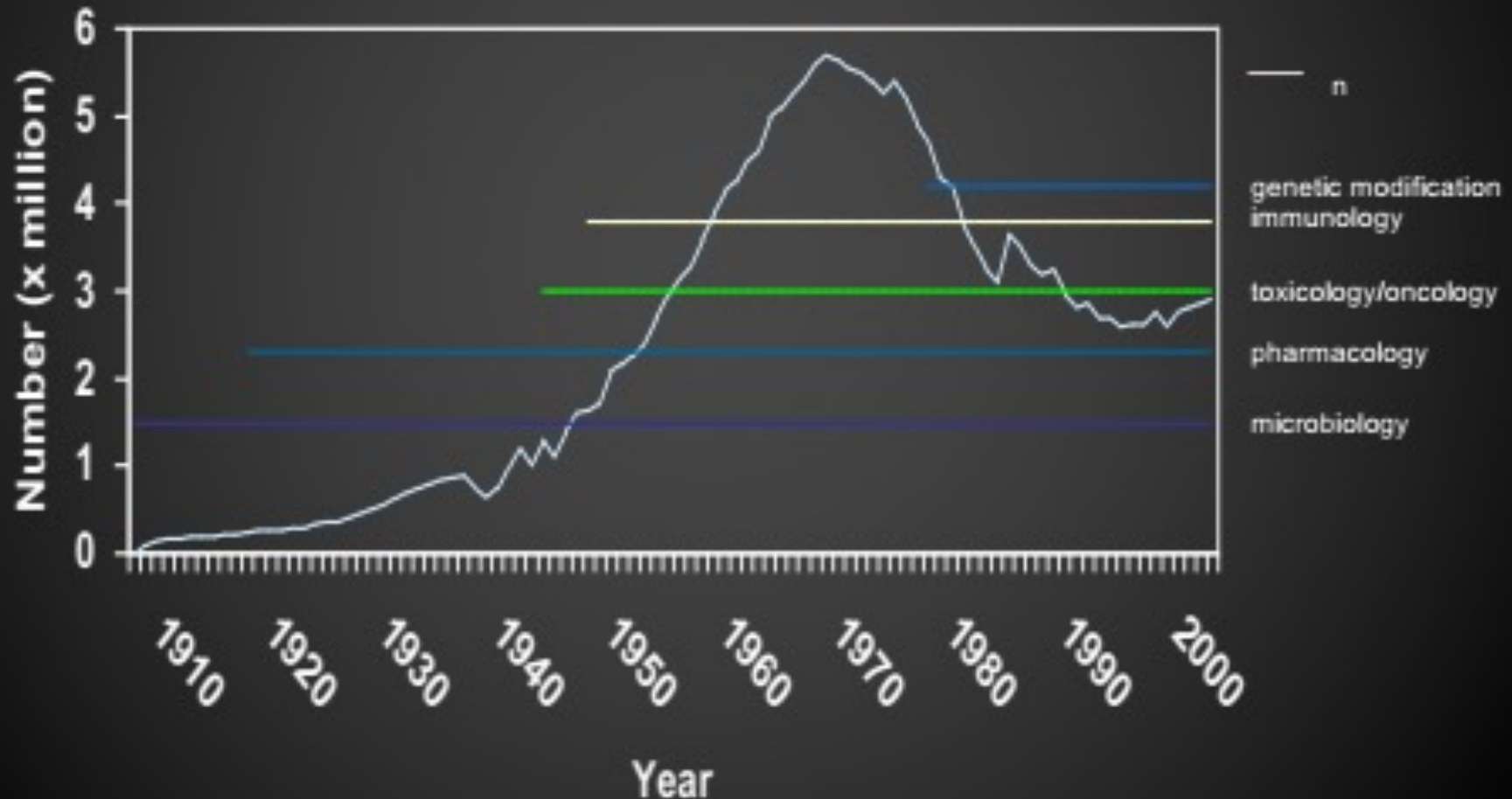


4. Giá trị kinh tế và giá trị khoa học

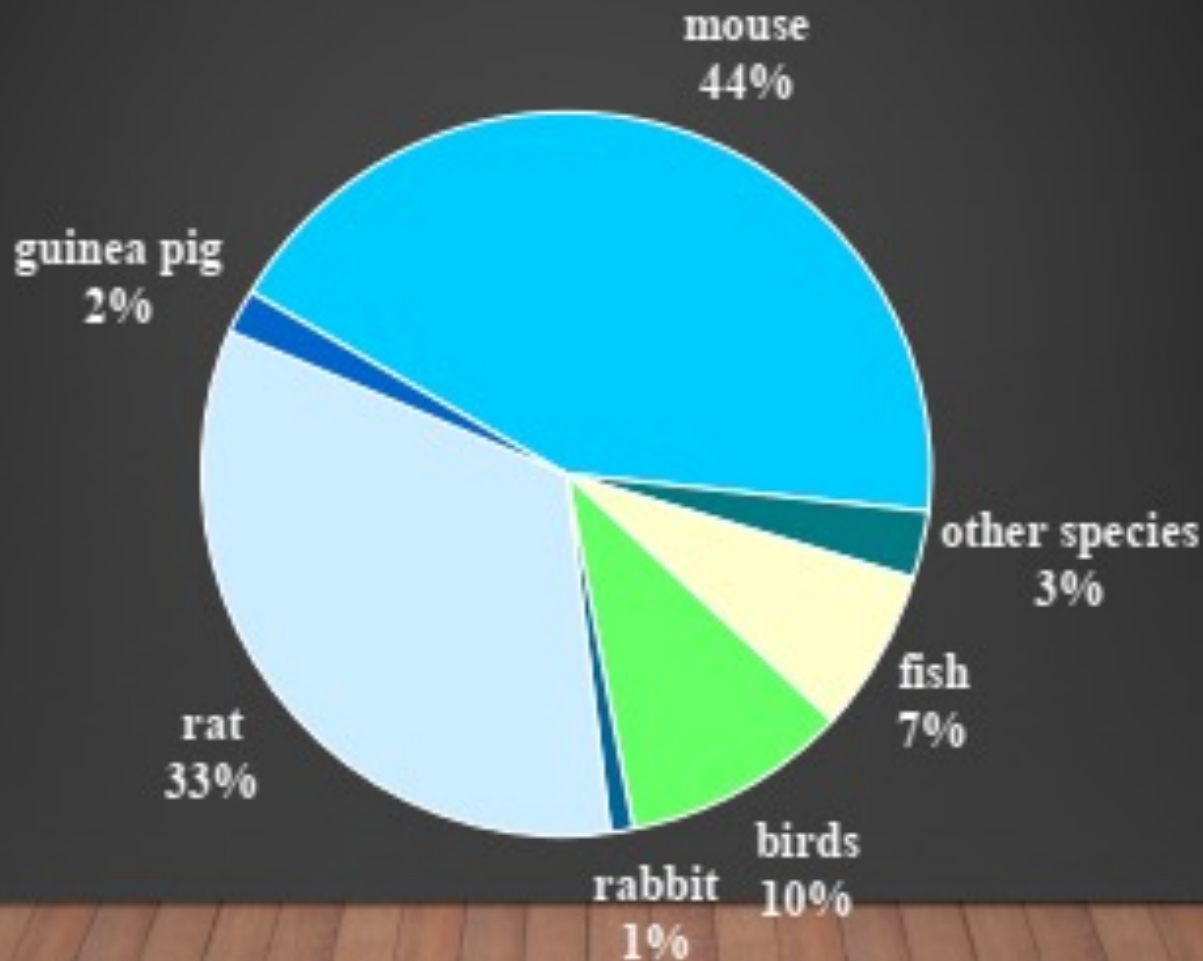
- Hiện nay mỗi năm trong nghiên cứu khoa học đã sử dụng tới trên 25 triệu con chuột đặc biệt.
- Phòng thực nghiệm Jackson bang Maine, Mỹ là một cơ sở có uy tín cung cấp chuột cho nghiên cứu khoa học, mỗi năm xuất trên 2 triệu con chuột.
- Phòng thực nghiệm Charike ở Winminton, bang Massachusetts chuyên cung cấp hàng triệu động vật đặc biệt, trong đó chủ yếu là chuột cho các cơ quan nghiên cứu khoa học và các công ty chế biến thuốc, mỗi năm thu

nhập do tiêu thụ những động vật này tới **gần 1 tỉ USD.**

SỰ GIA TĂNG SỬ DỤNG ĐỘNG VẬT TRONG THẾ KỈ 20



TÌNH HÌNH SỬ DỤNG ĐỘNG VẬT TRONG NGHIÊN CỨU Y SINH TRÊN THẾ GIỚI



TÌNH HÌNH SỬ DỤNG ĐỘNG VẬT TRÊN THẾ GIỚI

HOA KÌ



NHẬT BẢN



ANH

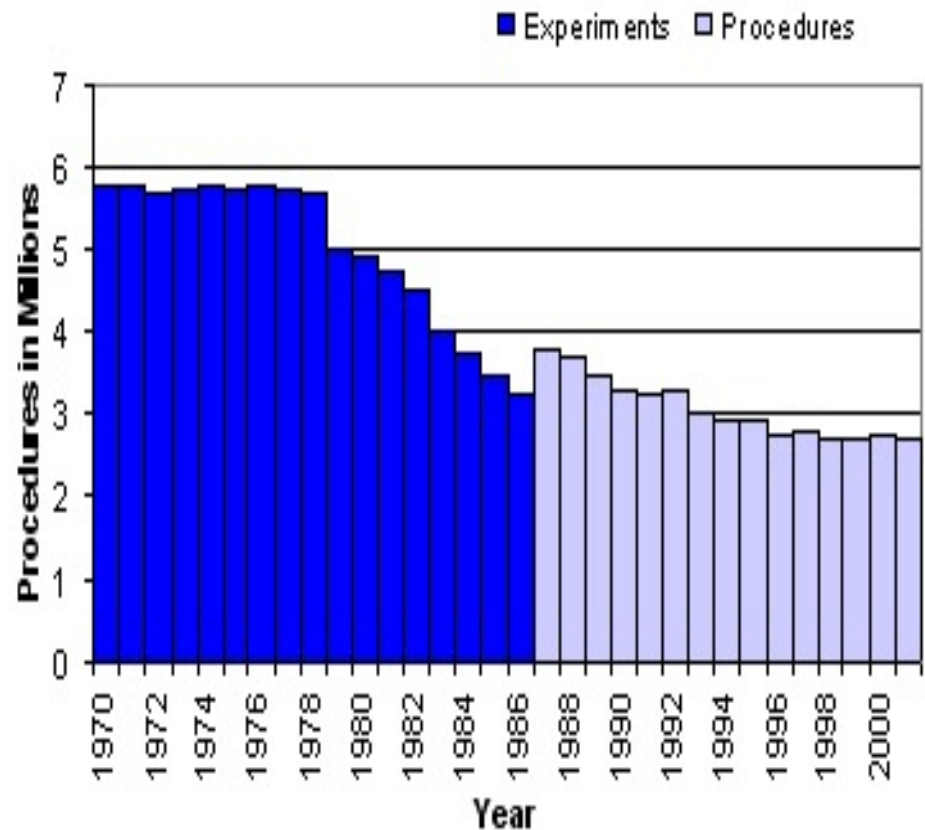


CANADA-PHÁP-ĐỨC

41-100 TRIỆU
ĐỘNG VẬT
ĐƯỢC DÙNG
ĐỂ THÍ
NGHIỆM

SỐ LƯỢNG ĐỘNG VẬT SỬ DỤNG

- ✓ Khoảng 20 triệu động vật được sử dụng cho Nghiên cứu và bị giết
- ✓ 61% động vật thí nghiệm không trải qua đau.
- ✓ 31% trải qua đau mà có gây mê.
- ✓ 8% động vật thí nghiệm liên quan thử nghiệm ngưỡng chịu đựng, đau không được gây mê.



5. (tt)

- Một con chuột được tạo ra với bệnh viêm khớp giá xấp xỉ 200 USD/con;
- Một con chuột mù bẩm sinh, 250 USD.
- Và nếu muốn có một con chuột được chuyển hay tạo đột biến hay tách gen theo ý muốn, bạn có thể phải chi trả đến giá 100 nghìn USD/con.
- Năm 2006, Viện Y tế Quốc gia Mỹ (NIH) đã phải chi trả đến 10 triệu đô la để mua 250 chủng chuột đã được tách gen, cùng với các dữ liệu chi tiết về sinh lý học.
- Hơn 200 bệnh khác nhau đã được ngăn chặn thông qua các nghiên cứu trên động vật

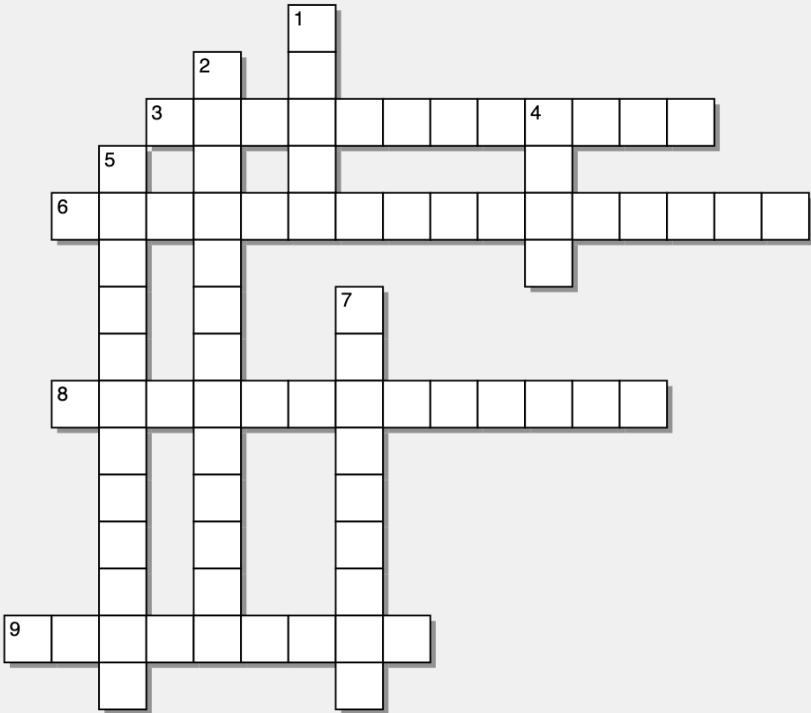


Across

- 3. Kiểu hình bệnh tương tự bệnh lí trên người
- 6. Thuộc nhóm mô hình trong nghiên cứu bệnh lí, là một dạng GMO
- 8. Chuột khiếm khuyết chức năng của 1 gen nào đó gọi là
- 9. Mô hình in vitro nào thường được sử dụng thay thế mô hình động vật

Down

- 1. Động vật mô hình thường sử dụng cho mục đích nghiên cứu nào
- 2. Đặc tính sinh học bình thường hoặc mang các bệnh lí mà các đặc tính sinh học hoặc tình trạng bệnh lí này có 1 hoặc nhiều điểm tương đồng với con người hay 1 loài động vật nào đó.
- 4. Chuột suy giảm miễn dịch và không có lông
- 5. Mục đích nghiên cứu được cảm ứng trên động vật khỏe mạnh



Down

- 7. Dòng động vật có thể sử dụng làm QC

CÁC TỔ CHỨC LỚN TÀI TRỢ DỰ ÁN SỬ DỤNG ĐỘNG VẬT THÍ NGHIỆM



NIH (MỸ)
\$12.000.000.000



WELCOME TRUST
\$14.000.000.000



NC3Rs 17.000.000
BẢNG ANH



JACKSON LABORARY \$60.000.000/năm

Chuột viêm khớp
\$200/con

Chuột mù bẩm
sinh

\$250/con

Chuột đột biến
\$100/con

Chuột Nude
\$200/con

GIÁ TRỊ KINH TẾ CỦA MÔ HÌNH ĐỘNG VẬT BỆNH LÝ Ở VIỆT NAM



Trại Chăn nuôi Suối Dầu thuộc Viện
Vắc xin Nha Trang, và Phòng Chăn nuôi
Động vật Thí nghiệm thuộc Viện
Pasteur TP.HCM

CHĂN NUÔI ĐỘNG VẬT TẠI TRẠI SUỐI DẦU

**chuột nhắt 40.000-50000
đồng/con**

**chuột lang thường
110.000-120.000 đồng/con**

**huyết thanh thô 7.000 -
10.000 lít**

**chuột nhắt 1-2 ngày tuổi
150.000-200.000**

**Động vật phải
sạch, có lý lịch
rõ ràng khi
đưa vào thí
nghiệm**

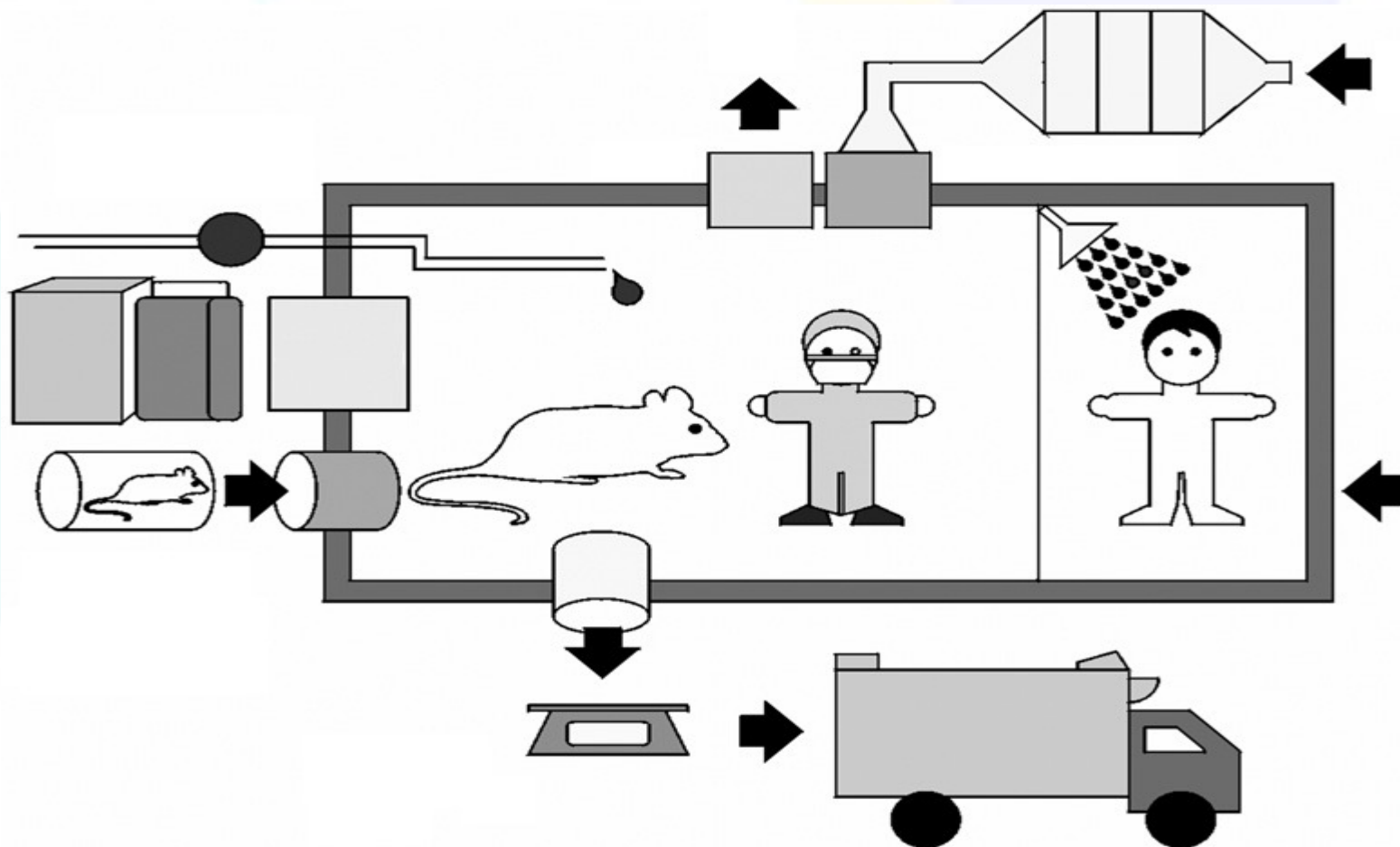




TRIỂN VỌNG PHÁT TRIỂN

Ngày 23/12/2010, Viện Kiểm nghiệm thuốc TW đã khởi công xây dựng khu nhà làm việc và nuôi động vật thí nghiệm cơ sở 2 tại xã Tam Hiệp, Thanh Trì, Hà Nội. Đây là một phần của dự án đầu tư tại viện với tổng kinh phí hơn **154 tỷ đồng**

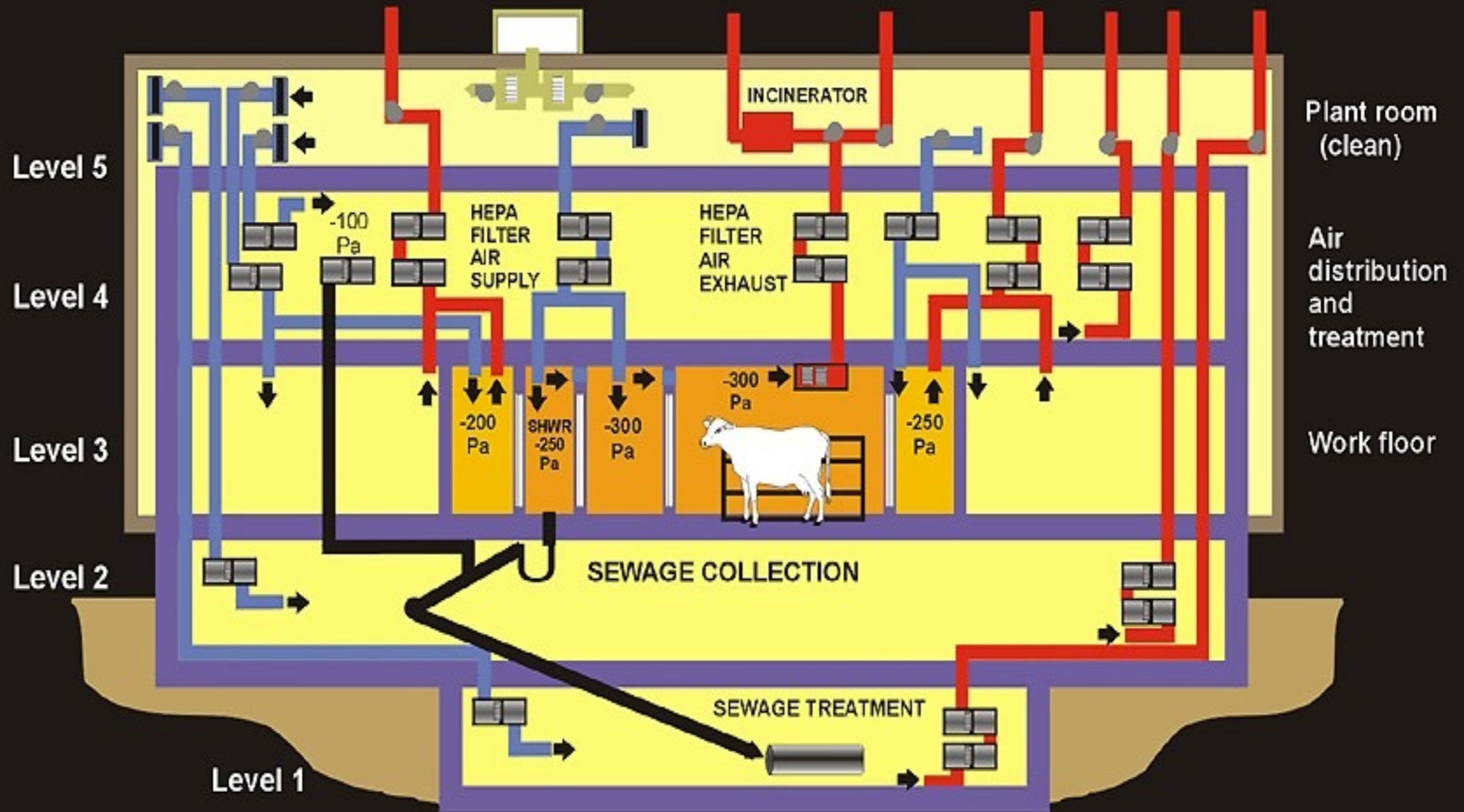




Mô hình PTN vô trùng trong chăn nuôi chuột thí nghiệm



BIOCONTAINMENT AT AAHL



The Principles of Humane Experimental Technique, 1959

Các nguyên lí (nguyên tắc): Three R

Russell và Burch đã phát thảo 3 nguyên lí :

- Refinement (sự tế nhị)
- Reduction (sự giảm bớt)
- Replacement (sự thay thế)



Một số các vấn đề khác

- ◆ Nghiên cứu về tình trạng cảm xúc, tâm lý và tập tính xã hội (lối cư xử) của các loài vật.
- ◆ McDonald's (Purdue University , nghiên cứu tập tính loài heo), Burger King và KFC
- ◆ Cộng Đồng Âu Châu đã ban hành luật không cho làm chuồng hợp ngăn cách riêng từng con heo một, có hiệu lực từ năm 2012.
- ◆ Ở Đức thì chính phủ khuyến khích chủ nhân nông trại nuôi heo nên cho người tiếp xúc (human contact) với mỗi chú heo 20 giây mỗi ngày và cung cấp cho chúng các đồ chơi để ngăn ngừa chúng đánh nhau.

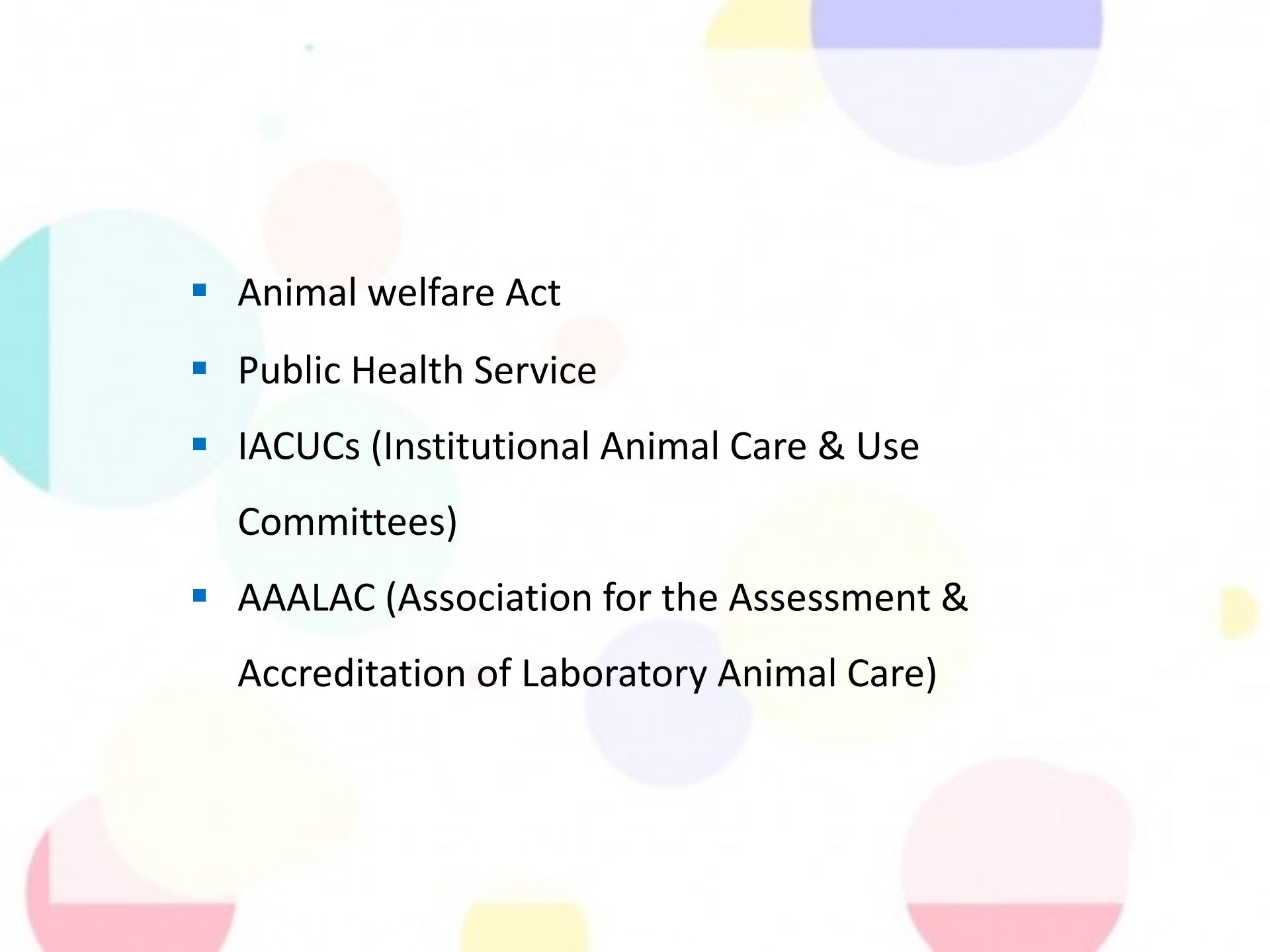


Chết nhân đạo trên động vật

- Giảm 20% khối lượng cơ thể
- Giảm 15% khối lượng trong 2 ngày
- Giảm nhiệt độ $> 4^{\circ}\text{C}$
- Thể tích khối u (trên chuột) $1.2 \times 1.2 \text{ cm}$
- Khối u bị loét
- Cổ trướng $> 10\%$ khối lượng cơ thể
- Tiêu chảy $> 48 \text{ hrs}$
- Hành vi bất thường

Hai ấn bản về khuôn khổ đạo lí trong sử dụng động vật phục vụ nghiên cứu:

- ◆ Qui định về nỗi đau và sự chịu đựng của động vật. Các nhà khoa học thì quan tâm đến vấn đề đạo đức từ khi Animal Welfare Act ra đời năm 1966 để đảm bảo việc sử dụng đúng động vật trong phòng thí nghiệm.
- ◆ Qui định về sử dụng động vật. Nếu động vật ở trạng thái tỉnh táo thì không khác gì con người, sau đó việc sử dụng bất kì động vật nào như thú cưng, như là nguồn thực phẩm và may mặc, hay dùng trong nghiên cứu thậm chí khi không làm đau chúng và tất nhiên là chúng cũng bị chết thì đạo đức chỉ trích như là sử dụng con người.

- 
- Animal welfare Act
 - Public Health Service
 - IACUCs (Institutional Animal Care & Use Committees)
 - AAALAC (Association for the Assessment & Accreditation of Laboratory Animal Care)

Happy animals make good science!



the end

