

ẢNH HƯỞNG CỦA KETAMIN LÊN SỰ THU NHẬN VÀ GỢI LẠI TRÍ NHỚ KHÔNG GIAN CỦA CHUỘT NHẮT

Lưu Thị Thu Phương^{1*}, Phạm Trọng Khả¹

TÓM TẮT: Nghiên cứu nhằm đánh giá tác dụng của ketamin đến quá trình thu nhận và gợi lại trí nhớ không gian của chuột nhắt thông qua test mê lộ nước Morris. Đối tượng nghiên cứu là 40 chuột nhắt chủng Swiss, giống đực, khỏe mạnh, 7–10 tuần tuổi. Kết quả nghiên cứu cho thấy tiêm ketamin liều 20 mg/kg trước khi tiến hành test mê lộ nước không những làm giảm khả năng tìm bến đỗ mà còn làm tăng thời gian tìm thấy bến đỗ của chuột so với đối chứng. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu chưa thấy ảnh hưởng của việc sử dụng ketamin trước kiểm định đến thời gian lưu lại góc có bến đỗ của chuột.

Từ khóa: ketamin, mê lộ nước, thu nhận và gợi lại trí nhớ, chuột nhắt.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ketamin lần đầu tiên được Calvin Stevens tổng hợp vào năm 1962 và được dùng làm thuốc gây mê trên người [7]. Cơ chế tác động của ketamin là chất đối vận không cạnh tranh (non-competitive agonist) với thụ thể N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) của glutamate. Thụ thể này phân bố ở nhiều vùng trong não, đặc biệt với mật độ cao ở hồi hải mã (hippocampus), vị trí quan trọng có liên quan đến việc chuyển trí nhớ mới thành trí nhớ dài hạn cũng như quá trình củng cố trí nhớ [8].

Nghiên cứu của Krystal [3], Morgan và các cộng sự [5] cho thấy ketamin truyền tĩnh mạch có thể gây ra hiệu ứng quên (amnesic effect) và suy giảm nhận thức trên các tình nguyện viên bình thường, khỏe mạnh. Động vật thực nghiệm tiêm ketamin thể hiện sự suy giảm trí nhớ không gian so với đối chứng [1], [4], [6], [9]. Tuy nhiên, trí nhớ là một quá trình sinh lý phức tạp, bao gồm nhiều giai đoạn khác nhau. Do đó, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của ketamin đến giai đoạn thu

nhận (acquisition) và gợi lại (retrieval) trí nhớ không gian của chuột nhắt chủng Swiss thông qua test mê lộ nước Morris.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là 40 chuột nhắt chủng Swiss, giống đực, khỏe mạnh, 7–10 tuần tuổi, trọng lượng trung bình 27 ± 3 g, do ban chăn nuôi Học viện Quân y cung cấp. Chuột được chia đồng đều và ngẫu nhiên vào 4 lô thí nghiệm, được chăm sóc và nuôi trong phòng thoáng mát, ăn uống đầy đủ, chu kỳ sáng tối được duy trì 12/12 giờ.

2.2. Phương tiện và hóa chất

2.2.1. Phương tiện

Buồng thực nghiệm được quây vải đen có kích thước $150 \times 150 \times 150$ cm để cách ly với môi trường xung quanh và tránh các yếu tố gây nhiễu. Một số bức tranh được treo cố định trong buồng thực nghiệm để làm mốc.

Mê lộ nước được đặt trong buồng thực nghiệm là một chậu tôn (đường kính 100 cm, thành cao 30 cm) sơn đen toàn bộ mặt trong, đổ ngập nước 18–20 cm với nhiệt độ nước được duy trì ở $25-27^{\circ}\text{C}$, được đánh dấu chia đều làm 4 góc phần tư (I, II, III, IV). Bến đỗ (platform) làm bằng nhựa trong, đặt ở trung tâm góc IV, chìm cách mặt nước 0,5 cm (hình 1).

¹ Đại học khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc Gia, Hà Nội

* Tác giả chịu trách nhiệm chính:

Lưu Thị Thu Phương

Email: luuthuphuongsinhhoc@gmail.com

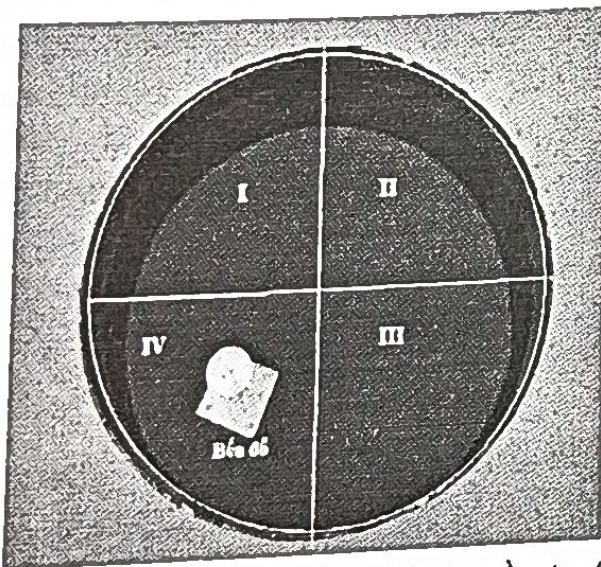
Ngày nhận bài: 5/3/2016

Ngày nhận bài phản biện: 21/4/2016

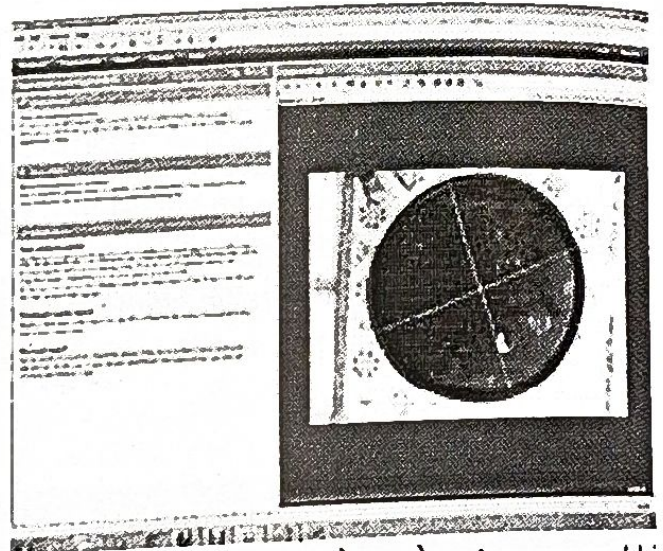
Ngày chấp nhận đăng: 24/6/2016

Các hoạt động của chuột trong mê lộ nước được ghi lại và phân tích trên hệ

thống ANY-maze (Stoelting, Hoa Kỳ) (hình 2).



Hình 1. Mê lộ nước với các góc phân tư (I, II, III, IV) và bến đỗ.



Hình 2. Giao diện phần mềm Any-maze khi phân tích video

2.2.2. Hóa chất

- Ketamin hydrochlorid lọ 10 ml (50 mg ketamin/ml) (Rotexmedica, Trittau, Đức).
- Dung dịch NaCl 0,9% (Euro-Med, Philippines).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Sử dụng thuốc

Ketamin và NaCl 0,9% được tiêm phúc mạc với liều tương ứng là 20 mg/kg thể trọng và 10 ml/kg thể trọng. 1 gam trọng lượng cơ thể tương ứng với thể tích tiêm là 0,01 ml.

2.3.2. Thiết kế nghiên cứu

- Thí nghiệm 1: đánh giá ảnh hưởng của ketamin đến quá trình thu nhận trí nhớ. Nhóm chuột thí nghiệm (n = 10) được tiêm ketamin, nhóm chuột đối chứng (n = 10) được tiêm dung dịch nước muối sinh lý trước khi thực hiện test mê lộ nước Morris 40 phút.

- Thí nghiệm 2: đánh giá ảnh hưởng của ketamin đến quá trình gợi lại trí nhớ. Trước tiên, nhóm chuột thí nghiệm (n = 10) và nhóm chuột đối chứng (n = 10) được huấn luyện bài test mê lộ nước Morris. 24 giờ sau khi được huấn luyện, chuột ở nhóm thí nghiệm được tiêm

ketamin, chuột nhóm đối chứng được tiêm dung dịch nước muối sinh lý 40 phút trước khi tiến hành kiểm định.

2.3.3. Quy trình test mê lộ nước Morris và các chỉ số nghiên cứu

Quy trình huấn luyện bài test mê lộ nước Morris [4], [10]

Trước khi tiến hành bài tập, chuột được đặt trong buồng thực nghiệm 60 giây để thích nghi với môi trường. Đặt chuột lên bến đỗ 30 giây, sau đó nhấc chuột ra khỏi bến đỗ và thả vào giữa một góc phân tư bất kỳ (không thả chuột vào góc phân tư có đặt bến đỗ - góc IV) để chuột tự bơi tìm bến đỗ ngập dưới nước. Thời gian bơi tối đa là 60 giây. Trong thời gian này, nếu chuột tìm được bến đỗ, chúng sẽ được nghỉ lại đó 5–10 giây. Quá 60 giây mà chuột chưa tìm được, kỹ thuật viên sẽ phải đặt chuột lên bến đỗ trong 20 giây để chuột tự quan sát các dấu mốc ở trong buồng thực nghiệm. Thực hiện quy trình tương tự với hai góc phân tư còn lại. Mỗi chuột sẽ được thực hiện test mê lộ nước Morris 6 lượt (3 góc x 2 lần).

Các chỉ số nghiên cứu: (i) thời gian tìm thấy bến đỗ: thời gian (giây) từ lúc

chuột được thả vào mê lộ nước tới khi động vật tìm được bến đỗ; (ii) quãng đường tìm thấy bến đỗ: chiều dài quãng đường (m) chuột bơi từ lúc được thả vào mê lộ nước tới khi tìm được bến đỗ; (iii) vận tốc trung bình: vận tốc bơi trung bình (cm/s) của chuột trong mê lộ nước; (iv) tỷ lệ (%) tìm được bến đỗ: là tỷ lệ giữa số lần chuột tìm được bến đỗ trên tổng số lần huấn luyện. Các chỉ số (i, ii và iii) được tính toán tự động bằng phần mềm ANY-maze (Stoelting, Mỹ).

Quy trình kiểm định bài test mê lộ nước Morris [4], [10]

Từ mỗi góc phần tư (I, II và III), chuột được thả vào mê lộ nước (không có bến đỗ) trong thời gian cố định là 60 giây. Mỗi chuột được kiểm định 6 lượt (3 góc x 2 lần). **Chỉ số nghiên cứu:** thời gian lưu lại góc có bến đỗ; đây là tổng thời gian (giây) chuột bơi ở góc IV (góc phần tư đặt bến

đỗ ở giai đoạn huấn luyện). Chỉ số này được tính toán tự động bằng phần mềm ANY-maze.

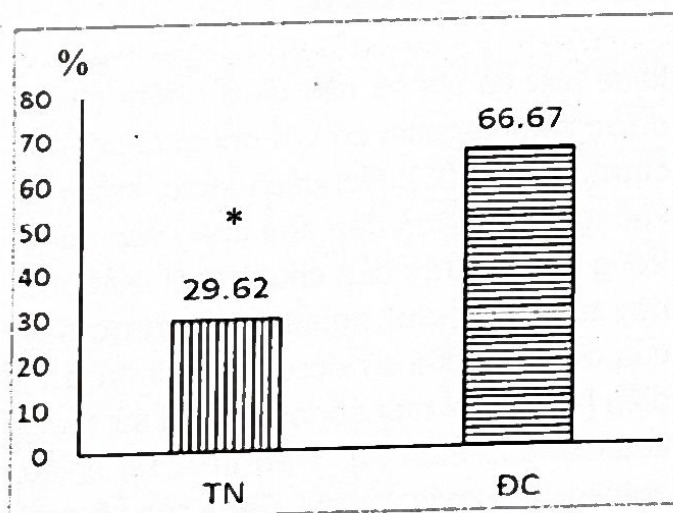
2.3.4. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý trên phần mềm Excel (Microsoft Office 2013) và phần mềm thống kê SPSS (version 15) cho Windows.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

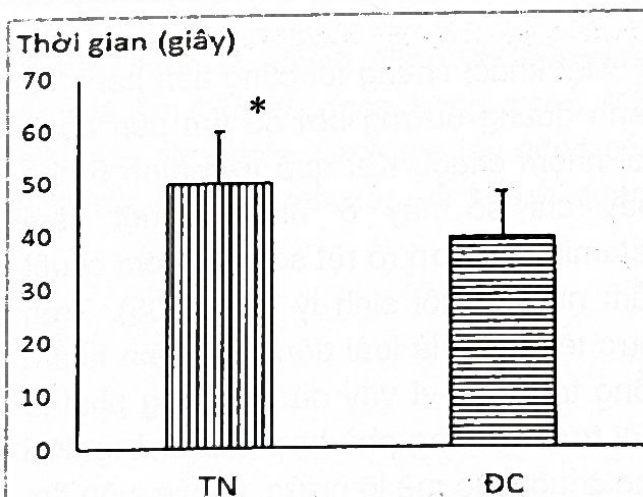
3.1. Ảnh hưởng của ketamin đến sự thu nhận trí nhớ

Để đánh giá ảnh hưởng của ketamin đến quá trình thu nhận trí nhớ, nhóm chuột thí nghiệm (TN) và nhóm chuột đối chứng (ĐC) lần lượt được tiêm ketamin và dung dịch nước muối sinh lý 40 phút trước khi tiến hành test mê lộ nước Morris. Kết quả nghiên cứu được trình bày trên các hình 3 – 6.



Hình 3. Tỷ lệ tìm được bến đỗ ở các nhóm chuột (*: $p < 0,05$ so với ĐC)

Kết quả nghiên cứu trên hình 3 cho thấy tỷ lệ tìm được bến đỗ ở nhóm TN thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm ĐC ($p < 0,05$). Trong suốt quá trình huấn luyện, nước trong mê lộ được làm đục để chuột không thể quan sát được bến đỗ ngập dưới nước, do đó động vật phải căn cứ vào các dấu mốc cố định (một số hình ảnh treo trong buồng thực nghiệm) để định hướng và ghi nhớ vị trí bến đỗ. Như vậy,

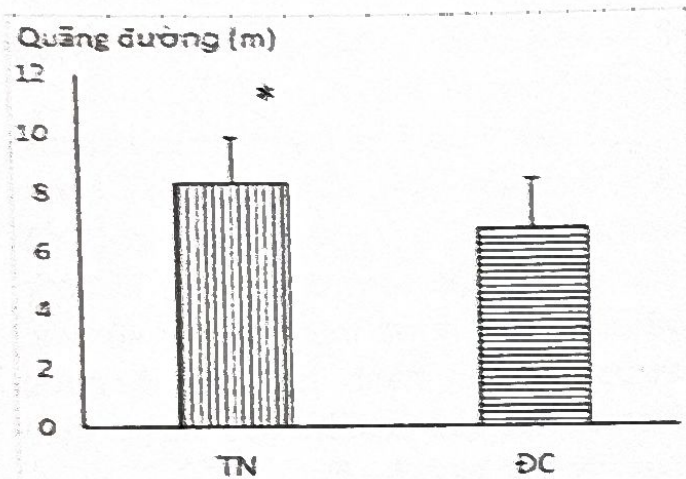


Hình 4. Thời gian bơi để tìm bến đỗ ở các nhóm chuột (*: $p < 0,05$ so với ĐC)

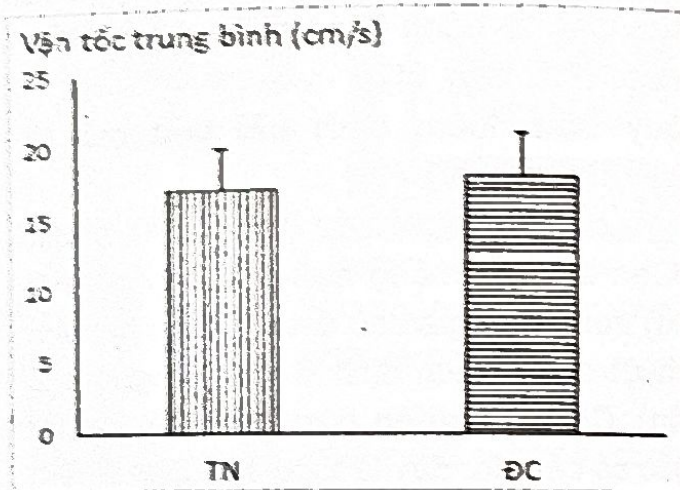
kết quả trên chứng tỏ khả năng xác định vị trí bến đỗ của chuột được tiêm ketamin kém hơn đối chứng nên số lần tìm thấy bến đỗ giảm (trong khi tổng số lần tập là tương đương nhau). Trong thí nghiệm này, vì ketamin được tiêm vào phúc mạc chuột trước khi tiến hành test mê lộ nước nên kết quả này gợi ý rằng ketamin đã ảnh hưởng đến quá trình thu nhận trí nhớ của chuột.

Bên cạnh đó, kết quả trên hình 4 còn cho thấy thời gian bơi để tìm bến đỗ của nhóm chuột TN cao hơn so với nhóm ĐC ($p < 0,05$). Trong test mê lộ nước, thời gian tìm bến đỗ là một chỉ số quan trọng, chỉ số này càng ngắn chứng tỏ khả năng định vị, ghi nhớ vị trí bến đỗ càng tốt và ngược lại. Quan điểm này đã được nhiều nhà khoa học trên thế giới ủng hộ và áp

dụng [4], [10]. Chính vì vậy, kết quả này của chúng tôi cũng cố thêm nhận định rằng ketamin liều 20 mg/kg đã ảnh hưởng tới giai đoạn thu nhận trí nhớ ở chuột nhắt trong test mê lộ nước Morris. Công trình nghiên cứu của Moosavi và cộng sự cũng cho kết quả tương tự, mặc dù nhóm tác giả này sử dụng đối tượng là chuột cống [4].



Hình 5. Quãng đường bơi tìm bến đỗ ở các nhóm chuột (*: $p < 0,05$ so với ĐC)



Hình 6. Vận tốc bơi trung bình ở các nhóm chuột

Mặt khác, chúng tôi cũng tiến hành so sánh quãng đường bơi để tìm bến đỗ ở hai nhóm chuột. Kết quả trên hình 5 cho thấy chỉ số này ở nhóm chuột tiêm ketamin cao hơn rõ rệt so với nhóm chuột tiêm nước muối sinh lý ($p < 0,05$). Trên thực tế, chuột là loài động vật gặm nhấm sống trên cạn vì vậy nước không phải là môi trường sống phù hợp của chúng. Khi cho chuột vào mê lộ nước, chúng luôn tìm cách thoát khỏi môi trường đó bằng cách bơi để tìm và leo lên bến đỗ. Do đó, nếu chuột không nhớ vị trí bến đỗ thì chúng sẽ bơi lòng vòng quanh mê lộ, làm cho quãng đường bơi tìm bến đỗ tăng lên; ngược lại, nếu chuột "định hướng" tốt vị trí của bến đỗ thì chúng sẽ bơi tới bến đỗ với quãng đường ngắn hơn. Theo logic này, nhóm chuột tiêm ketamin đã bộc lộ khả năng tìm đường và ghi nhớ vị trí bến đỗ kém hơn đối chứng.

So sánh vận tốc bơi trung bình của hai nhóm chuột (hình 6) cho thấy không có sự

khác biệt về chỉ số này giữa nhóm chuột được tiêm ketamin so với nhóm chuột đối chứng ($p > 0,05$). Nói cách khác, ketamin không ảnh hưởng đến khả năng vận động trong mê lộ nước của chuột nhắt. Kết quả này tương tự như nghiên cứu trước đây của chúng tôi khi sử dụng ketamin trường diễn [1] và của một số tác giả khi sử dụng ketamin cấp diễn [4]. Trên thực tế, nhiều nghiên cứu mặc dù chỉ đánh giá về môi trường tác xã hội, trí nhớ và học tập... của động vật nhưng vẫn không quên kiểm tra khả năng vận động của chúng. Đơn giản vì vận động là hành vi cơ bản và đặc trưng của động vật, nó gián tiếp ảnh hưởng tới các hoạt động và hành vi khác. Chính vì vậy, kết quả chứng minh ketamin không ảnh hưởng tới khả năng bơi của chuột đã cho thấy sự suy giảm trí nhớ không gian của động vật thí nghiệm không liên quan đến yếu tố vận động.

Tổng hợp các chỉ số đánh giá ở test mê lộ nước cho thấy ketamin liều 20

mg/kg đã ảnh hưởng đến quá trình thu nhận trí nhớ không gian của chuột nhắt. Nghiên cứu của Moosavi cũng cho kết quả tương tự với ketamin liều 15 mg/kg [4]. Cơ chế tác động của ketamin là chất đối vận không cạnh tranh (non-competitive agonist) với thụ thể NMDA (N-methyl D-aspartate) của glutamate. Nghiên cứu trước đây cho thấy ketamin làm suy giảm hoạt động của các synap ở vùng CA1 hồi hải mã [2]. Có thể đây là một trong những nguyên nhân làm suy giảm quá trình thu nhận trí nhớ ở động

vật. Tuy nhiên, cần có các nghiên cứu sâu hơn để làm rõ cơ chế của hiện tượng này.

3.2. Ảnh hưởng của ketamin đến quá trình gọi lại trí nhớ

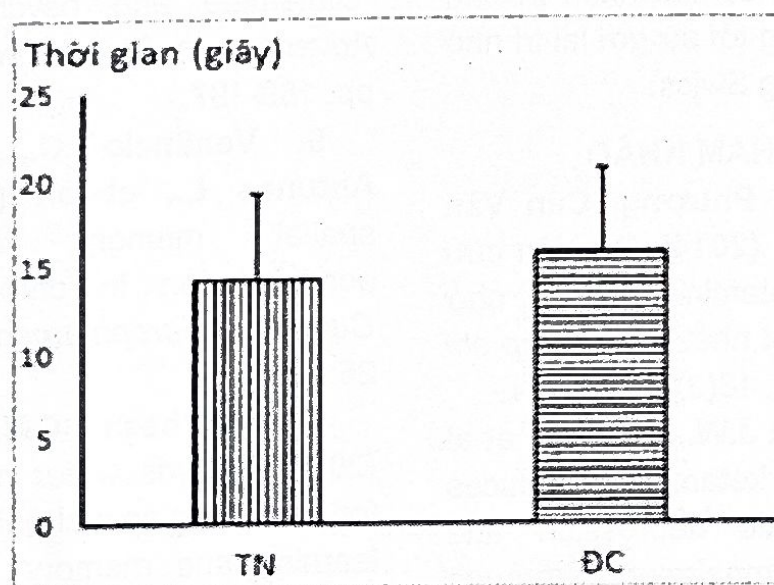
Trước khi đánh giá ảnh hưởng của ketamin đến quá trình gọi lại trí nhớ, toàn bộ chuột ở hai nhóm đều được huấn luyện test mê lộ nước Morris theo quy trình giống nhau. Kết quả nghiên cứu được trình bày trên bảng 1.

Bảng 1. Hoạt động của các nhóm chuột trong mê lộ nước ở ngày huấn luyện

Nhóm động vật	n	Thời gian (giây) ($\bar{x} \pm SD$)	Quãng đường (m) ($\bar{x} \pm SD$)	Vận tốc (cm/s) ($\bar{x} \pm SD$)
TN	10	41,35 $\pm$ 11,39	6,81 $\pm$ 1,47	17,89 $\pm$ 2,89
ĐC	10	40,84 $\pm$ 7,52	6,70 $\pm$ 1,67	16,00 $\pm$ 3,18
p		> 0,05	> 0,05	> 0,05

Kết quả trên bảng 1 cho thấy không có sự khác biệt giữa hai nhóm chuột về các chỉ số thời gian, quãng đường bơi để tìm bến đỗ cũng như vận tốc bơi trong mê lộ nước ($p > 0,05$). Chứng tỏ ban đầu chuột

ở hai nhóm là tương đồng về khả năng bơi và tìm bến đỗ ngập trong nước. Kết quả này cho phép đánh giá tác động của ketamin được chính xác và khách quan.



Hình 7. Thời gian lưu lại góc có bến đỗ

Trong test mê lộ nước Morris, người ta dùng chỉ số thời gian lưu lại góc có bến đỗ để đánh giá sự gọi lại trí nhớ ở động vật [4], [10]. Kết quả nghiên cứu trên hình

7 cho thấy thời gian lưu lại bến đỗ ở hai nhóm là tương đương nhau ($p > 0,05$). Như vậy, kết quả này chưa thấy ảnh hưởng của ketamin liều 20 mg/kg tiêm

phức tạp đến khả năng gọi lại trí nhớ ở chuột nhắt thực nghiệm. Kết quả của chúng tôi khác với công bố của Moosavi và cộng sự. Các tác giả này khi sử dụng ketamin liều 15 mg/kg trên đối tượng chuột cống Sprague-Dawley đã cho thấy quá trình gọi lại trí nhớ bị suy giảm [4]. Theo nghiên cứu của Moosavi, thời gian lưu lại góc có bển đồ của nhóm đối chứng và thí nghiệm lần lượt khoảng 37 và 27 giây [4]. Trong khi đó, chúng tôi áp dụng quy trình test mê lộ nước đơn tương tự như công bố của Moosavi nhưng thời gian lưu lại bển đồ của chuột chỉ dao động từ 14,24 – 15,80 giây. Như vậy giá trị này không có sự khác biệt khi so sánh giữa góc có bển đồ với các góc còn lại (vì thời gian kiểm định là 60 giây nên thời gian trung bình ở mỗi góc là $60:4 = 15$ giây). Chúng tôi cho rằng giống chuột không đồng nhất là yếu tố cơ bản tạo nên sự khác biệt này. Chính vì vậy, kết quả này gợi ý đối với chuột nhắt chủng Swiss cần tăng số ngày luyện tập trong test mê lộ nước khi đánh giá quá trình gọi lại trí nhớ.

4. KẾT LUẬN

Sử dụng test mê lộ nước Morris cho thấy ketamin liều 20 mg/kg tiêm phúc mạc làm ảnh hưởng đến sự thu nhận trí nhớ nhưng chưa tác động tới sự gọi lại trí nhớ trên chuột nhắt chủng Swiss.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lưu Thị Thu Phương, Cấn Văn Mão, Trần Hải Anh (2014), "Nghiên cứu ảnh hưởng của ketamine đến trí nhớ không gian của chuột nhắt trắng", *Tạp chí Sinh lý học Việt Nam*, 18(3), tr. 49 - 54.
2. Duan T.T., Tan J.W., Yuan Q., et al. (2013), "Acute ketamine induces hippocampal synaptic depression and spatial memory impairment through dopamine D1/D5 receptors", *Psychopharmacology (Berl)* 228(3), pp. 451-461.
3. Krystal J.H., Karper L.P., Bennett A., et al. (1998), "Interactive effects of

subanesthetic ketamine and subhypnotic lorazepam in humans", *Psychopharmacology (Berlin)* 135(3), pp. 213-229.

4. Moosavi M., Yadollahi Kholes G., Rastegar K., et al. (2012), "The effect of sub-anesthetic and anesthetic ketamine on water maze memory acquisition, consolidation and retrieval", *European Journal of Pharmacology* 677(1-3), pp. 107-110.

5. Morgan C.J., Mofeez A., Brandner B., et al. (2004), "Acute effects of ketamine on memory systems and psychotic symptoms in healthy volunteers", *Neuropsychopharmacology* 29(1), pp. 208-218.

6. Pitsikas N., Boultsadakis A., Kakellaris N. (2008), "Effects of sub-anesthetic doses of ketamine on rats' spatial and non-spatial recognition memory", *Neuroscience* 154(2), pp. 454-460.

7. Sinner B., Graf B.M. (2008), Ketamine. In: *Modern Anesthetics. Handbook of Experimental Pharmacology* 182, pp. 313-333.

8. Tsapakis E.M., Travis M.J. (2002), "Glutamate and psychiatric disorders", *Advances in Psychiatric Treatment* 8(3), pp. 189-197.

9. Venâncio C., Magalhaes A., Antunes L., et al. (2011), "Impaired spatial memory after ketamine administration in chronic low doses", *Current Neuropharmacology* 9(1), pp. 251-255.

10. Vorhees C.V., Williams M.T. (2006), "Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory", *Nature Protocol* 1(2): 848-858.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Khoa học Tự nhiên trong đề tài mã số TN.15.14. Chúng

tôi xin cảm ơn PGS.TS. Trần Hải Anh, Bộ trợ chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.
môn Sinh lý học, Học viện Quân Y đã hỗ

SUMMARY

EFFECTS OF KETAMINE ON SPACE MEMORY ACQUISITION AND RETRIEVAL IN MICE

Luu Thi Thu Phuong¹, Pham Trong Kha¹

¹VNU University of Science

The aim of this research was to assess the effects of ketamine on water maze memory acquisition and retrieval in mice. The research was carried out by using 40 healthy male Swiss mice, aged 7-10 weeks. The results showed that pre-training ketamine at dose 20 mg/kg not only impaired animal's performance in finding the hidden platform but also increased significantly the escape latency to platform comparing with control. However pre-probe ketamine was not affected on time spent in target quadrant.

Key words: ketamine, water maze, acquisition and retrieval memory, mice

Acknowledgements: This research is funded by the VNU University of Science under project number TN.15.14.

KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA ACETAMINOPHEN LÊN HOẠT ĐỘNG