

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA KETAMINE ĐẾN TRÍ NHỚ KHÔNG GIAN CỦA CHUỘT NHẮT TRẮNG

Lưu Thị Thu Phương¹, Cấn Văn Mão², Trần Hải Anh^{2,*}

TÓM TẮT: Ketamine là một chất đối kháng không cạnh tranh với thụ cảm thể NMDA, có thể gây ra những biến đổi hành vi, suy giảm nhận thức giống với các triệu chứng của bệnh tâm thần phân liệt. Nghiên cứu của chúng tôi nhằm đánh giá tác dụng của ketamine đến khả năng học tập và trí nhớ không gian của chuột nhắt thông qua bài tập mê lộ nước Morris. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: 105 chuột nhắt trắng đực, khỏe mạnh, 7-8 tuần tuổi được chia ngẫu nhiên thành 6 nhóm tiêm ketamine Ket 10 (10 mg/kg), Ket 15 (15 mg/kg), Ket 20 (20 mg/kg), Ket 25 (25 mg/kg), Ket 30 (30 mg/kg), Ket 35 (35 mg/kg) và nhóm chứng (NaCl 0,9%). Kết quả nghiên cứu cho thấy ketamine liều 15, 20, 30 và 35 mg/kg thể trọng/ngày làm tăng thời gian tìm thấy bến đỗ ở chuột thí nghiệm so với chuột chứng ($p < 0,05$). Quãng đường bơi để tìm thấy bến đỗ của nhóm Ket 10, 15, 20, 25 và 30 mg/kg cao hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt nào về vận tốc bơi trung bình giữa các nhóm ($p > 0,05$).

Từ khóa: ketamine, mê lộ nước Morris, chuột nhắt trắng

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh tâm thần phân liệt (TTPL) đã có từ rất lâu nhưng mãi đến thế kỷ XVIII bệnh mới được mô tả trong y văn và cho đến nay TTPL vẫn là một thách thức đối với các nhà khoa học bởi căn nguyên của bệnh chưa được làm sáng tỏ [1]. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy các chất đối kháng không cạnh tranh (noncompetitive antagonist) thụ cảm thể NMDA (N-methyl-D-aspartate) như phencyclidine (PCP), ketamine, MK-801 (dizocilpine)... có thể gây ra những biến đổi hành vi bao gồm các triệu chứng âm tính, dương tính, thâm hụt nhận thức giống với các triệu chứng của bệnh TTPL [2,3,5]. Do đó, các chất này thường được sử dụng trong nghiên cứu xây dựng mô hình TTPL cũng như đánh giá ảnh hưởng của các thuốc chống loạn thần trên động vật thực nghiệm [2,6]. Tuy nhiên, hướng nghiên cứu này ở Việt Nam còn khá mới mẻ, chưa thấy những công bố về ảnh hưởng của ketamine đến

trí nhớ và học tập trên động vật. Chính vì vậy, chúng tôi thực hiện đề tài này nhằm đánh giá ảnh hưởng của ketamine đến khả năng học tập và trí nhớ không gian của chuột nhắt trắng thông qua bài tập mê lộ nước Morris.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu gồm 105 chuột nhắt trắng, giống đực, khỏe mạnh, 7-8 tuần tuổi, trọng lượng trung bình 27 ± 2 (g) do ban chăn nuôi Học viện Quân y cung cấp. Chuột được chăm sóc và nuôi trong phòng thoáng mát, ăn uống đầy đủ, chu kỳ sáng tối được duy trì 12/12 giờ. Chuột được chia ngẫu nhiên thành 6 nhóm tiêm ketamine là Ket 10, Ket 15, Ket 20, Ket 25, Ket 30, Ket 35 và nhóm chứng (mỗi nhóm 15 con).

2.2. Phương tiện và hóa chất

2.2.1. Phương tiện

- Buồng thực nghiệm được quây vải đen có kích thước 1,5 x 1,5 x 1,5m để cách ly với môi trường xung quanh, tránh các yếu tố gây nhiễu. Trong buồng thực nghiệm có treo một số hình ảnh để làm mốc.

- Mê lộ nước được đặt trong buồng thực nghiệm là một thùng tôn, đáy sơn đen,

¹ Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

² Học viện Quân y

* Tác giả chịu trách nhiệm chính:

Trần Hải Anh

Email: anhhttr@yahoo.com

thành cao 30 cm, đường kính 1m, đổ ngập nước 18 - 20 cm, được chia làm 4 góc phần tư. Platform (bến đỗ) làm bằng meka trong, đặt ở trung tâm một góc phần tư, ngập nước khoảng 0,5 cm (Hình 1).

- Hệ thống ghi hình ảnh và phân tích hành vi Any - maze (Stoelting, Mỹ).

2.2.2. Hóa chất

- Dung dịch NaCl 0,9% được sản xuất bởi Euro-Med, Philippine

- Ketamine hydrochloride: lọ 10 ml (mỗi ml chứa 50 mg ketamine) được sản xuất bởi Rotexmedica, Trittenau, Đức.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Sử dụng thuốc

Chuột ở 6 nhóm Ket 10, 15, 20, 25, 30, 35 lần lượt được tiêm ketamine vào phúc mạc với liều 10, 15, 20, 25, 30 và 35 mg/kg thể trọng/ngày liên tục trong 14 ngày; chuột ở nhóm chứng được tiêm dung dịch sinh lý với liều 10 ml/kg thể trọng/ngày trong thời gian tương ứng. Mỗi chuột được tiêm 1 lần/ngày vào buổi sáng, 1 gam trọng lượng cơ thể tương ứng với thể tích tiêm là 0,01 ml dung dịch

2.3.2. Thiết kế nghiên cứu

Trước tiêm, toàn bộ chuột được thực hiện bài tập mê lộ nước Morris trong 1

ngày. 24 giờ sau lần tiêm cuối cùng, chuột được huấn luyện lại bài tập mê lộ nước Morris trong 7 ngày liên tiếp.

2.3.3. Quy trình thực hiện bài tập mê lộ nước Morris

- Trước khi tiến hành bài tập, cho động vật thích nghi với môi trường trong thời gian 60 giây. Nhiệt độ trong mê lộ nước được duy trì ở 25 - 27°C.

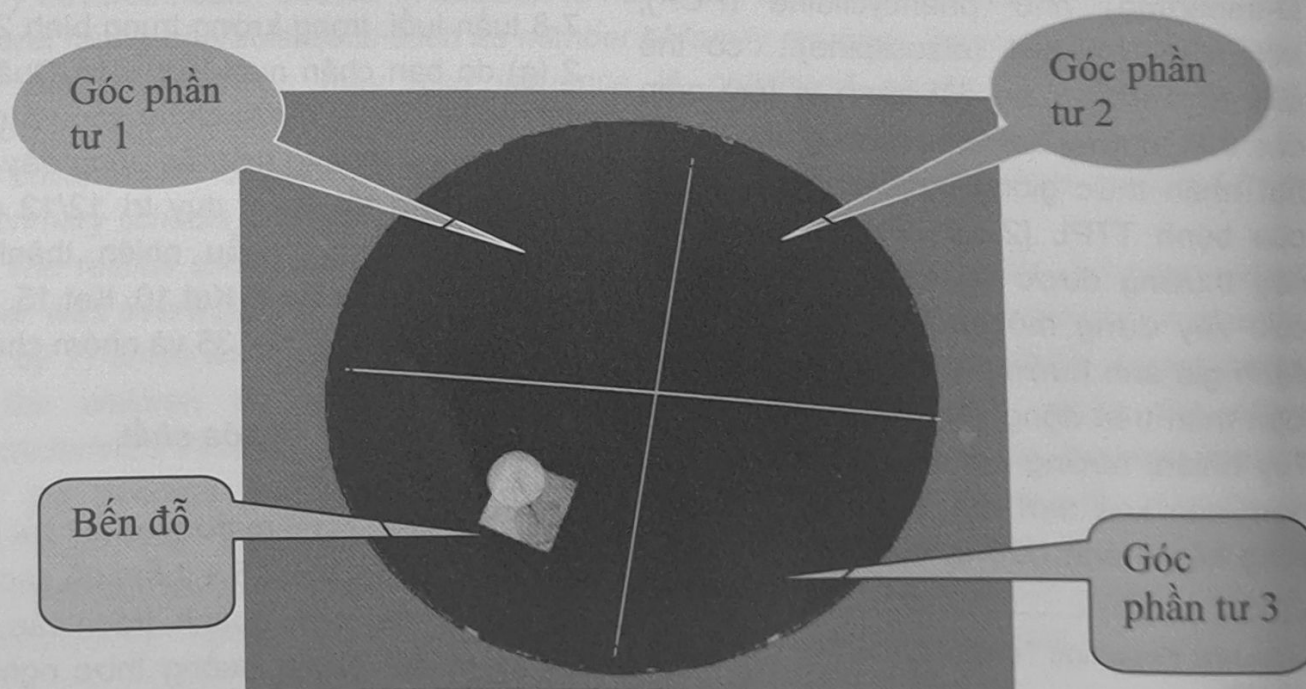
- Sau đó đặt động vật lên bến đỗ (platform) 30 giây, để động vật tự quan sát môi trường.

- Nhấc động vật ra khỏi platform và thả động vật vào giữa một góc phần tư bất kỳ theo hướng quay mặt về phía bến đỗ. Thời gian cho mỗi lần kiểm định tối đa là 60 giây. Vì vậy, nếu động vật tìm được bến đỗ (trước 60 giây), chúng được lưu lại đó 5-10 giây. Nếu quá 60 giây động vật chưa tìm được bến đỗ thì ta nhấc động vật đặt lên bến đỗ 20 giây.

- Tiếp tục kiểm định với 2 góc phần tư còn lại.

- Sau 20 - 30 phút, lặp lại quy trình lần 2 như trên. Như vậy mỗi chuột được kiểm định ở 3 góc x 2 lần = 6 lượt/ngày.

- Tập liên tục trong 7 ngày



Hình 1. Mê lộ nước

2.3.4. Các chỉ số nghiên cứu

- Thời gian tìm thấy bến đỗ: là khoảng thời gian từ lúc chuột được thả vào trong mê lộ nước cho tới khi chuột tìm được platform.
- Quãng đường vận động trong mê lộ nước: là quãng đường chuột bơi để tìm được bến đỗ.
- Vận tốc trung bình: là vận tốc bơi trung bình của chuột trong mê lộ nước

Các thông số trên được tính toán tự động bằng phần mềm Any - maze (Stoelting, Mỹ)

2.3.5. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý phần mềm Excel (Microsoft Office 2010) và phần mềm thống kê SPSS (version 15).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

3.1. Kết quả bài tập mê lộ nước Morris trước khi tiêm thuốc

Bảng 1. Kết quả bài tập mê lộ nước Morris trước khi tiêm thuốc

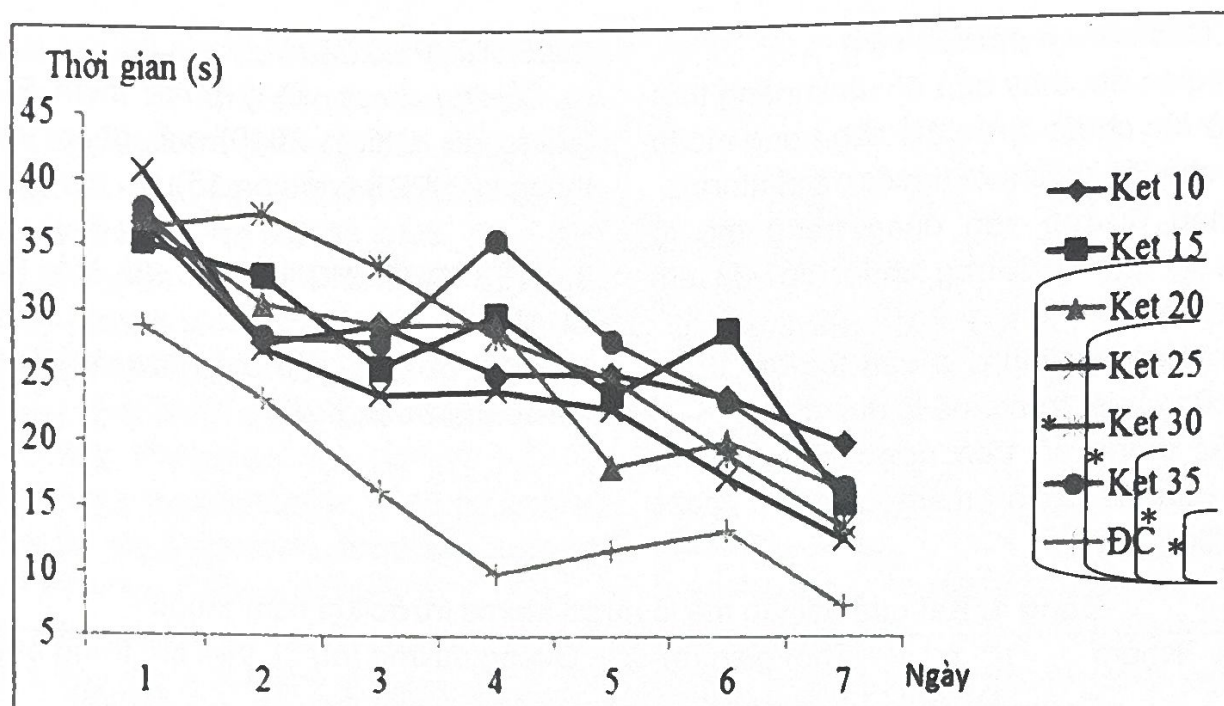
Nhóm	n	Thời gian (s)	Quãng đường (m)	Vận tốc trung bình (cm/s)
Ket 10	15	35,23 ± 9,45	7,81 ± 2,45	21,22 ± 3,73
Ket 15	15	35,84 ± 10,75	7,02 ± 1,95	19,89 ± 3,02
Ket 20	15	36,36 ± 11,60	7,96 ± 2,02	21,04 ± 3,80
Ket 25	15	37,08 ± 6,54	7,29 ± 1,68	18,52 ± 3,88
Ket 30	15	37,77 ± 6,86	7,62 ± 2,08	18,71 ± 2,98
Ket 35	15	36,64 ± 7,64	8,39 ± 2,03	20,52 ± 3,86
Chứng	15	36,87 ± 8,84	6,90 ± 1,34	20,13 ± 3,02
p		> 0,05	> 0,05	> 0,05

Phân tích phương sai một nhân tố cho thấy mối liên quan giữa các nhóm thí nghiệm về chỉ số thời gian bơi ($F(6,132) = 0,14$; $p > 0,05$), quãng đường vận động ($F(6,174) = 2,05$; $p > 0,05$) và vận tốc trung bình ($F(6,163) = 2,11$; $p > 0,05$). Kết quả này cho thấy các chỉ số thời gian bơi và quãng đường vận động để tìm thấy bến đỗ cũng như vận tốc trung bình trong mê lộ nước ở các nhóm chuột là tương đương nhau. Điều này phản ánh chuột ở các nhóm tương đối đồng nhất tại thời điểm ban đầu. Đây là điều kiện quan trọng và cần thiết giúp việc đánh giá trí nhớ và khả năng học tập của động vật sau khi tiêm thuốc được chính xác và khách quan.

3.2. Kết quả bài tập mê lộ nước Morris sau khi tiêm thuốc

3.2.1. Thời gian tìm thấy bến đỗ

Kết quả nghiên cứu trên hình 2 cho thấy thời gian tìm được bến đỗ của chuột ở tất cả các nhóm đều có xu hướng giảm dần từ ngày 1 (trung bình: 28,82 – 40,61 giây) đến ngày 7 (trung bình: 7,38 – 19,83 giây). Phân tích phương sai một nhân tố (one way ANOVA) cho thấy bắt đầu từ ngày 3 chuột chứng có thời gian tìm bến đỗ nhanh hơn rõ rệt so với chuột được tiêm ketamine ($p < 0,05$). Tuy nhiên, ảnh hưởng này tùy thuộc vào liều ketamine được sử dụng. Phân tích phương sai hai nhân tố (two - way ANOVA) cho thấy tác động giữa các ngày ($F(4,8; 318,3) = 43,03$, $p < 0,001$) và giữa các nhóm ($F(6, 66) = 3,39$; $p < 0,05$).



Hình 2. Thời gian tìm thấy bến đồ
(* $p < 0,05$ so với nhóm chứng)

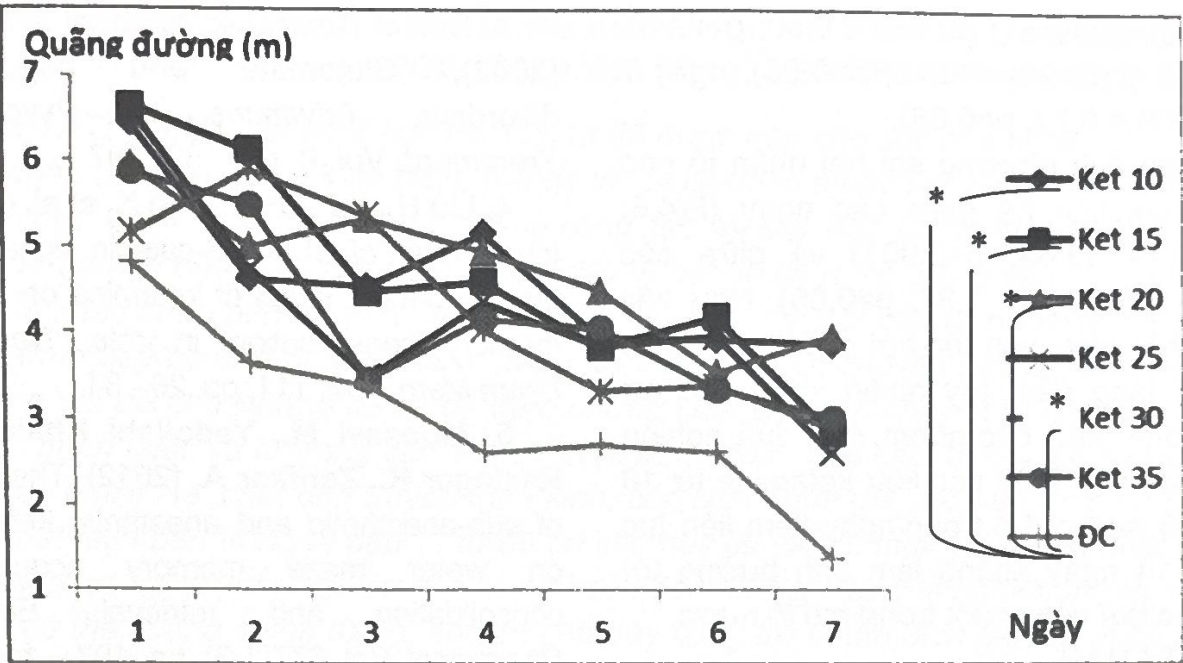
Như vậy, thời gian bơi để tìm bến đồ được rút ngắn theo số ngày luyện tập. Mặt khác, kết quả phân tích cũng chỉ ra sự khác biệt về chỉ số này giữa các lô. Kết quả kiểm định sâu (Post Hoc, Games Howell) chỉ ra nhóm Ket 15, 20, 30 và 35 có thời gian tìm thấy bến đồ dài hơn nhóm chứng ($p < 0,05$). Nói cách khác ketamine liều 15, 20, 30 và 35 mg/kg thể trọng/ngày tiêm 14 ngày liên tiếp đã làm chậm sự tiến bộ trong việc ghi nhớ vị trí bến đồ theo thời gian. Các nghiên cứu của Liu H. [4], Moosavi M. [5] và Qian Y. [7] cũng cho nhận xét tương tự. Điều này gợi ý rằng sự phong tỏa NMDA receptor không chỉ ảnh hưởng đến sự hình thành trí nhớ mà còn liên quan đến sự củng cố và gợi lại trí nhớ. Cơ chế của các quá trình này vẫn chưa được làm sáng tỏ, vì vậy cần có nhiều nghiên cứu sâu hơn để giải quyết vấn đề này.

3.2.2. Quảng đường vận động trong mê lộ nước

Kết quả trên hình 3 cho thấy quảng đường vận động trong mê lộ nước để tìm được bến đồ có xu hướng giảm dần từ ngày 1 (trung bình 4,81 – 6,64 mét) đến

ngày 7 (trung bình 1,36 – 3,97 mét). Kết quả phân tích phương sai một nhân tố cho thấy chuột tiêm ketamine cần quãng đường bơi để tìm bến đồ dài hơn chuột chứng tại thời điểm ngày 2 ($F(6, 92) = 3,69$; $p < 0,05$), ngày 3 ($F(6, 89) = 4,78$; $p < 0,001$), ngày 4 ($F(6, 94) = 3,21$; $p < 0,05$) và ngày 7 ($F(6, 89) = 8,43$; $p < 0,001$). Tuy nhiên, phân tích phương sai một nhân tố chưa xác định được cả quá trình luyện tập có sự khác biệt giữa nhóm tiêm ketamine và nhóm chứng hay không.

Phân tích phương sai hai nhân tố cho thấy ảnh hưởng giữa các ngày ($F(4,9; 368,7) = 41,53$; $p < 0,001$) và giữa các nhóm ($F(6, 75) = 4,76$; $p < 0,001$). Điều này cho thấy hoạt động học tập của động vật trong mê lộ nước Morris có sự tiến bộ theo thời gian, thể hiện bằng việc rút ngắn quãng đường bơi tìm đến đích. Tuy nhiên, sự tiến bộ này không đồng đều nhau ở các nhóm thí nghiệm. Kết quả kiểm định sâu (Post Hoc, Games - Howell) chỉ ra nhóm Ket 10, 15, 20, 25 và 30 cần quãng đường bơi để tìm bến đồ dài hơn nhóm chứng ($p < 0,05$).

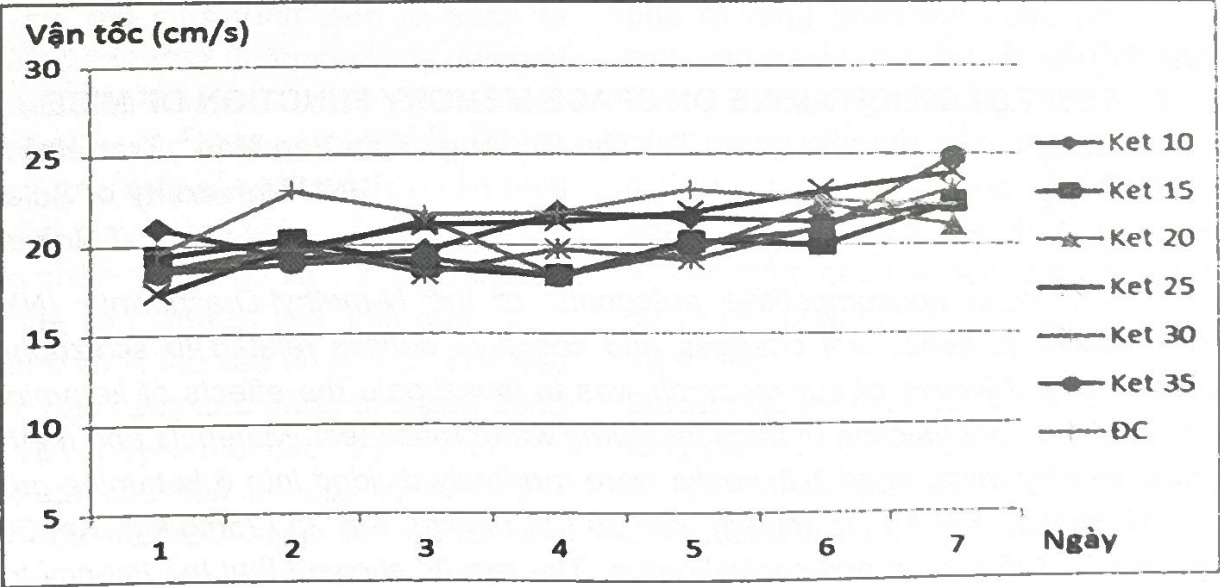


Hình 3. Quãng đường vận động trong mê lộ nước
(* $p < 0,05$ so với nhóm chứng)

Trong bài tập mê lộ nước Morris, quãng đường chuột bơi để tìm được bến đỗ cũng là một chỉ số quan trọng cho biết quá trình luyện tập có hiệu quả hay không. Lý do đơn giản là nếu chuột nhớ được vị trí của bến đỗ trong mê lộ thì chuột sẽ nhanh chóng tìm đến đích; ngược lại nếu quá trình học tập kém hiệu quả, chuột không nhớ vị trí đặt platform thì chúng sẽ phải bơi

lòng vòng để tìm bến đỗ làm quãng đường vận động sẽ dài hơn. Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi đã cho thấy ketamine liều từ 10 đến 30 mg/kg thể trọng/ngày tiêm 14 ngày liên tiếp đã làm ảnh hưởng đến trí nhớ không gian và quá trình học tập của chuột nhắt trắng trong bài tập mê lộ nước Morris.

3.2.3. Vận tốc trung bình trong mê lộ nước



Hình 4. Vận tốc trung bình trong mê lộ nước

Kết quả phân tích phương sai một nhân tố cho thấy không có sự khác biệt về vận tốc trung bình trong mê lộ nước giữa các nhóm chuột được tiêm ketamine so với

nhóm chứng tại mỗi thời điểm nghiên cứu (ngày 1 ($F(6, 86) = 1,11; p > 0,05$), ngày 2 ($F(6, 88) = 0,96; p > 0,05$), ngày 3 ($F(6, 95) = 0,96; p > 0,05$), ngày 4 ($F(6, 97) = 1,15;$

$p > 0,05$), ngày 5 ($F(6, 96) = 0,80$; $p > 0,05$), ngày 6 ($F(6, 96) = 0,48$; $p > 0,05$), ngày 7 ($F(6, 93) = 0,72$; $p > 0,05$).

Phân tích phương sai hai nhân tố cho thấy mối liên hệ giữa các ngày ($F(4,6; 341,2) = 13,86$; $p < 0,001$) và giữa các nhóm ($F(6, 74) = 1,37$; $p > 0,05$). Như vậy theo thời gian, vận tốc bơi của chuột trong mê lộ tăng dần; tuy nhiên không có sự khác biệt giữa các nhóm. Kết quả nghiên cứu này cho thấy các liều ketamine từ 10 đến 35 mg/kg thể trọng/ngày tiêm liên tục trong 14 ngày không làm ảnh hưởng tới vận tốc bơi của chuột trong mê lộ nước.

4. KẾT LUẬN

Ketamine liều 15, 20 và 30 mg/kg thể trọng/ngày liên tục trong 14 ngày làm ảnh hưởng rõ rệt đến trí nhớ và khả năng học tập của chuột nhắt trong mê lộ nước Morris.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn Tâm thần và Tâm lý Y học (2005), Tâm thần phân liệt, *Bệnh học Tâm thần*, NXB Quân đội Nhân dân, tr. 177 – 214.
2. Barbara K. Lipska and Joseph A. Gogos (2011), Animal models of schizophrenia", *Schizophrenia*, pp. 462 – 482.

3. Eva M. Tsapakis, Michael J. Travis (2002), Glutamate and psychiatric disorders, *Advances in Psychiatric Treatment*, Vol. 8, pp. 189–197.

4. Liu H., Xu G.H., Wang K. et al. (2014), Involvement of GSK3 β / β -catenin signaling in the impairment effect of ketamine on spatial memory consolidation in rats, *Neurobiol Learn Mem.*, Vol. 111, pp. 26 – 34.

5. Moosavi M., Yadollahi Kholes G., Rastegar K., Zarifkar A. (2012), The effect of sub-anesthetic and anesthetic ketamine on water maze memory acquisition, consolidation and retrieval, *Eur J Pharmacol*, Vol. 677(1-3), pp. 107 – 110.

6. Patricio O'Donnell (2011), *Animal Models of Schizophrenia and Related Disorders*, Springer New York.

7. Qian Y., Chen C. (2008), Effects of intraperitoneal (IP) different doses of ketamine on cognitive function in aged rats: 9AP6-8, *European Journal of Anaesthesiology: Pharmacology*, Vol. 25, pp. 140 – 141.

SUMMARY

THE EFFECT OF KETAMINE ON SPACE MEMORY FUNCTION OF MICE

Luu Thi Thu Phuong¹, Can Van Mao², Tran Hai Anh²

¹VNU University of Science,

²Vietnam Military Medical University

Ketamine, a noncompetitive antagonist of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor, produces behavioral changes and cognitive deficits related to schizophrenia symptoms. The objective of our research was to investigate the effects of ketamine on learning and memory function of mice by Morris water maze test. Materials and methods: 105 male healthy mice, aged 7-8 weeks were randomly divided into 6 ketamine groups: Ket 10 (10 mg/kg), Ket 15 (15 mg/kg), Ket 20 (20 mg/kg), Ket 25 (25mg/kg), Ket 30 (30 mg/kg), Ket 35 (35 mg/kg) and control group. The results showed that the latency to find platform in Ket 15, 20, 30 and Ket 35 groups was significantly longer than that of control group ($p < 0.05$). Distance travelled in Morris water maze of mice in Ket 10, 15, 20, 25 and 30 groups was significantly higher than that of control group ($p < 0.05$). There was no difference in average velocity within 7 groups ($p > 0.05$).

Keywords: ketamine, Morris water maze, mice