

TÁC DỤNG TRƯỜNG DIỄN CỦA KETAMINE LÊN HOẠT ĐỘNG VẬN ĐỘNG VÀ TƯƠNG TÁC XÃ HỘI TRÊN CHUỘT NHẮT

Lưu Thị Thu Phương¹, Cấn Văn Mão², Nguyễn Lê Chiến², Trần Hải Anh^{2*}

TÓM TẮT: Ketamin là chất đối kháng không cạnh tranh với thụ thể NMDA có thể gây ra những biến đổi hành vi. Nghiên cứu này nhằm đánh giá tác dụng của ketamine với các liều khác nhau đến hoạt động vận động và tương tác xã hội của chuột nhắt, nghiên cứu được tiến hành trên 105 chuột nhắt trắng đực, khỏe mạnh, 7-8 tuần tuổi được chia ngẫu nhiên thành 7 nhóm gồm 6 nhóm được tiêm trường diễn ketamine với các liều 10, 15, 20, 25, 30, 35 mg/kg thể trọng và nhóm đối chứng được tiêm dung dịch NaCl 0,9%, được kiểm định về các hoạt động trên trong các buồng chuyên dụng. Kết quả nghiên cứu cho thấy tiêm ketamine liều từ 10 đến 35 mg/kg thể trọng/ngày liên tục trong 14 ngày không làm ảnh hưởng đến hoạt động vận động của chuột nhắt. Trong khi đó, tiêm ketamine liều từ 20 đến 35 mg/kg thể trọng/ngày làm suy giảm hoạt động tương tác xã hội so với nhóm đối chứng.

Từ khóa: ketamine, tương tác xã hội, vận động, chuột nhắt

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Glutamate là một chất dẫn truyền trong hệ thần kinh trung ương, tác động lên cả nhóm thụ thể glutamatergic hướng ion (ionotropic) và hướng chuyển hóa (metabotropic) [8]. Thụ thể NMDA (N-methyl D-aspartate receptor) thuộc nhóm hướng ion có cấu trúc phức tạp nhất [8] và cũng là thụ thể có liên quan nhiều đến các bệnh lý rối loạn thần kinh tâm thần và tâm thần phân liệt (TTPL) [7], [8]. Nhiều nghiên cứu cho thấy các chất đối kháng thụ thể NMDA như ketamine, phencyclidine (PCP), MK-801 có thể gây ra một số biểu hiện trên động vật thực nghiệm tương tự như triệu chứng của bệnh TTPL [1], [3], [6-9]. Tuy nhiên, tùy thuộc liều lượng và đối tượng sử dụng mà các biểu hiện thu được cũng khác nhau. Bởi vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của

ketamine với dải liều từ 10 – 35mg/kg thể trọng đến hoạt động vận động và tương tác xã hội của chuột nhắt trắng.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu gồm 105 chuột nhắt trắng khỏe mạnh, giống đực, 7-8 tuần tuổi, trọng lượng trung bình 27 ± 2 g, do ban chăn nuôi Học viện Quân y cung cấp. Chuột được chia đều và ngẫu nhiên vào 7 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 quay vải đen có kích thước 150 x 150 x 150 cm để cách ly với môi trường xung quanh và tránh các yếu tố gây nhiễu.

- Môi trường mở có kích thước 40 x 40 x 60 cm, được làm bằng khung gỗ, đáy gỗ được sơn đen, bốn mặt lắp kính trong (hình 1).

- Dụng cụ đánh giá hành vi tương tác xã hội của chuột gồm hai buồng: buồng lớn được làm bằng khung gỗ có kích thước 40 x 40 x 60 cm, bốn mặt lắp kính trong;

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: anhhtr@yahoo.com

Ngày nhận bài: 31/10/2014

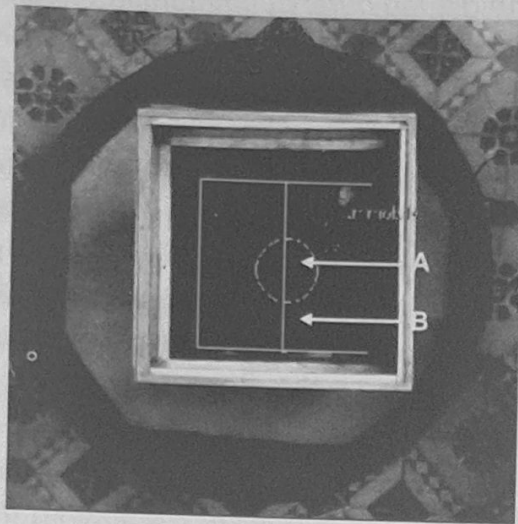
Ngày nhận bài phản biện: 20/12/2014

Ngày chấp nhận đăng: 8/3/2015

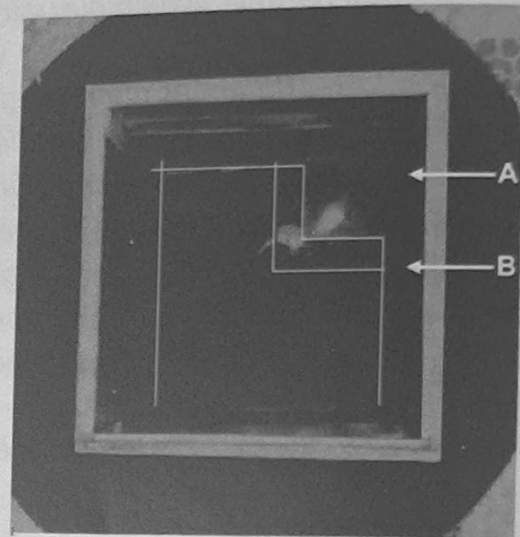
buồng nhỏ có kích thước 12 x 12 x 15 cm. Mặt trên và mặt đáy của buồng nhỏ làm bằng nhựa mica, các mặt bên được làm bằng các thanh inox xếp song song để động vật có thể tương tác với nhau (ví dụ:

ngửi, đánh hơi, bới lông...). Vùng giao tiếp là vùng bao quanh buồng nhỏ, rộng 5 cm (hình 2).

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



Hình 1. Môi trường mở với vùng trung tâm (A) và đường giữa (B).



Hình 2. Buồng tương tác xã hội với buồng nhỏ có động vật (A) và vùng tương tác (B).

2.2.2. Hóa chất

- Dung dịch NaCl 0,9% (Euro-Med, Philippine).
- Ketamine hydrochloride: lọ 10 ml (50 mg ketamine/ml) (Rotexmedica, Trittenau, Đức).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Sử dụng thuốc

6 nhóm chuột được tiêm ketamine vào phúc mạc với liều tương ứng 10, 15, 20, 25, 30 và 35 mg/kg thể trọng/ngày (các nhóm Ket 10, 15, 20, 25, 30, 35) liên tục trong 14 ngày; chuột ở nhóm chứng được tiêm nước muối sinh lý với thể tích tiêm 10 ml/kg thể trọng/ngày và được tiêm một lần vào buổi sáng.

2.3.2. Thiết kế nghiên cứu

Trước khi tiêm toàn bộ chuột được cho vận động tự phát trong môi trường mở và thực hiện kiểm định tương tác xã hội trong 3 ngày liên tiếp để đánh giá hoạt động vận động và tương tác với các cá thể cùng loài. 24 giờ sau lần tiêm cuối cùng, cho chuột thực hiện lại các kiểm định trên để đánh giá ảnh hưởng của ketamine lên các hoạt động đó.

2.3.3. Quy trình kiểm định vận động tự phát và tương tác xã hội

Kiểm định vận động tự phát và tương tác xã hội được thực hiện theo những nghiên cứu trước đây [4], [5] có cải tiến, cụ thể như sau:

- Kiểm định vận động tự phát: chuột phân tích được thả vào trung tâm của môi trường mở. Các hoạt động của chuột trong môi trường mở được ghi lại bằng CCD camera có độ phân giải cao, thời gian ghi cho mỗi chuột là 10 phút/ngày. Kết thúc mỗi lần kiểm định, thiết bị được lau sạch và khử trùng bằng cồn 70°.
- Kiểm định tương tác xã hội: hai chuột được cho vào buồng ghi. Chuột phân tích được cho vào trung tâm của buồng lớn, chuột đối tác vào buồng nhỏ. Chuột đối tác là chuột đực trưởng thành, khỏe mạnh, nuôi khác lồng so với chuột phân tích. Các hoạt động, hành vi của hai chuột được ghi lại bằng CCD camera có độ phân giải cao, thời gian ghi cho mỗi lần kiểm định là 10 phút/ngày. Kết thúc mỗi lần kiểm định, thiết bị được lau sạch và khử trùng bằng cồn 70° và thay chuột đối tác mới.

2.3.4. Các chỉ số nghiên cứu

- Hoạt động vận động trong môi trường mở:

+ Quãng đường vận động: chiều dài quãng đường chuột di chuyển trong môi trường mở trong 10 phút kiểm định.

+ Vận tốc trung bình: vận tốc vận động trung bình trong mỗi lần kiểm định.

- Hoạt động tương tác xã hội:

+ Số lần giao tiếp: tổng số lần chuột vào vùng giao tiếp để tương tác với chuột đối tác đặt trong lồng nhỏ.

+ Thời gian giao tiếp: tổng thời gian chuột vào vùng giao tiếp và có tương tác (ngửi, đánh hơi, bới lông...) với chuột đối tác.

Các chỉ số trên được tính toán bằng phần mềm ANY - maze (Stoelting, Mỹ)

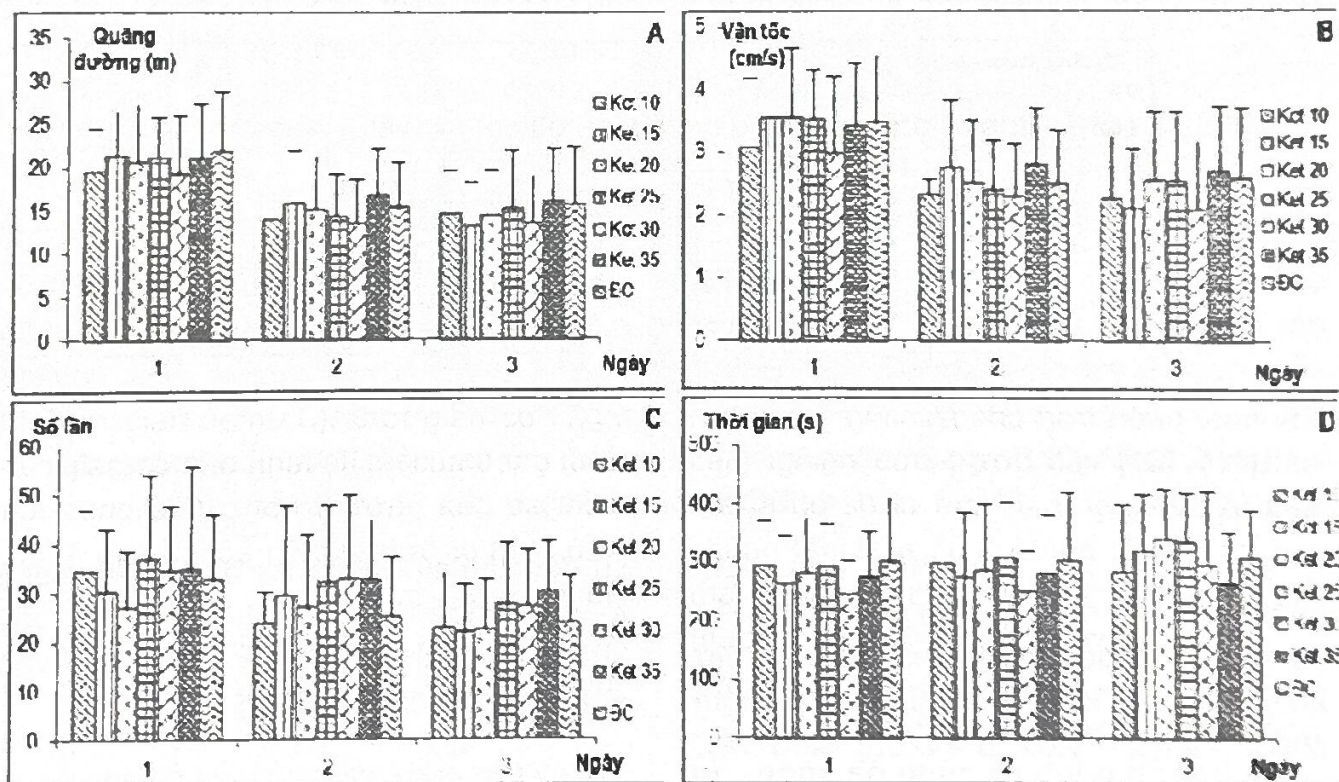
2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý trên phần mềm Excel (Microsoft Office 2003) và phần mềm thống kê SPSS (version 15), áp dụng phân tích phương sai một hoặc hai nhân tố cùng kiểm định sâu Tukey cho những phân tích có sự khác biệt theo nhân tố.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

3.1. Hoạt động vận động tự phát, tương tác xã hội trước tiêm thuốc

Kết quả về các hoạt động vận động tự phát và tương tác xã hội ở các nhóm chuột trước khi tiêm ketamine được trình bày trên hình 3.



Hình 3. Hoạt động vận động, tương tác xã hội ở các nhóm chuột trước tiêm ketamine. Quãng đường vận động (A) và vận tốc trung bình trong môi trường mở (B); số lần giao tiếp (C) và thời gian giao tiếp (D) trong buồng tương tác xã hội.

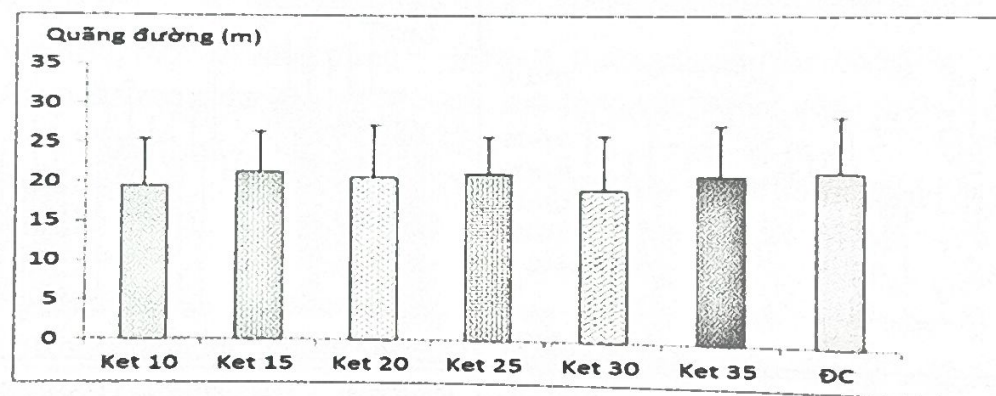
Kết quả trên hình 3 cho thấy trong môi trường mở, quãng đường vận động (hình 3A) và vận tốc vận động (hình 3B) không có hiệu ứng nhóm (quãng đường vận động: $F_{(6,111)} = 0,61$; $p > 0,05$; vận tốc vận động: $F_{(6,117)} = 0,7$; $p > 0,05$) nhưng có hiệu ứng ngày (hình 3A, quãng đường

vận động: $F_{(2,208)} = 66,93$; $p < 0,001$; hình 3B, vận tốc vận động: $F_{(1,9;219,7)} = 66,85$; $p < 0,001$) và các chỉ số này ở các nhóm chuột ở ngày 2 và 3 đều giảm so với ở ngày 1 ($p < 0,001$). Như vậy, trước tiêm ketamine, không có sự khác biệt giữa các nhóm chuột về quãng đường và vận tốc

vận động và trong 3 ngày liên tiếp tiếp xúc với môi trường mở, động vật khám phá môi trường chủ yếu trong ngày đầu tiên.

Đánh giá khả năng tương tác của chuột với các cá thể cùng loài thông qua kiểm định tương tác xã hội. Trong buồng ghi, cho các động vật tiếp xúc để đánh giá tương tác, đã thấy cả số lần giao tiếp (hình 3C) và thời gian giao tiếp (hình 3D) đều không có hiệu ứng nhóm (số lần giao tiếp: $F_{(6,111)} = 1,46$; $p > 0,05$; thời gian giao tiếp: $F_{(6,97)} = 1,03$; $p > 0,05$). Hiệu ứng ngày chỉ thể hiện ở số lần giao tiếp ($F_{(1,85;205,6)} = 10,79$; $p < 0,001$) với số lần giao tiếp ở ngày 2 và 3 giảm hơn so với ở ngày 1 (tương ứng $p < 0,05$ và $p < 0,001$).

3.2.1. Quãng đường vận động



Hình 4. Quãng đường vận động trong môi trường mở sau tiêm ketamine trường điển. ĐC: nhóm chứng.

Trên hình 4 cho thấy sau tiêm ketamine 14 ngày, quãng đường vận động của chuột trong môi trường mở không có sự khác biệt giữa các nhóm chuột ($F_{(6,122)} = 1,64$; $p > 0,05$). Như vậy,

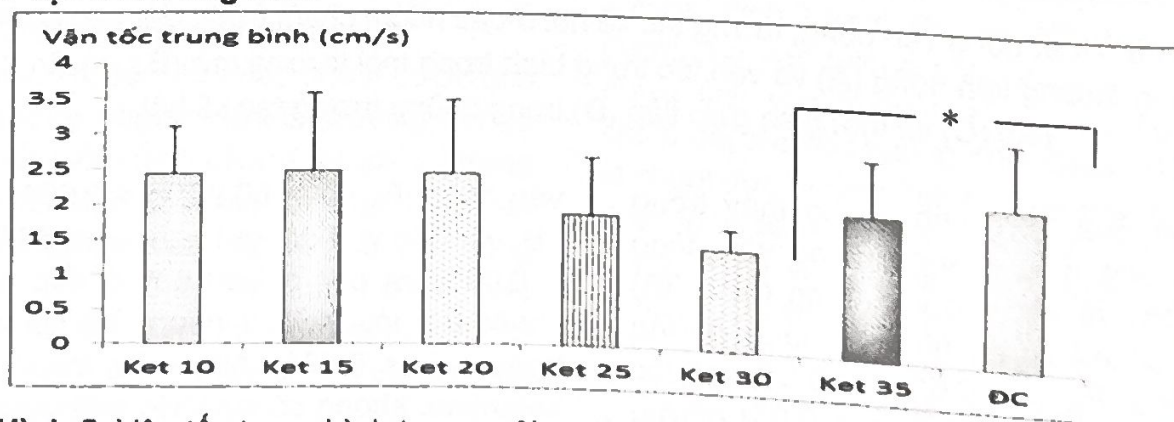
nhưng không khác biệt về thời gian giao tiếp ($F_{(2,194)} = 2,71$; $p > 0,05$). Không có sự khác biệt về các chỉ số đánh giá hoạt động vận động, tương tác xã hội giữa các nhóm chuột tại các thời điểm trước tiêm, điều này cho thấy trước tiêm chuột ở các nhóm tuy được phân chia ngẫu nhiên nhưng lại có sự tương đồng về hoạt động vận động và tương tác xã hội.

3.2. Hoạt động vận động, tương tác xã hội sau tiêm thuốc

Các kết quả về hoạt động vận động và tương tác xã hội ở các nhóm chuột được tiêm ketamine và nhóm chứng được minh họa trên các hình 4-7.

sử dụng ketamine liều từ 10 đến 35 mg/kg thể trọng/ngày tiêm liên tục trong 14 ngày không làm ảnh hưởng đến hoạt động vận động của chuột nhắt trắng.

3.2.2. Vận tốc trung bình

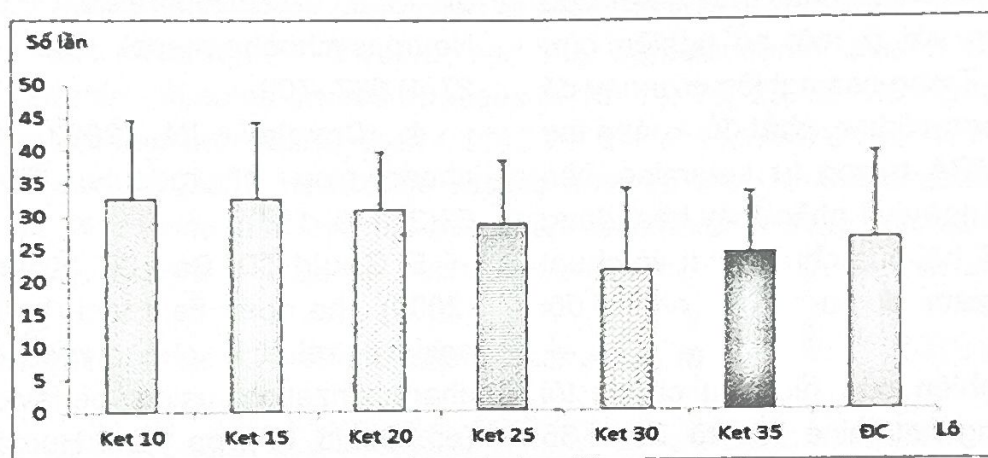


Hình 5. Vận tốc trung bình trong môi trường mở sau tiêm ketamine trường điển. (*, $p < 0,05$, so với ĐC).

Kết quả trên hình 5 cho thấy sau tiêm ketamine 14 ngày liều từ 10 đến 35 mg/kg thể trọng/ngày hầu như không ảnh hưởng đến vận tốc vận động của chuột (trừ nhóm dùng liều 30 mg/kg có vận tốc giảm so với ở nhóm đối chứng). Chỉ số quãng đường và vận tốc có mối liên quan tỷ lệ thuận và đều phản ánh sự vận động - một hoạt

động cơ bản của động vật. Khả năng vận động bị suy giảm có thể ảnh hưởng tới nhiều hoạt động khác trong đời sống của động vật như tìm kiếm thức ăn, tương tác xã hội, trốn tránh kẻ thù..., nên kết quả đánh giá hoạt động vận động góp phần để lựa chọn liều ketamine phù hợp cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.2.3. Số lần giao tiếp

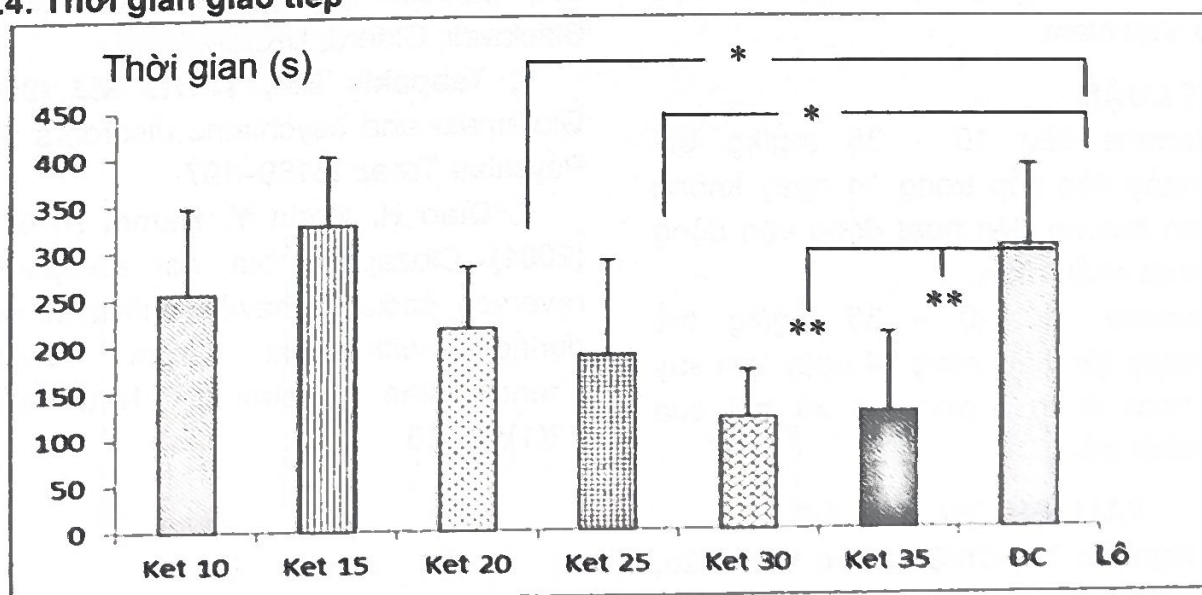


Hình 6. Số lần giao tiếp sau tiêm ketamine trường diễn.

Trên hình 6 cho thấy tuy có sự không đồng đều về số lần giao tiếp sau tiêm trường diễn ketamine giữa các nhóm, nhưng không có sự khác biệt rõ rệt giữa các nhóm tiêm ketamine so với ở nhóm đối chứng về chỉ số này. Kết quả này

cũng tương tự như trong nghiên cứu của Nguyễn Thị Chiêm và cs. [1]. Tuy nhiên nghiên cứu này chỉ đánh giá tác dụng của ketamine liều 20 mg/kg/ngày, còn trong nghiên cứu của chúng tôi đã sử dụng dải liều rộng hơn từ 10 – 35 mg/kg/ngày.

3.2.4. Thời gian giao tiếp



Hình 7. Thời gian giao tiếp sau tiêm ketamine trường diễn (*, $p < 0,05$; **, $p < 0,001$, so với ĐC)

Trên hình 7 cho thấy sau khi tiêm thuốc thời gian giao tiếp của chuột có sự khác biệt rõ rệt giữa các nhóm ($F_{(6,110)} = 17,01$; $p < 0,001$). Thời gian giao tiếp với cá thể cùng loài giảm ở các nhóm Ket 20, 25 ($p < 0,05$) và Ket 30, 35 ($p < 0,001$) so với ở nhóm chứng (kiểm định sâu), chứng tỏ rằng ketamine tùy thuộc vào liều sử dụng đã ảnh hưởng đến hành vi tương tác xã hội của chuột nhắt trắng. Kết quả này phù hợp với ở một số nghiên cứu khác [7], [9]. Trong các nghiên cứu này đã sử dụng phencyclidine, chất đối kháng thụ cảm thể NMDA tương tự ketamine, liên tục trong 14 ngày và nhận thấy hoạt động tương tác xã hội của chuột nhắt và chuột cống đều giảm đi so với ở nhóm đối chứng.

Trong nghiên cứu hiện tại chúng tôi thấy sử dụng ketamine liều từ 20 – 35 mg/kg thể trọng/ngày liên tiếp trong 14 ngày làm giảm hoạt động tương tác xã hội của chuột nhắt trắng, đây là biểu hiện của xu hướng biệt lập, ít giao tiếp với các cá thể cùng loài. Trên bệnh nhân tâm thần phân liệt cũng có các triệu chứng tương ứng như cách ly, không giao tiếp xã hội [2]. Do đó, kết quả của nghiên cứu này sẽ là cơ sở để xây dựng mô hình TTPL trên động vật thực nghiệm phù hợp với điều kiện ở Việt Nam.

4. KẾT LUẬN

- Ketamine liều 10 - 35 mg/kg thể trọng/ngày liên tiếp trong 14 ngày không làm ảnh hưởng đến hoạt động vận động của chuột nhắt trắng.
- Ketamine liều 20 – 35 mg/kg thể trọng/ngày liên tiếp trong 14 ngày làm suy giảm hoạt động tương tác xã hội của chuột nhắt trắng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Chiêm, Cấn Văn Mão, Phạm Minh Đàm và cs. (2012) Nghiên cứu hoạt động vận động, tương tác xã hội trên chuột nhắt được tiêm thuốc tác động

lên hệ glutamatergic. Tạp chí Sinh lý học Việt Nam, 16(2):32–41.

2. Ngô Ngọc Tản (2005) Tâm thần phân liệt. Bệnh học tâm thần, Giáo trình giảng dạy Sau đại học, Học viện Quân Y. NXB Quân đội Nhân dân, tr. 177–214.

3. Becker A, Peter B, Schroeder H, et al. (2003) Ketamine-induced changes in rat behavior: A possible animal model of schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatr.* 27(4):687–700.

4. Crawley JN (2003) Behavioral phenotyping of rodents. *Comp Med.* 53(2):140–146.

5. Gould TD, Dao DT, Kovacsics CE (2009) The open field test. In: Mood and anxiety related phenotypes in mice: characterization using behavioral tests. (ed. Gould TD), pp 1-20. Humana Press, New York, USA.

6. Lee PR, Brady DL, Shapiro RA, et al. (2005) Social interaction deficits caused by chronic phencyclidine administration are reversed by oxytocin. *Neuropsychopharmacol.* 30:1883–1894.

7. Lipska BK, Gogos JA (2011) Animal models of schizophrenia. In: Schizophrenia, 3rd ed. (eds. Weinberger DR, Harrison PJ), pp. 462–482, Wiley-Blackwell, Oxford, UK.

8. Tsapakis EM, Travis MJ (2002) Glutamate and psychiatric disorders. *Adv Psychiatr Treat.* 8:189–197.

9. Qiao H, Noda Y, Kamei H, et al. (2001) Clozapine, but not haloperidol, reverses social behavior deficit in mice during withdrawal from chronic phencyclidine treatment. *Neuroreport.* 12(1):11–15.

SUMMARY**CHRONIC EFFECTS OF KETAMINE ON LOCOMOTOR ACTIVITY AND SOCIAL INTERACTION IN MICE**

Luu Thi Thu Phuong ¹, Can Van Mao², Nguyen Le Chien², Tran Hai Anh²

¹University of Sciences, Vietnam National University, Hanoi

²Vietnam Military Medical University

Ketamin is a non-competitive antagonist with NMDA receptors and it can make out behavior changes. This research is to evaluate the effects of ketamin at different doses on locomotor activity and social interaction in mice. The research was carried out using 105 healthy male mice, aged 7-8 weeks, and they were randomly divided into 7 groups, included 6 ketamin - injected groups at doses of 10, 15, 20, 25, 30, 35 mg/kg/day and a control group injected with saline NaCl 0,9%, for 14 consecutive days. All of mice were observed in special instruments. The results showed that ketamine dosed 10 to 35 mg/kg/day in 14 continuous days did not affect locomotor activity. Whereas ketamine dosed 20 to 35 mg/kg/day impaired social interaction compared with that of the control group.

Key words: ketamine, social interaction, locomotion, mice.