

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG MÔ HÌNH CHẤN THƯƠNG TỦY SỐNG BẰNG KẸP CLIP TRÊN THỰC NGHIỆM

Nguyễn Bá Hiếu^{1}, Nguyễn Trung Chức¹, Trần Thị Mai¹
Nguyễn Hữu Cảnh¹, Cấn Văn Mão¹, Lê Duy Cường²*

Tóm tắt

Mục tiêu: Xây dựng mô hình chấn thương tủy sống (Spinal cord injury - SCI) thực nghiệm bằng phương pháp kẹp clip trên chuột cống trắng. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu tiến cứu, mô tả cắt ngang, có đối chứng trên 16 chuột cống, chia thành 2 nhóm: Nhóm chứng (n = 8) và nhóm mô hình (n = 8). Mô hình SCI được thực hiện bằng kẹp clip với lực 70g trong 60 giây tại đốt tủy T8 - T10. Các chỉ số vận động, cảm giác được đánh giá bằng thang điểm Basso - Beattie - Bresnahan (BBB), bài kiểm tra Rotarod và cảm giác đau bằng nhiệt nóng. Thu thập mô tủy sống để đánh giá giải phẫu bệnh. **Kết quả:** Ở tất cả các ngày 1, 2, 3, 7, 14, 21 và 28 sau khi gây mô hình, điểm BBB ở nhóm mô hình giảm so với nhóm chứng ($p < 0,05$). Ở ngày 7, 14, 21, và 28 sau khi gây mô hình, thời gian chuột giữ thăng bằng ở nhóm mô hình giảm so với nhóm chứng ($p < 0,001$), thời gian phản xạ ở nhóm mô hình dài hơn so với nhóm chứng ($p < 0,001$). Hình ảnh giải phẫu bệnh ngày 14 và 28 sau khi gây mô hình cho thấy hình ảnh của tổn thương tủy cấp tính. **Kết luận:** Xây dựng thành công mô hình SCI bằng kẹp clip với lực 70g trong 60 giây tại đốt tủy T8 - T10 trên chuột cống.

Từ khóa: Chấn thương tủy sống; Kẹp clip; Mô hình thực nghiệm.

STUDY ON THE ESTABLISHMENT OF A SPINAL CORD INJURY MODEL USING CLIP COMPRESSION IN EXPERIMENTAL ANIMALS

Abstract

Objectives: To establish an experimental model of spinal cord injury (SCI) with the clip compression method in white rats. **Methods:** A prospective, cross-sectional descriptive study with a control group was conducted on 16 rats, divided

¹Học viện Quân y

²Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Bá Hiếu (drhieuhvqy@gmail.com)

Ngày nhận bài: 03/7/2025

Ngày được chấp nhận đăng: 05/8/2025

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v50i7.1430>

into two groups: a sham group ($n = 8$) and an SCI group ($n = 8$). The SCI model was generated with a compressive force of 70g applied for 60 seconds at the T8-T10 spinal cord level. Locomotor and sensory parameters were assessed using the Basso - Beattie - Bresnahan (BBB) locomotor scale, Rotarod test, and Hot Plate test. Spinal cord tissues were harvested for histological examination. **Results:** On days 1, 2, 3, 7, 14, 21, and 28 post-injury, the BBB scores in the SCI group decreased compared to the sham group ($p < 0.05$). On days 7, 14, 21, and 28 post-injury, the Rotarod performance time in the SCI group decreased compared to the sham group ($p < 0.001$); the response time in the SCI group was longer than that in the sham group ($p < 0.001$). Histopathological analysis on days 14 and 28 post-injury revealed features of acute SCI. **Conclusion:** The SCI model was successfully established with a compressive force of 70g applied for 60 seconds at the T8-T10 spinal cord level in rats.

Keywords: Spinal cord injury; Clip compression; Experimental model.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Chấn thương tủy sống là dạng tổn thương nghiêm trọng của tủy sống, có thể gây ra mất chức năng vận động, cảm giác và tự chủ ở các mức độ khác nhau, ảnh hưởng nặng nề đến chất lượng cuộc sống của người bệnh. Mặc dù đã đạt được nhiều tiến bộ trong điều trị, nhưng hiện nay vẫn chưa có phương pháp điều trị đặc hiệu nào giúp phục hồi hoàn toàn tổn thương tủy sống ở người [1]. Để nghiên cứu cơ chế bệnh sinh, hiệu quả điều trị và phục hồi chức năng sau SCI, việc xây dựng mô hình tổn thương tủy sống trên thực nghiệm là hết sức cần thiết. Trong số các mô hình hiện có, mô hình chèn ép tủy sống bằng kẹp clip được xem là phương pháp đáng tin cậy, mô phỏng sát với tổn thương do chèn ép cơ học ở người, gây ra các biến đổi chức năng và giải phẫu bệnh đặc trưng của

SCI. Mô hình SCI bằng kẹp clip giúp tạo ra tổn thương có kiểm soát tại vị trí xác định, với mức độ tổn thương có thể điều chỉnh tùy theo lực kẹp và thời gian tác động [2 - 4]. Các công cụ đánh giá chức năng vận động như thang điểm BBB, bài kiểm tra Rotarod và cảm giác như bài kiểm tra cảm giác đau bằng nhiệt nóng đã được chứng minh là phù hợp để theo dõi tiến trình phục hồi sau SCI [5, 6]. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm: *Xây dựng mô hình SCI thực nghiệm bằng phương pháp kẹp clip trên chuột cống.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Chuột cống trắng cái trưởng thành, chủng Wistar, khỏe mạnh, trọng lượng 200 - 300g, được nuôi dưỡng tại

Học viện Quân y trong 7 ngày trước khi làm thí nghiệm, điều kiện nhiệt độ phòng từ 22 - 24°C và độ ẩm 40 - 60%, chu kỳ sáng tối là 12/12 giờ, ăn thức ăn tiêu chuẩn, uống nước tự do.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu*: Nghiên cứu tiền cứu, mô tả cắt ngang, có đối chứng.

* *Cỡ mẫu*: Trong nghiên cứu này, sử dụng cỡ mẫu của mỗi nhóm là $n = 8$.

Theo đó, 16 chuột phân ngẫu nhiên thành 2 nhóm, mỗi nhóm 8 con:

- Nhóm chứng: Cắt bỏ bản sống, không kẹp clip.

- Nhóm mô hình: Gây chấn thương tại đốt tủy T8 - T10 bằng kẹp clip với lực 70g trong 60 giây.

* *Phương pháp xây dựng mô hình*:

Chăm sóc trước phẫu thuật: Chuột được cạo lông, tẩy lông ở vùng lưng, xác định trọng lượng bằng cân tiểu ly điện tử 1 ngày trước phẫu thuật; xác

định đốt sống T13 (đỉnh đường cong cột sống tự nhiên của chuột).

Chuẩn bị phẫu thuật: Gây mê chuột bằng Isoflurane 5%, duy trì ở mức 2%, thở Oxy qua mask với lưu lượng 1 L/phút. Tiêm dưới da kháng sinh Enrofloxacin (5 mg/kg) và thuốc giảm đau Ketoprofen (10mg/kg) trước phẫu thuật 30 phút.

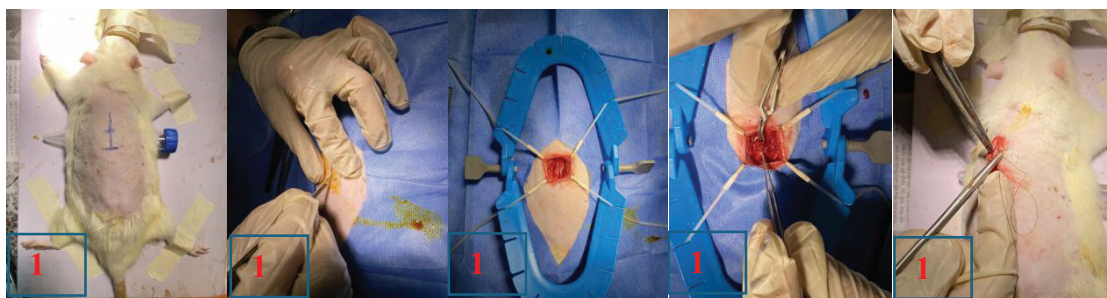
Các bước phẫu thuật:

- Đường mổ: Rạch da khoảng 3cm dọc theo đường giữa qua đốt sống T13 hướng về phía đầu, sao cho điểm giữa đường rạch tương ứng với đốt tủy T8 - T10;

- Bộc lộ tủy sống: Tách cân cơ để bộc lộ cột sống thắt lưng, cắt gai sau, mở cửa sổ xương vào tủy sống;

- Gây tổn thương tủy sống bằng kẹp clip với lực 70g trong 60 giây;

- Đóng vết mổ: Khâu tái tạo cân cơ bằng chỉ Vicryl 4.0, khâu da bằng chỉ Nylon 4.0.



Hình 1. Quy trình phẫu thuật.

A: Xác định mốc giải phẫu; B: Rạch da; C: Mở cửa sổ xương;

D: Gây chấn thương bằng kẹp clip; E: Đóng vết mổ.

Chăm sóc sau phẫu thuật: Chuột được đặt trên miếng đệm sưởi, thở Oxy qua mask với lưu lượng 1 L/phút cho đến khi tỉnh hoàn toàn, chăm sóc theo quy trình thống nhất, theo dõi ăn uống, tiêm giảm đau, kháng sinh và đánh giá các bài tập.

** Biến số nghiên cứu và tiêu chuẩn đánh giá:*

- Đánh giá chức năng vận động, cảm giác:

Thang điểm BBB: Chuột được đặt vào môi trường thử nghiệm hình tròn, đường kính 90cm, cao 30cm. Hai giám khảo chấm điểm trung bình từng chỉ sau theo thang 21 điểm (0: Liệt hoàn toàn, 21: Vận động bình thường) trong 4 phút, dựa trên sự chuyển động các khớp, vị trí đặt chân, sự phối hợp các chân, tính ổn định thân mình và vị trí đuôi [2, 3].

Bài kiểm tra Rotarod: Chuột được đặt lên thanh quay có tốc độ tăng dần từ 4 - 40 vòng/phút trong 300 giây. Khi chuột rơi, thiết bị sẽ tự động dừng và hiển thị thời gian (tính bằng giây) cũng như tốc độ quay tại thời điểm đó (vòng/phút) [5].

Bài kiểm tra cảm giác đau bằng nhiệt nóng: Chuột được đặt lên tấm kim loại được duy trì nhiệt độ ở 50°C. Nghiên cứu viên ghi nhận các phản ứng như co chân sau, liếm chân hoặc nhảy trong 60 giây [6].

- Đánh giá giải phẫu bệnh tử sống: Vào các ngày 14 và 28 sau phẫu thuật, phẫu tích thu thập mẫu tử sống của một nửa số chuột trong mỗi nhóm ($n = 4$), cố định trong Paraformaldehyde 4%, xử lý mô học, cắt lát 5 μ m và nhuộm HE và làm giải phẫu bệnh tại Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Quân y 103 để đánh giá tình trạng viêm, phù nề, thoái hóa, hoại tử [2].

** Xử lý và phân tích số liệu:* Số liệu được trình bày dưới dạng $\bar{X} \pm SD$ và được xử lý bằng phần mềm GraphPath Prism 10. Sử dụng thuật toán T-test để so sánh hai giá trị trung bình phân phối chuẩn. Giá trị $p < 0,05$ có ý nghĩa thống kê.

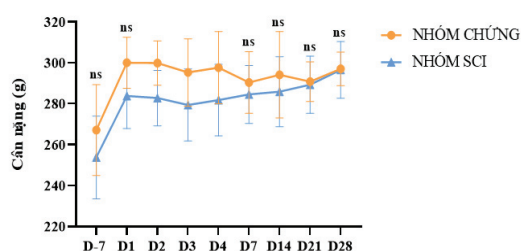
3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu đã được chấp thuận bởi Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Học viện Quân y (GCN số 05/CNChT-HĐĐĐĐV ngày 24/10/2024). Số liệu nghiên cứu được Học viện Quân y cho phép sử dụng và công bố. Nhóm tác giả cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

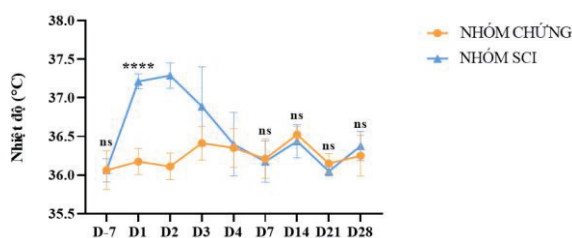
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Kết quả tình trạng toàn thân, chức năng vận động, cảm giác sau khi gây mô hình chấn thương tủy sống

Tình trạng toàn thân: Đáp ứng kích thích, ăn uống, lông, đại tiểu tiện bình thường, vết mổ khô (một số vết mổ có chảy dịch trong 2 ngày đầu), tỷ lệ sống đạt 100% trong thời gian thí nghiệm.



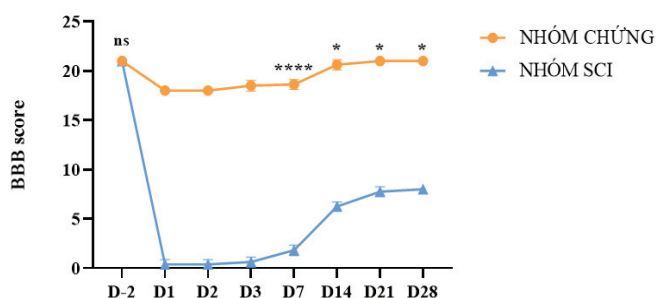
Biểu đồ 1. Trọng lượng (g) của chuột thí nghiệm (ns: $p > 0,05$).



Biểu đồ 2. Nhiệt độ (°C) của chuột thí nghiệm (ns: $p > 0,05$, ****: $p < 0,0001$).

Trước khi gây SCI, cân nặng khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm ($p > 0,05$). Sau khi gây SCI, cân nặng của nhóm gây mô hình có xu hướng giảm so với nhóm chứng vào ngày 1 và tăng dần từ ngày 7 - 28, không có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm ($p > 0,05$).

Trước khi gây SCI, nhiệt độ khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm ($p > 0,05$). Sau khi gây SCI, nhiệt độ của nhóm gây mô hình tăng so với nhóm chứng vào ngày 1 có ý nghĩa thống kê ($p < 0,0001$). Từ ngày 7 - 28, nhiệt độ có xu hướng giảm dần không có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm ($p > 0,05$).

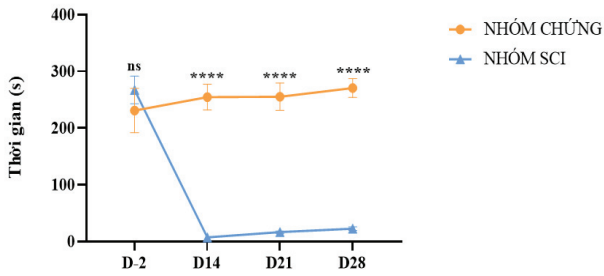


Biểu đồ 3. Thang điểm BBB (ns: $p > 0,05$, *: $p < 0,05$, ****: $p < 0,0001$).

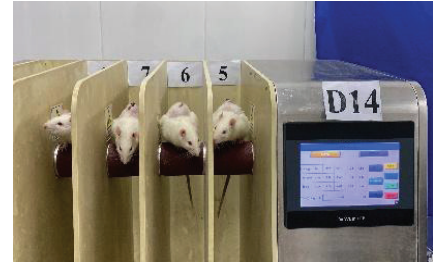


Hình 2. Đánh giá thang điểm BBB.

* *Điểm BBB*: Trước khi gây SCI, điểm BBB khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm ($p > 0,05$). Sau khi gây SCI, điểm BBB của nhóm gây mô hình những ngày đầu sau SCI gần như bằng 0 ($0,38 \pm 0,49$) và thấp hơn so với nhóm chứng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Từ ngày 7 - 28, điểm BBB có xu hướng tăng dần nhưng vẫn thấp hơn so với nhóm chứng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

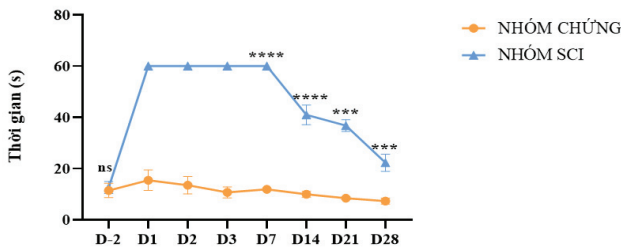


Biểu đồ 4. Thời gian thăng bằng trên hệ thống Rotarod (ns: $p > 0,05$, ****: $p < 0,0001$).



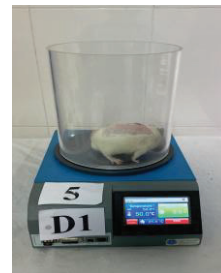
Hình 3. Đánh giá bài kiểm tra Rotarod.

* *Bài kiểm tra Rotarod:* Trước khi gây SCI, thời gian chuột giữ thăng bằng trong bài kiểm tra Rotarod khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm ($p > 0,05$). Sau khi gây SCI, thời gian chuột giữ thăng bằng ở nhóm gây mô hình giảm so với nhóm chứng vào ngày 14 có ý nghĩa thống kê ($p < 0,0001$). Từ ngày 21 - 28, thời gian giữ thăng bằng có xu hướng tăng dần, nhưng vẫn thấp hơn so với nhóm chứng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,0001$).



Biểu đồ 5. Thời gian phản xạ đau với nhiệt nóng.

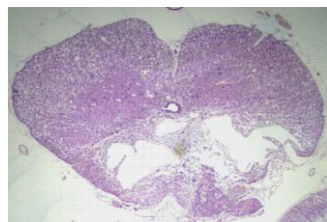
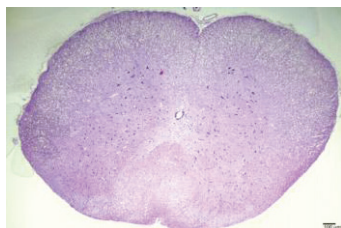
(ns: $p > 0,05$, ***: $p < 0,001$, ****: $p < 0,0001$)



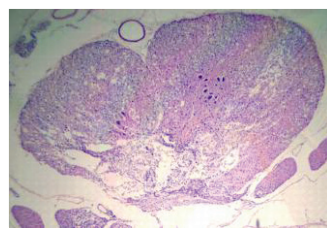
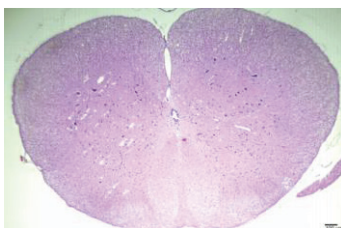
Hình 4. Đánh giá bài kiểm tra cảm giác đau bằng nhiệt nóng.

* *Bài kiểm tra cảm giác đau bằng nhiệt nóng:* Trước khi gây SCI, thời gian phản xạ trong bài kiểm tra cảm giác đau bằng nhiệt nóng khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm ($p > 0,05$). Sau khi gây SCI, hoàn toàn không có phản xạ (co chân, liếm chân, nhảy) ở nhóm gây mô hình so với nhóm chứng vào ngày 7 có ý nghĩa thống kê ($p < 0,0001$). Từ ngày 14 - 28, thời gian phản xạ có xu hướng giảm, nhưng vẫn cao hơn so với nhóm chứng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$).

2. Kết quả giải phẫu bệnh sau khi gây mô hình chấn thương tủy sống



Hình 5. Hình ảnh tủy sống chuột số 1 của nhóm chứng (hình trái) và tủy sống chuột số 3 của nhóm gây mô hình (hình phải) ngày 14.



Hình 6. Hình ảnh tủy sống chuột số 2 của nhóm chứng (hình trái) và tủy sống chuột số 4 của nhóm gây mô hình (hình phải) ngày 28.

Hình ảnh vi thể giải phẫu bệnh tại vị trí tổn thương vào ngày 14 và 28 sau chấn thương cho thấy vùng chất trắng bị tổn thương, hình thành khoang hoại tử; trung tâm gồm các tế bào thoái hóa, hoại tử, xung quanh có các đại thực bào; có tăng sinh nhẹ các tế bào vi thần kinh đệm, đại thực bào hoạt hóa và tế bào hình sao.

BÀN LUẬN

1. Quá trình gây mô hình SCI

Ở chuột Wistar, tủy sống kết thúc ở mức L5 - L6, khiến các đoạn tủy lệch về phía đầu so với đốt sống mang tên tương ứng. Trong nghiên cứu này, để tiếp cận chính xác vị trí tổn thương, chúng tôi chọn đốt sống T13 làm mốc ngoài, sau đó mở rộng đường mổ lên trên 3cm để tiếp cận đốt tủy T8 - T10, nơi chịu trách nhiệm vận động chi sau và điều hòa chức năng thân dưới. Việc lựa chọn đoạn này cho phép mô hình hóa tổn thương thần kinh rõ rệt mà

không ảnh hưởng đến chức năng sống thiết yếu, đồng thời đảm bảo độ chính xác cao trong thao tác phẫu thuật [7].

Trong quá trình thiết lập mô hình SCI, việc lựa chọn mức lực kẹp là yếu tố quyết định đến mức độ tổn thương và tỷ lệ sống sót của động vật. Nhóm nghiên cứu đã lựa chọn lực kẹp là 70g gây ra các triệu chứng thần kinh điển hình, rối loạn các chức năng vận động, cảm giác và giải phẫu bệnh, mà vẫn duy trì tỷ lệ sống 100%, lựa chọn này phù hợp với nghiên cứu của Khan F và CS (2022) [7].

2. Rối loạn chức năng vận động, cảm giác và giải phẫu bệnh

* *Điểm BBB*: Ở nhóm chuột SCI gần như bằng 0 ($0,38 \pm 0,49$) trong những ngày đầu (1, 2, 3 ngày sau phẫu thuật) cho thấy mất gần như hoàn toàn chức năng vận động giai đoạn cấp. Từ ngày 7 - 28, điểm BBB tăng nhẹ cho thấy sự phục hồi chậm và không hoàn toàn. Kết quả phản ánh đặc trưng tổn thương từ trung bình đến nặng, phù hợp với nghiên cứu của Khan F và CS (2022) [7].

* *Bài kiểm tra Rotarod*: Sau khi gây SCI, thời gian chuột giữ thăng bằng ở nhóm gây mô hình giảm mạnh so với nhóm chứng vào ngày thứ 14, cho thấy suy giảm nghiêm trọng chức năng vận động và tổn thương rõ ở các đường dẫn truyền vận động. Từ ngày thứ 21 - 28, thời gian giữ thăng bằng có xu hướng tăng nhẹ, nhưng vẫn thấp hơn đáng kể so với nhóm chứng, cho thấy khả năng phục hồi chức năng vận động còn hạn chế và chưa có sự phối hợp cơ hiệu quả. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Vafaei-Nezhad S và CS (2021) [5] khi áp dụng mô hình SCI tương tự, trong đó thời gian giữ thăng bằng cũng giảm mạnh sau tổn thương và chỉ phục hồi một phần sau 4 tuần.

* *Bài kiểm tra cảm giác đau bằng nhiệt nóng*: Sau khi gây SCI, hoàn toàn không có phản xạ (co chân, liếm chân, nhảy) ở nhóm gây mô hình so với nhóm chứng vào ngày thứ 7, cho thấy tổn thương nặng các đường dẫn truyền cảm

giác. Từ ngày 14 - 28, thời gian phản xạ có xu hướng giảm, nhưng vẫn cao hơn so với nhóm chứng, phản ánh khả năng phục hồi cảm giác còn rất hạn chế. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Khan F và CS (2022) [7].

* *Giải phẫu bệnh tử sống*: Hình ảnh vi thể giải phẫu bệnh ở vật kính 4x và 40x ở ngày 14 và 28 cho thấy các đặc điểm điển hình của tổn thương tủy cấp tính: Khoang hoại tử trung tâm là hậu quả của quá trình hoại tử tế bào thần kinh và mất bao myelin. Cấu trúc mô tủy bị phá hủy nặng, thể hiện qua mất ranh giới chất trắng - chất xám, thoái hóa sợi trục và vỡ bao myelin. Phản ứng viêm tại chỗ được ghi nhận với sự thâm nhiễm của các tế bào viêm mạn tính, đặc biệt là tế bào vi thần kinh đệm và đại thực bào hoạt hóa; tăng sinh tế bào hình sao, dẫn đến hình thành sẹo thần kinh. Tổn thương tiếp tục tiến trình tổ chức hóa và mở rộng theo thời gian cho thấy thoái hóa thứ phát kéo dài sau giai đoạn cấp [8].

3. Tính ứng dụng và độ tin cậy của mô hình

Mô hình SCI bằng kẹp clip với lực 70g trong thời gian 60 giây phản ánh được tổn thương điển hình của SCI về chức năng vận động, cảm giác và giải phẫu bệnh.

So sánh với các mô hình đụng giập, cắt ngang và các phương pháp gây mô hình SCI khác, phương pháp kẹp clip có

những ưu điểm nổi bật như kiểm soát lực chính xác và đồng nhất, khả năng phục hồi một phần để đánh giá can thiệp, chi phí thấp, không yêu cầu thiết bị phức tạp, tỷ lệ sống 100%. Đây là lựa chọn đáng tin cậy được sử dụng để gây mô hình SCI, có giá trị thực tiễn cao trong nghiên cứu cơ chế bệnh sinh và thử nghiệm các liệu pháp điều trị phục hồi sau SCI [9].

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng thành công mô hình SCI trên chuột cống trắng bằng phương pháp kẹp clip với lực 70g trong 60 giây tại đốt tủy T8 - T10, gây ra tổn thương chức năng vận động, cảm giác và giải phẫu bệnh; đáp ứng yêu cầu về độ tin cậy và khả năng ứng dụng trong thực hành nghiên cứu.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin gửi lời cảm ơn tới Bộ môn Phẫu thuật thực hành - thực nghiệm, Bộ môn Sinh lý bệnh, Học viện Quân y đã hỗ trợ và tạo điều kiện để thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ahuja CS, Nori S, Tetreault L, et al. Traumatic spinal cord injury-repair and regeneration. *Nat Rev Neurol*. 2017; 13(4):241-255.
2. Joshi M, Fehlings MG. Development and characterization of a novel, graded model of clip compressive spinal cord injury in the mouse: Part 1. Clip design,

behavioral outcomes, and histopathology. *J Neurotrauma*. 2002; 19(2):175-190.

3. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma*. 1995; 12(1):1-21.

4. Harrison M, O'Brien A, Adams L, et al. Vertebral landmarks for the identification of spinal cord segments in the mouse. *Neuroimage*. 2013; 68:22-29.

5. Vafaei-Nezhad S, Niknazar S, Norouzian M, et al. Therapeutics effects of [Pyr1] apelin-13 on rat contusion model of spinal cord injury: An experimental study. *Journal of Chemical Neuroanatomy*. 2021; 113:101924.

6. Giglio CA, Defino, HLA, Da-Silva CA, et al. Behavioral and physiological methods for early quantitative assessment of spinal cord injury and prognosis in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2006; 39:1613-1623.

7. Khan F, Baseer N, Habib H, et al. Calibrated behaviors assessment in spinal cord compression injury model in rats. *International Journal of Health Sciences*. 2022; 6(S9):4846-4856.

8. Cheriyan T, Ryan DJ, Weinreb JH, et al. Spinal cord injury models: A review. *Spinal Cord*. 2014; 52(8):588-595.

9. Ahmed RU, Alam M, Zheng YP. Experimental spinal cord injury and behavioral tests in laboratory rats. *Heliyon*. 2019; 5(3).