

2,4-DINITROCHLOROBENZENE KÍCH THÍCH SỰ PHÁT TRIỂN CÁC TỔN THƯƠNG TƯƠNG TỰ VIÊM DA CƠ ĐỊA TRÊN CHUỘT NHẮT TRẮNG THỤY SĨ

**Lê Thu Hoài⁽¹⁾, Huỳnh Anh Phương⁽¹⁾, Vũ Bảo Quốc⁽¹⁾, Châu Hào Nam⁽²⁾,
Nguyễn Huỳnh Kim Uyên⁽³⁾, Trương Đình Kiều Diễm⁽¹⁾, Vũ Diễm My⁽¹⁾**

(1) Trung tâm Y sinh học phân tử, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

(2) Bộ môn Da liễu, Trường Y, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

(3) Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài 15/4/2025; Chấp nhận đăng 27/5/2025

Liên hệ email: tdkdiem@ump.edu.vn; diemmyvu@ump.edu.vn

Tóm tắt

Viêm da cơ địa (VDCĐ) là một bệnh lý da phổ biến và hiện vẫn chưa có liệu pháp điều trị hiệu quả. Việc phát triển các mô hình động vật VDCĐ sẽ hỗ trợ các nghiên cứu về bệnh học phân tử đồng thời cung cấp công cụ thử nghiệm các phương pháp điều trị hiện đại. Nghiên cứu được thực hiện nhằm khảo sát sự phát triển triệu chứng VDCĐ trên chuột nhắt trắng Thụy sĩ bởi hóa chất 2,4-Dinitrochlorobenzene (DNCB) với các chỉ tiêu đánh giá về tổn thương da, cân nặng cơ thể, lách và hạch lympho. Chuột được chia ngẫu nhiên vào các nhóm nghiên cứu: nhóm không bôi DNCB, nhóm bôi DNCB 0,5%, và nhóm bôi DNCB 0,5% + Dexamethasone 25µM. Tiến hành đánh giá các chỉ số điểm tổn thương da, khối lượng cơ thể chuột, tỉ lệ khối lượng lách và hạch lympho. Kết quả ghi nhận sự phát triển triệu chứng VDCĐ trên nhóm chuột có bôi DNCB 0,5%. Nhóm chuột bôi DNCB có cân nặng trung bình thấp hơn, tỉ lệ khối lượng lách và hạch lympho cao hơn so với nhóm không bôi DNCB.

Từ khóa: *chuột nhắt trắng Thụy sĩ, DNCB, viêm da dị ứng*

Abstract

INDUCTION OF ATOPIC DERMATITIS-LIKE LESIONS BY TOPICAL APPLICATION OF 2,4-DINITROCHLOROBENZENE IN SWISS ALBINO MICE

Atopic dermatitis (AD) is a common inflammatory skin disease for which there is lacking effective treatment. The development of different AD models will support studies of molecular pathology and provide a research tool for testing novel therapeutics. Our study aimed to induce the development of AD-like lesions by topical application of 2,4-Dinitrochlorobenzene on the dorsal skin of Swiss albino mice and characterize its manifestation. Subjects and methods: DNCB was applied topically on the dorsal skin of Swiss albino mice to sensitize and induce the development of AD-like lesions and symptoms. Pathological parameters including degrees of skin inflammation and damage, body weight, and the hypertrophy of secondary lymphoid organs were then measured. Results: the development of AD-like lesions with different degrees of AD symptoms was observed by DNCB treatment. Spleen hypertrophy and lymph node enlargement were also recorded. Conclusion: an induction of AD-like lesions could be achieved by topical application of DNCB in the dorsal skin of Swiss albino mice, thereby providing an additional approach for studying disease mechanisms in vivo.

1. Đặt vấn đề

Viêm da cơ địa (VDCĐ), là một trong những bệnh lý viêm da mãn tính phổ biến nhất (Bieber, 2022). Tần suất mắc VDCĐ ước tính khoảng 10%-20% trẻ em và 1%-3% người lớn, gây ảnh hưởng đáng kể đến chất lượng cuộc sống. Biểu hiện lâm sàng đặc trưng của VDCĐ bao gồm ngứa, tổn thương dạng chàm và khô da do sự rối loạn chức năng hàng rào biểu bì. Phần lớn bệnh nhân cũng đồng mắc một số rối loạn dị ứng khác, chẳng hạn như viêm mũi dị ứng, hen suyễn hoặc dị ứng thực phẩm (chneider và cs., 2013). VDCĐ có thể xuất hiện ở bất kỳ độ tuổi, nhưng phổ biến hơn ở trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ. Tuy hầu hết các triệu chứng biểu hiện ở giai đoạn trẻ nhỏ sẽ hết trước tuổi trưởng thành, nhưng tình trạng bệnh chuyển mãn tính cũng khá phổ biến (~30%).

Những năm gần đây, tỷ lệ mắc VDCĐ đang có xu hướng gia tăng trên toàn thế giới. Trong một khảo sát toàn cầu thực hiện năm 1999 bởi Tổ chức Nghiên cứu quốc tế về bệnh hen suyễn và dị ứng ở trẻ em (ISAAC) báo cáo tỷ lệ mắc VDCĐ ở trẻ em châu Á nhìn chung cao hơn so với trẻ em ở Bắc Âu, với tần suất 1,2% ở Trung Quốc, 3,4% ở Hàn Quốc và 10,5% tại Nhật Bản. Năm 2009, ISAAC cập nhật tỷ lệ mắc VDDU trẻ em có sự gia tăng nhanh chóng lên mức 10%-20% tại nhiều nước đang phát triển khu vực Châu Á (Cheng và Han, 2021). Phân tích tổng hợp thực hiện bởi Volke và cs. (2022) từ 45 nghiên cứu khác nhau cho thấy tỷ lệ mắc VDCĐ trên nhóm người trưởng thành cũng có sự gia tăng đáng kể từ 5,7% (KTC 95% 4,0-8,7%) vào năm 2005 lên 13,7% (KTC 95% 9,6% - 19,2%) vào năm 2012. Tại Việt Nam, một công trình khảo sát các bệnh lý ngoài da và xác định các yếu tố liên quan được thực hiện trên 430 bệnh nhân tại Bệnh viện Da liễu Trung ương cho thấy VDCĐ là bệnh có tần suất xuất hiện cao nhất trên 28.8% tổng số các trường hợp (Nguyen và cs., 2019).

Việc điều trị VDCĐ ở các nhóm tuổi khác nhau hiện đang là một thách thức do nguyên nhân gây bệnh VDCĐ rất phức tạp và đa yếu tố, bao gồm sự rối loạn chức năng hàng rào thượng bì, đột biến gen hay tăng đáp ứng miễn dịch, rối loạn hệ vi sinh vật thường trú trên da... (Pareek và cs., 2024). Bên cạnh đó, VDCĐ là bệnh mạn tính hay tái phát và hiện chưa có liệu pháp điều trị hiệu quả.

Với nhu cầu gia tăng các nghiên cứu về cơ chế bệnh sinh và thử nghiệm các liệu pháp điều trị tiên tiến, một số mô hình động vật VDCĐ đã và đang được phát triển bằng việc sử dụng các chất hóa học, biến đổi gen, hay thay đổi điều kiện môi trường để cảm ứng sự khởi phát triệu chứng VDCĐ (Kim và cs., 2019). Nghiên cứu này tiến hành khảo sát mô hình VDCĐ trên chủng chuột nhắt trắng Thụy Sĩ kích thích bởi DNCB và đánh giá các thông số tổn thương da, cân nặng cơ thể, lách và hạch lympho nhằm xác định sự phát triển và biểu hiện VDCĐ trên mô hình chuột, phục vụ cho các nghiên cứu về cơ chế phân tử và thử nghiệm điều trị VDCĐ.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên vật liệu

DNCB (#138630, Sigma-Aldrich) được hòa tan trong hỗn hợp có chứa aceton (#100014, Sigma-Aldrich) và dầu ô liu (Olivoilà) với tỉ lệ 3:1. Dexamethasone (Sigma-Aldrich (#D1756) được hòa tan trong dung dịch đệm phosphate-buffered saline (PBS).

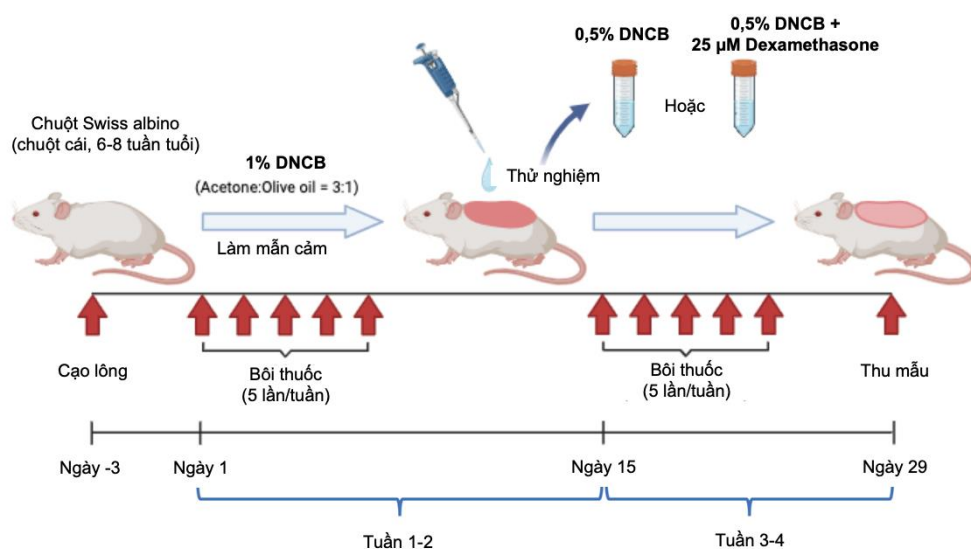
2.2. Đối tượng nghiên cứu

Chuột nhắt trắng Thụy sĩ (chuột cái, 6 tuần tuổi, cân nặng 20g-25g) được mua từ Viện Pasteur tại Thành phố Hồ Chí Minh. Chuột được nuôi một tuần trong điều kiện nhiệt

độ $26 \pm 2^\circ\text{C}$ và chu kỳ sáng/tối 12 giờ để thích nghi trước khi tiến hành thí nghiệm. Thức ăn là cám viên và nước uống lấy từ nguồn nước lọc dân dụng. Quy trình nghiên cứu đã được phê duyệt bởi Hội đồng Đạo đức của Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh (303/GCN-HĐĐDNCTĐV).

2.3. Kích thích sự phát triển viêm da cơ địa

Quá trình kích thích sự phát triển VDCĐ được thực hiện trong bốn tuần. Ở tuần đầu tiên, vùng da lưng (diện tích khoảng 3cm^2) của tất cả nhóm chuột được cạo sạch lông và tiến hành bôi $100\mu\text{L}$ dung dịch DNCB 1% trong dung môi acetone và dầu ô liu theo tỉ lệ 3:1, dung dịch được bôi một lần/ngày trong năm ngày để cảm ứng sự đáp ứng miễn dịch. Ở tuần thứ 2, chuột được nuôi trong điều kiện bình thường. Ở tuần thứ 3 và thứ 4, chuột ($n = 14$) được chia ngẫu nhiên thành ba nhóm: nhóm chứng không bôi DNCB ($n = 6$) mà chỉ bôi dung môi acetone và dầu ô liu theo tỉ lệ 3:1, nhóm thử nghiệm bôi $100\mu\text{L}$ dung dịch 0,5% DNCB ($n = 4$), và nhóm điều trị được bôi $100\mu\text{L}$ dung dịch DNCB 0,5% và $50\mu\text{L}$ dung dịch Dexamethasone $25\mu\text{M}$ ($n = 4$) sau đó 4 tiếng. Các nhóm chuột được bôi dung dịch một lần/ngày trong liên tục 5 ngày, trong 2 tuần. Thiết kế thí nghiệm được trình bày ở hình 1.



Hình 1. Thiết kế thí nghiệm

2.4. Đánh giá cân nặng, tỉ lệ khối lượng lách và hạch lympho: Tiến hành đo cân nặng cho mỗi cá thể chuột trước thí nghiệm và một lần/tuần trong suốt thời gian thực hiện thí nghiệm. Khi kết thúc thí nghiệm, thu nhận mẫu mô da, đo chiều dài và cân nặng mô lách của từng cá thể chuột.

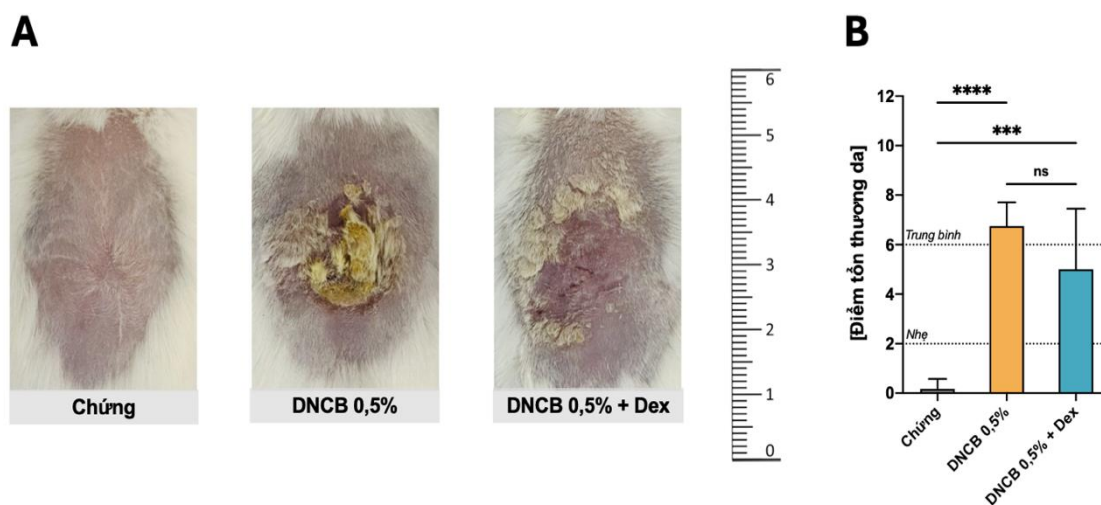
2.5. Đánh giá tổn thương da: Điểm tổn thương da được đo lường như trong nghiên cứu của Jang và cs. (2020). Trong đó, điểm tổn thương da được xác định dựa trên hình ảnh chụp vùng da lưng và tính điểm cho bốn triệu chứng bao gồm khô da, ban đỏ, phù nề và trầy xước/hình thành vảy với thang điểm 0 (không có), 1 (nhẹ), 2 (trung bình) hoặc 3 (nặng). Tổng điểm tổn thương da dao động từ 0 đến 12, trong đó điểm cao hơn cho thấy mức độ tổn thương nghiêm trọng hơn.

2.6. Xử lý số liệu: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình \pm độ lệch chuẩn. Phân tích thống kê được thực hiện bằng phép thử ANOVA bằng phần mềm Graphpad Prism phiên bản thứ 8. Giá trị $P < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê. Hình ảnh mô học sẽ được phân tích bằng phần mềm ImageJ.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. DNCB kích thích sự phát triển triệu chứng VDCĐ trên chuột nhắt trắng Thụy Sĩ

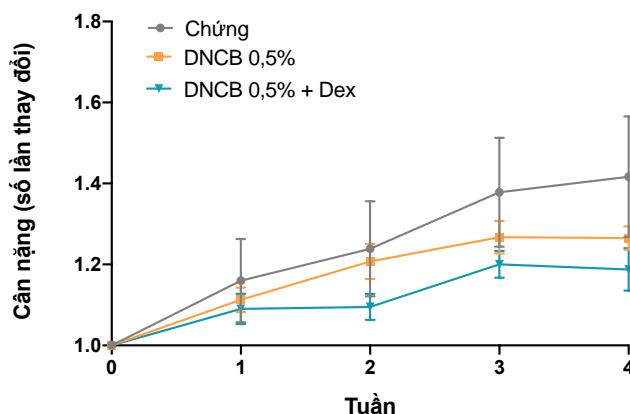
Da chuột bình thường trơn láng và có màu hồng nhẹ (hình 2A). Ở nhóm bôi DNCB tại tuần thứ 3 và thứ 4, vùng da lưng chuột bắt đầu xuất hiện các mảng hồng ban, tróc vảy màu trắng (hình 2A). Theo thời gian, biểu hiện này ngày càng tăng ở nhóm bôi DNCB cho đến khi kết thúc thí nghiệm. Ở nhóm chuột không bôi DNCB, điểm tổn thương da duy trì dưới mức 1 trong suốt thời gian nghiên cứu (hình 2B). Nhóm chuột bôi DNCB 0,5% có điểm tổn thương da trung bình là $6,75 \pm 0,96$, trong khi nhóm chuột bôi DNCB 0,5% + Dexamethasone $25\mu\text{M}$ có điểm trung bình là $5,0 \pm 2,45$. Cả hai nhóm chuột bôi DNCB đều có điểm tổn thương da khác biệt có nghĩa thống kê so với nhóm chuột không bôi.



Hình 2. Tổn thương da lưng ở các nhóm chuột.
(ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê, *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$)

3.2. Tác động của DNCB đến sự tăng cân nặng

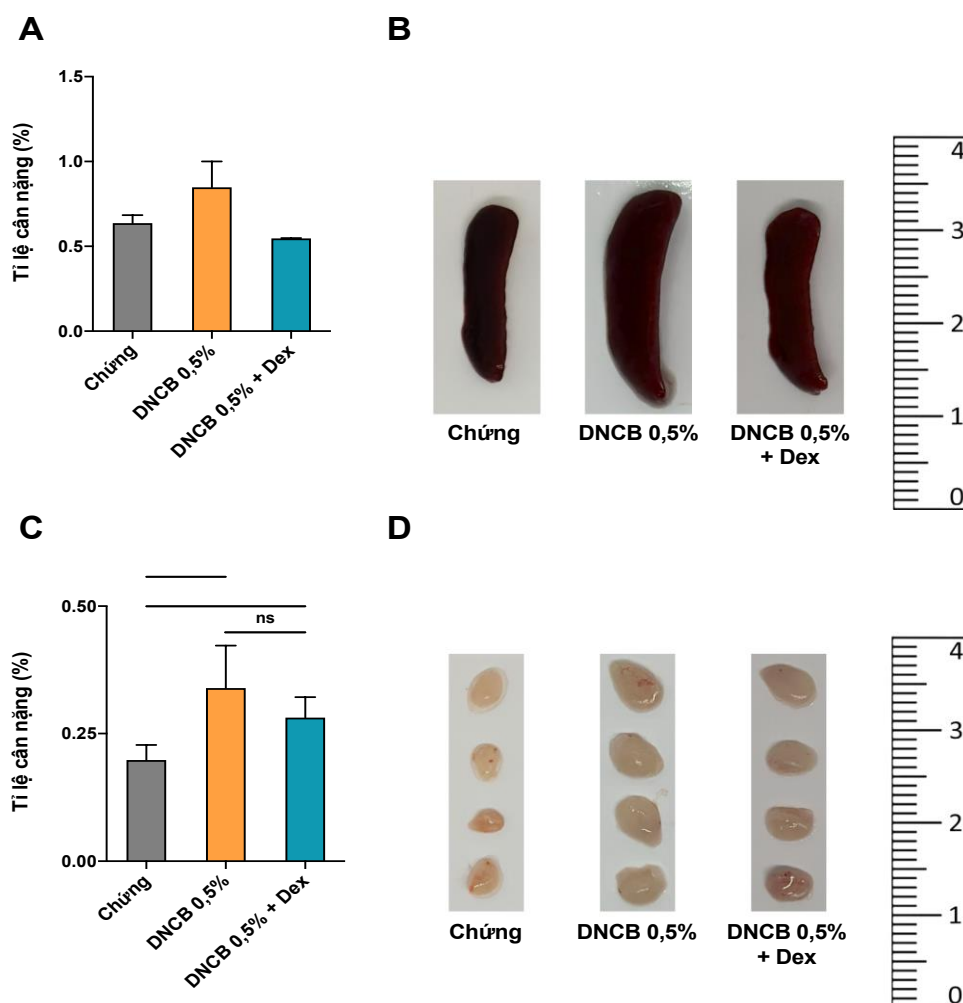
Theo dõi sự tăng cân nặng theo từng tuần so với tại thời điểm bắt đầu nghiên cứu cho thấy nhóm chuột không bôi DNCB có sự tăng cân nặng nhanh hơn so với nhóm có bôi DNCB (hình 3). Ở nhóm có bôi DNCB, chuột bôi DNCB 0,5% có sự tăng cân nặng nhiều hơn so với chuột được bôi đồng thời DNCB 0,5% + Dexamethasone $25\mu\text{M}$ (hình 3). Khi so sánh giữa các nhóm, không ghi nhận khác biệt có ý nghĩa thống kê.



Hình 3. Chỉ số cân nặng của các nhóm chuột.

3.3. Tác động của DNCB đến lách và hạch lympho

Tiến hành đánh giá tỉ lệ khối lượng lách và hạch lympho so với cân nặng tổng thể ghi nhận sự tăng kích thước mô lách và hạch lympho ở nhóm chuột có bôi DNCB (hình 3).



Hình 4. Tỉ lệ cân nặng, hình ảnh lách và hạch lympho của các nhóm chuột. (ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$)

Trong đó, nhóm chuột bôi DNCB 0,5% có tỉ lệ khối lượng mô lách so với khối lượng cơ thể là cao nhất (0,85%), tiếp theo là nhóm không bôi (0,64%) và nhóm bôi DNCB 0,5% + Dexamethasone 25 μ M (0,55%) (hình 3A-B). So sánh giữa các nhóm không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Đối với hạch lympho, tỉ lệ cao nhất được quan sát thấy ở nhóm chuột bôi DNCB 0,5% (0,34%), kế tiếp là nhóm chuột bôi DNCB 0,5% + Dexamethasone 25 μ M (0,28%) và nhóm chuột không bôi (0,20%) (hình 3C, 3D).

4. Bàn luận

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy việc bôi DNCB với nồng độ 0,5% tại vùng da lưng có thể kích thích sự phát triển triệu chứng giống VDCĐ trên chuột nhắt trắng Thụy sĩ. Điều này được thể hiện bằng sự xuất hiện các tổn thương như khô da, sần, trầy xước... Nhóm chuột bôi DNCB 0,5% cho thấy sự tăng cân nặng chậm hơn, với mô lách và hạch lympho có biểu hiện phì đại so với nhóm không bôi.

DNCB là chất gây dị ứng có thể thấm sâu vào da và được nhận diện bởi các tế bào tua gây ra các đáp ứng miễn dịch. Việc sử dụng DNCB bôi tại chỗ nhằm kích thích sự phát triển các triệu chứng VDCĐ đã được thực hiện trên nhiều chủng chuột khác nhau như SKH1, BALB/c, C57BL/6 và Nc/Nga (Zhang và Zhu, 2009). Tuy có một số khác biệt về đáp ứng viêm ở mức độ tế bào, các tổn thương như trầy xước, sần, tăng sản biểu bì đều được quan sát thấy ở các mô hình trên (Kim và cs., 2019). Trong đó, tăng sản biểu bì là dấu hiệu đặc trưng của VDCĐ kích thích bởi DNCB do tình trạng viêm mãn tính và tăng sinh quá mức các tế bào tiền thân. Trong nghiên cứu này, triệu chứng tương tự cũng đã được ghi nhận ở chủng chuột nhất trắng Thụy Sĩ. Ngoài ra việc sử dụng Dexamethasone cũng làm giảm tăng sản biểu bì trên chuột nhất trắng Thụy Sĩ, tương tự như kết quả quan sát thấy trên chủng chuột BALB/c, cho thấy sự tương đồng trong đáp ứng miễn dịch với DNCB giữa hai chủng chuột này.

Ở nồng độ thấp, Rebecca Riedl và cs. (2023) ghi nhận sự tăng cân nặng chậm hơn ở nhóm chuột bôi DNCB 0,3% và 0,5% so với nhóm đối chứng, tuy sự khác biệt này không mang ý nghĩa thống kê. Kết quả tương tự cũng đã được ghi nhận trong nghiên cứu của chúng tôi.

Khi tiếp xúc với chất gây dị ứng, đáp ứng miễn dịch được hoạt hóa để kích hoạt các tế bào miễn dịch và giải phóng các chất gây viêm. Các tế bào lympho khu trú tại các cơ quan ngoại vi như lá lách và hạch bạch huyết nhanh chóng trải qua quá trình kích hoạt, tăng sinh và trưởng thành. Tình trạng này có thể dẫn đến phì đại lách và sưng hạch lympho. Nghiên cứu trước đây trên chuột BALB/c đã ghi nhận tình trạng phì đại hạch lympho và lách khi bôi DNCB ở các liều lượng khác nhau (Riedl và cs., 2023). Trong nghiên cứu này, chúng tôi cũng ghi nhận kết quả tương tự.

5. Kết luận

Sự phát triển triệu chứng VDCĐ trên chủng chuột nhất trắng Thụy Sĩ có thể được kích thích thông qua việc bôi chất gây dị ứng DNCB ở nồng độ 0,5%.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí bởi Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh theo hợp đồng số 64/2023/HĐ-ĐHYD, ngày 20 tháng 03 năm 2023.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Bieber T. (2022). Atopic dermatitis: an expanding therapeutic pipeline for a complex disease. *Nat Rev Drug Discov*, 21(1), 21-40.
- [2] chneider L., Tilles S., Lio P., et al. (2013). Atopic dermatitis: A practice parameter update 2012. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 131(2), 295-299.e27.
- [3] Cheng J., Wu J.J., and Han G. (2021). Epidemiology and Characterization of Atopic Dermatitis in East Asian Populations: A Systematic Review. *Dermatol Ther (Heidelb)*, 11(3), 707-717.
- [4] Volke A., Toomper K., Laisaar K.-T., et al. (2022). 12-month prevalence of atopic dermatitis in resource-rich countries: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*, 12(1), 15125.

- [5] Nguyen S.H., Nguyen L.H., Vu G.T., et al. (2019). Health-Related Quality of Life Impairment among Patients with Different Skin Diseases in Vietnam: A Cross-Sectional Study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(3), 305.
- [6] Pareek A., Kumari L., Pareek A., et al. (2024). Unraveling Atopic Dermatitis: Insights into Pathophysiology, Therapeutic Advances, and Future Perspectives. *Cells*, 13(5), 425.
- [7] Kim D., Kobayashi T., and Nagao K. (2019). Research Techniques Made Simple: Mouse Models of Atopic Dermatitis. *J Invest Dermatol*, 139(5), 984-990.e1.
- [8] Jang S., Ohn J., Kim J.W., et al. (2020). Caffeoyl-Pro-His amide relieve DNCB-Induced Atopic Dermatitis-Like phenotypes in BALB/c mice. *Sci Rep*, 10(1), 8417.
- [9] Zhang E.Y., Chen A.Y., and Zhu B.T. (2009). Mechanism of Dinitrochlorobenzene-Induced Dermatitis in Mice: Role of Specific Antibodies in Pathogenesis. *PLoS One*, 4(11), e7703.
- [10] Riedl R., Kühn A., Rietz D., et al. (2023). Establishment and Characterization of Mild Atopic Dermatitis in the DNCB-Induced Mouse Model. *Int J Mol Sci*, 24(15), 12325.
- [11] Riedl R., Kühn A., Hupfer Y., et al. (2023). Characterization of Different Inflammatory Skin Conditions in a Mouse Model of DNCB-Induced Atopic Dermatitis. *Inflammation*.