

1. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Đông, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mẫn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn (2006), *Cây thuốc và Động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Tập II, NXB Khoa học và Kỹ thuật, 956-958.
2. Bộ Y tế (2017), *Dược điển Việt Nam V*, NXB Y học, chuyên luận Hồ tiêu, 1196-1197.
3. Pradeep C. R., Kuttan G. (2002), Effect of piperin on the inhibition of lung metastasis induced B16F-10 melanoma cells in mice, *Clinical & Experimental Metastasis*, 19(8), 703-708.
4. Sunila E. S., Kuttan G. (2004), Immunomodulatory and antitumor activity of *Piper longum* Linn. and piperin, *Journal of Ethnopharmacology*, 90(2-3)339-346.
5. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2015), *Piperis Longui fructus*, 351; *Piperis fructus*, 349-350.
6. Ministry of Health and Family Welfare, Government of India, *The Ayurvedic Pharmacopoeia of India, Pippali (Fruit)*, Part I, Vol. IV, 105-106.
7. Khound A., Barua P. C., Saud B., Saikia I. A., Kumar S. (2017), Piperin content variation in different *Piper longum* germplasms of -East India determined through RP-HPLC method, *Journal of Applied and Natural Science*, 9(2), 960-965.
8. Liu H. L., Luo R., Chen X. Q., Ba Y. Y., Zheng L., Guo W. W., Wu X. (2015), Identification and simultaneous quantification of five alkaloids in *Piper longum* L. by HPLC-ESI-MSn and UFLC-ESI-MS/MS and their application to *Piper nigrum* L., *Food Chemistry* 177: 191-196.
9. ICH (2005), Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2(R1), *ICH Harmonized Tripartite guidelines*, 1-13.
10. AOAC International (2013), Appendix K: Guidelines for Dietary Supplements and Botanicals, *PART I: AOAC Guidelines for Single-Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals*.

Tạp chí Dược liệu, tập 28, số 1/2023 (Trang 40 - 45)

TRIỂN KHAI MÔ HÌNH GÂY TÂM THẦN PHÂN LIỆT TRÊN CHUỘT NHẮT TRẮNG VÀ ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG CỦA CAO CHIẾT RAU ĐẮNG BIỂN VÀ BAN DI THỰC

Trần Nguyễn Hồng^{1,*}, Phạm Thị Nguyệt Hằng¹, Nguyễn Lê Chiến²

¹Viện Dược liệu; ²Học viện Quân Y 103

*Email: trannguyenhong91@gmail.com

(Nhận bài ngày 05 tháng 01 năm 2023)

Tóm tắt

Tâm thần phân liệt là bệnh rối loạn tâm thần suy giảm kéo dài ảnh hưởng tới 1% dân số, nguyên nhân gây bệnh và sinh lý bệnh vẫn còn nhiều điều chưa biết. Thụ thể N-methyl-D-aspartat (NMDA), thuộc hệ glutamatergic, phân bố rộng trong não bộ đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển thần kinh, học tập và ghi nhớ, bệnh lý thoái hóa thần kinh và hình thành tế bào thần kinh, được cho là liên quan tới sự hình thành bệnh lý tâm thần phân liệt. Sử dụng ketamin ức chế thụ thể NMDA kéo dài với liều 100 mg/kg trong 10 ngày gây mô hình tâm thần phân liệt trên chuột nhắt trắng với các thay đổi hành vi cơ bản của tâm thần phân liệt như khả năng vận động, chức năng học tập và ghi nhớ. Chuột gây mô hình bằng ketamin sẽ được chia ngẫu nhiên vào các nhóm và được uống mẫu RDB (cao tiêu chuẩn rau đắng biển) (50 & 100 mg/kg, uống) hoặc BDT (cao cộn ban di thực) (250 & 500 mg/kg, uống) hoặc haloperidol (0,5 mg/kg, i.p) trong 2 tuần trước khi tiến hành các thí nghiệm tiếp theo (thử nghiệm không gian mở, thử nghiệm chữ Y và nhận diện đồ vật). Kết quả cho thấy, mô hình tâm thần phân liệt gây bằng ketamin không làm thay đổi hành vi vận động tự nhiên, nhưng làm suy giảm khả năng ghi nhớ ở chuột nhắt. Chuột gây mô hình tâm thần phân liệt điều trị bằng mẫu cao chiết BDT và RDB đều giúp cải thiện chức năng học tập và ghi nhớ. Kết quả cho thấy tiềm năng sử dụng mẫu dược liệu BDT và RDB trong điều trị giảm nhẹ một số các triệu chứng bệnh, tuy nhiên kết quả đạt được mới là bước đầu đánh giá, cần tiến hành thêm các nghiên cứu sâu hơn để làm rõ cơ chế tác dụng.

Từ khóa: Schizophrenia, Ketamin, NMDA, Học tập, Ghi nhớ, Vận động.

Summary

Deploying a Mouse Model of Schizophrenia and Evaluating the Effects of *Bacopa monnieri* (L) Wettst. and *Hypericum perforatum* L. Extracts

Schizophrenia is a chronic debilitating psychic disorder affecting as many as 1% of the world-wide population. Unfortunately, its etiology and pathophysiology are unclearly understanding. The N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors, a family of L-glutamate receptors, play an important role in neuronal development, learning and memory, neurodegenerative diseases, and neurogenesis, largely related to development of schizophrenia disease. Ketamine is an antagonist of NMDA receptor, derived of PCP, used chronically with dose of 100 mg/kg body weight for 10 days induced schizophrenia mouse model expressing the characteristic behaviors included exploratory locomotion ability, learning and memory functions. The ketamine-induced schizophrenia mice were treated with RDB (*Bacopa monnieri* (L) Wettst. extract) (50 & 100 mg/kg, orally) or BDT (*Hypericum perforatum* L. extract) (250 & 500 mg/kg, orally) or haloperidol (0.5 mg/kg, i.p) for 2 weeks. After that, the mice were conducted the following experiments: Open-field test, modified Y-maze, and Object Recognition Test. The data showed that the ketamine-induced schizophrenia model did not influence the locomotion behavior, but impaired learning and memory in mice. The BDT and RDB extracts both improved learning and memory functions. There are the initial results indicating these extracts have potential development of schizophrenia-treatment therapies, but need more further studies to consolidate and manifest the underline mechanism of effect on schizophrenia disorder.

Keywords: Schizophrenia, Ketamine, NMDA, Learning, Memory, Locomotion.

1. Đặt vấn đề

Bệnh tâm thần phân liệt (TTPL) ảnh hưởng tới số đông dân số. Theo báo cáo của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), hiện nay trên thế giới có khoảng 24 triệu người mắc bệnh tâm thần phân liệt, chiếm khoảng 0,3 - 1,5% dân số thế giới. Ở

Việt Nam theo thống kê của một số tác giả, tỷ lệ mắc bệnh tâm thần phân liệt là 0,3 - 0,8% (ước tính đến năm 2010 có khoảng 400.000 bệnh nhân tâm thần phân liệt) và hàng năm tăng thêm 0,1 - 0,15% dân số [1]. Cơ chế bệnh sinh của TTPL rất phức tạp và chưa được làm sáng tỏ. Hai hệ dẫn

truyền thần kinh được cho liên quan tới con đường bệnh sinh của tâm thần phân liệt là hệ dopamin và glutamat cũng là cơ sở để đưa ra 2 giả thuyết cơ bản giải thích nguyên nhân và triệu chứng của bệnh tâm thần phân liệt [1]. Giả thuyết glutamat hình thành dựa trên quan sát ảnh hưởng của chất đối kháng thụ thể NMDAR, như dizocilpin (MK-801), phencyclidin (PCP) và ketamin, gây ra các triệu chứng nhẹ và suy giảm nhận thức ở bệnh nhân tâm thần phân liệt trên lâm sàng [2]. Trên thực nghiệm cũng sử dụng các chất đối kháng thụ thể NMDA, như ketamin, PCP hay MK-801 gây ra các triệu chứng hành vi âm và dương điển hình tương tự như bệnh lý tâm thần phân liệt trên chuột nhắt [3],[4]. Do đó, các chất đối kháng thụ thể NMDA gây mô hình trên động vật thực nghiệm là công cụ hữu ích để nghiên cứu bệnh lý học tâm thần phân liệt.

Rau đắng biển (RDB) có tên khoa học là *Bacopa monnieri* (L) Wettst., thuộc họ Scrophulariaceae. Thành phần hoá học chính thể hiện hoạt tính sinh học là bacosid A (3-(α -L-arabinopyranosyl)-O- β -D-glucopyranosid-10, 20-dihydroxy-16-keto-dammar-24-en), các bacopasaponin và bacopasid I-V. Y học cổ truyền, rau đắng biển sử dụng toàn cây được sử dụng để chữa suy nhược thần kinh, mất trương lực cơ, động kinh, thao cuồng, mất tiếng, khản tiếng, viêm phế quản cấp, ho hen, bí đái, viêm gan, thấp khớp, rần rần và bệnh ngoài da như lở, nhọt độc, ghẻ. Các nghiên cứu trên thể giới chỉ ra nhiều tác dụng dược lý của RDB gồm khả năng học tập, nhận thức trí nhớ [5],[6], tác dụng an thần, giảm lo âu [7], tác dụng chống trầm cảm [7], tác dụng chống động kinh [5].

Ban Âu hay cây cỏ Thánh John (St. John's Wort), hay ban di thực có tên khoa học là *Hypericum perforatum* L. thuộc họ Clusiaceae. Thành phần các chất đã được xác định có trong Ban Âu có thể chia thành 6 nhóm chính bao gồm: (1) naphthodianthron, (2) phloroglucinol, (3) flavonoid, (4) biflavin, (5) phenylpropanoid và (6) proanthocyanidin. Ngoài ra, còn có một lượng nhỏ tannin, xanthon, tinh dầu và acid amin. **Naphthodianthron** là thành phần đặc trưng của chi *Hypericum*. Chúng có màu đỏ tươi và có tính quang động. Hypericin và pseudohypericin là các chất chính thuộc nhóm này đã được phân lập từ Ban Âu. Cây Ban Âu có tác dụng điều trị nhiều bệnh khác nhau, đặc biệt hai thành phần hypericin và hyperforin. Một trong những tác dụng rõ rệt nhất của Ban Âu phải kể đến là tác dụng chống trầm cảm. Cơ chế tác dụng chống trầm cảm của hypericin là do ức chế sự tạo thành cytokin interleukin 6 và 1 β ở bạch cầu đơn nhân, dẫn đến làm giảm giải phóng corticotropin, do đó giảm sự tạo thành cortisol [8]. Những nghiên cứu gần đây cũng đã chỉ ra rằng hyperforin cũng có thể là thành phần có tác dụng chống trầm cảm.

Laakmann và cs. (1998) đã thực hiện nghiên cứu trên 147 bệnh nhân được dùng 2 loại cao chiết khác nhau từ Ban Âu [9].

Hiện nay chưa có phương pháp điều trị dứt điểm bệnh tâm thần phân liệt, việc điều trị chủ yếu sử dụng phối hợp giữa thuốc chống loạn thần và công tác phục hồi chức năng tâm lý xã hội cho người bệnh. Các thuốc chống loạn thần cổ điển (clorpromazin, haloperidol) và thế hệ mới (risperidon, olanzapin, clozapin) nhưng cần điều trị trong thời gian rất lâu dài để đề phòng tái phát và việc ngừng uống thuốc nhất thiết cần phải hỏi ý kiến bác sĩ [1]. Chính vì vậy việc sử dụng các thuốc từ thảo dược góp phần giảm các triệu chứng bệnh lý là hướng đi hiện nay đang được tập trung tới. Mục tiêu của nghiên cứu cũng hướng tới triển khai mô hình nghiên cứu giúp sàng lọc các dược liệu có tiềm năng để phát triển thành các thuốc hỗ trợ điều trị bệnh tâm thần phân liệt.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Nguồn gốc dược liệu

Mẫu rau đắng biển (RDB) được thu hái tại Nghệ An (Việt Nam) và mẫu ban di thực (BDT) được trồng và thu hái tại Trung tâm cây thuốc Hà Nội, Viện Dược liệu (Thanh Trì, Hà Nội).

Hai mẫu Dược liệu RDB và BDT đều được định danh, lưu tiêu bản tại Trung tâm Tài nguyên Dược liệu, Viện Dược liệu, mã số tiêu bản của RDB: NIMM-0011403 và BDT: TB-0009116.

Cao chiết

Mẫu nghiên cứu tác dụng là cao tiêu chuẩn rau đắng biển (RDB) với hàm lượng bacopasid là 13% và cao chiết còn 70% ban di thực (BDT), được chiết tách bởi khoa Hoá Thực vật - Viện Dược liệu.

Động vật thí nghiệm:

Chuột nhắt trắng chủng Swiss albino có trọng lượng 18-20 g, giới đực, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm do viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương cung cấp. Chuột mua về được nuôi 3 ngày trước khi thí nghiệm để chuột thích nghi điều kiện thí nghiệm. Chuột được nuôi trong phòng có nhiệt độ 25°C, chu kỳ sáng tối là 12/12, thức ăn và nước uống được cung cấp không giới hạn.

Hoá chất

Hoá chất ketamin hydroclorid (thuốc tiêm) được cung cấp bởi (Rotexmedica, CHLB Đức) nằm trong danh mục thuốc phải kiểm soát đặc biệt (theo Thông tư số: 20/2017/TT-BYT). Hoá chất Haloperidol hoá chất được cung cấp bởi Sigma (Merck, Mỹ).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Triển khai mô hình và đánh giá tác dụng của một số cao chiết dược liệu trên chuột nhắt trắng gây bệnh tâm thần phân liệt

Gây mô hình bệnh tâm thần phân liệt thực nghiệm trên động vật được tiến hành bằng cách

tiêm phúc mạc ketamin với liều 100 mg/kg cân nặng/ngày trong 10 ngày liên tiếp. Chuột sau khi tiêm ketamin (100 mg/kg) được chia thành các lô sử dụng NaCl 0,9% (i.p), hoặc haloperidol (i.p). Chuột sau khi uống cao RDB hoặc BDT trong 2 tuần, sau đó sẽ tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

• **Bài tập vận động, khám phá trong môi trường mở**

Môi trường mở là một hình hộp, kích thước 40x40 cm, thành cao 100 cm. Một camera gắn trên trần buồng thí nghiệm ghi lại hình ảnh trực tuyến của động vật trong môi trường mở. Chuột được uống mẫu RDB hoặc BDT trước 1 tiếng trước khi tiến hành thí nghiệm. Khi bắt đầu thí nghiệm, chuột được đặt vào trung tâm, tự do vận động và khám phá môi trường mở trong thời gian 10 phút. Thông số đánh giá là thời gian chuột ở trung tâm, số lần chuột đi qua vạch kẻ.

• **Bài tập nhận biết vật thể mới (Object recognition test - ORT) [6]**

Một ngày trước thử nghiệm ORT, từng cá thể chuột được đưa vào một hộp có kích thước (40x40x50 cm) trong 10 phút để làm quen. Ngày thử nghiệm ORT, chuột được uống mẫu RDB hoặc BDT trước 1 tiếng trước khi tiến hành thí nghiệm, sau đó chuột tham gia 2 pha: pha học tập (sample-trial) và pha kiểm tra (test-trial). Ở pha học tập, chuột được đặt vào bên trong hộp có chứa 2 vật thể giống hệt nhau trong 5 phút. Sau pha học tập 30 phút, chuột tham gia pha kiểm tra với một trong 2 vật thể được thay bằng vật thể mới, đánh giá trong 5 phút. Thông số đánh giá là thời gian chuột khám phá vật thể trong từng pha.

• **Bài tập mê lộ chữ Y (modified Y-maze test)**

Mê lộ có 3 cánh, mỗi cánh dài kích thước giống nhau được bố trí theo hình chữ Y. Chuột được uống mẫu RDB hoặc BDT trước 1 tiếng trước khi tiến hành thí nghiệm. Thử nghiệm mê lộ chữ Y gồm có 2 pha: pha học tập và pha kiểm tra. Ở pha học tập, một trong 3 cánh của mê lộ bị ngăn lại, chuột được tự do khám phá 2 cánh còn lại trong 5 phút. Sau giai đoạn mẫu 30 phút, chuột tham gia pha kiểm tra với ba cánh mở tự do, đánh giá trong 5 phút. Thông số đánh giá là tỷ lệ thời gian chuột khám phá cánh mới so với hai cánh còn lại.

Phương pháp xử lý số liệu

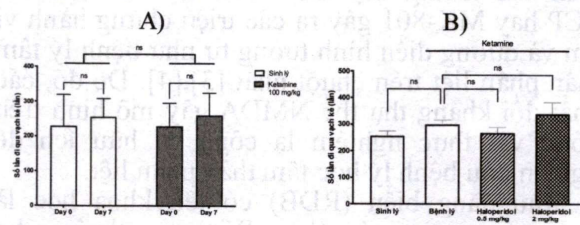
Tất cả hành vi của chuột được ghi lại và phân tích bằng phần mềm ANY-maze (Stoelting, Mỹ). Số liệu được biểu diễn dưới dạng Mean $\pm$ SEM. Phân tích thống kê sử dụng phương pháp so sánh phương sai một chiều One-way ANOVA và hậu kiểm Dunnett's test, đánh giá sự ảnh hưởng tương quan của yếu tố sử dụng phương pháp so sánh phương sai hai chiều Two-way ANOVA. Phần mềm sử dụng để xử lý số liệu là SPSS v24, mức ý nghĩa là 0,05.

3. Kết quả

3.1. Triển khai mô hình gây tâm thần phân liệt trên chuột nhắt trắng

• **Trên thử nghiệm không gian mở**

Kết quả trên thông số về **tổng số lần chuột qua vạch kẻ** (Hình A và B, không thấy có sự khác biệt giữa ngày 0 và ngày 7 của lô sinh lý ($p = 0,861$) và của lô bệnh lý ($p = 0,679$). Kết quả giữa hai lô ở ngày 0 ($p = 0,997$) và ngày 7 ($p = 0,870$) cũng không thấy có sự khác biệt, cũng như không có sự ảnh hưởng của thời gian trong gây mô hình tâm thần phân liệt ($F(1, 33) = 0,010$; $p = 0,920$) không thấy có sự tương quan ảnh hưởng lẫn nhau

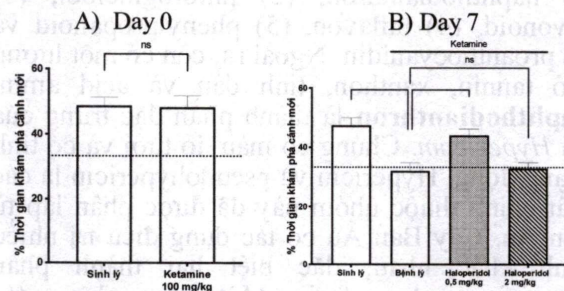


Hình 1. Kết quả đánh giá hành vi trên thử nghiệm OFT (Open-field test) gây mô hình bằng ketamine.

Kết quả đánh giá trên thông số số lần qua vạch kẻ (Hình A) ở thời điểm ngay sau khi gây mô hình (Day 0) và 7 ngày sau khi gây mô hình (Day 7). Kết quả sau 7 ngày điều trị bằng haloperidol (liều 0,5 và 2 mg/kg) trên thông số là số lần đi qua vạch (Hình B). (ns: $p > 0,05$ khi so sánh với nhóm chứng bệnh lý gây mô hình TTPL).

• **Trên thử nghiệm mê lộ chữ Y cải tiến (modified Y-maze)**

Kết quả 7 ngày sau khi gây mô hình (Hình B), có sự thay đổi hành vi trong các lô trên thử nghiệm đánh giá ($F(3, 23) = 10,21$; $p < 0,001$). Nhóm gây mô hình có thời gian khám phá cánh mới giảm hơn so với nhóm chứng sinh lý ($p < 0,001$); trong khi nhóm điều trị bằng thuốc haloperidol với liều thấp 0,5 mg/kg thể hiện cải thiện hành vi trí nhớ ($p = 0,005$), còn điều trị với haloperidol với liều cao 2 mg/kg lại không có tác dụng ($p = 0,988$).



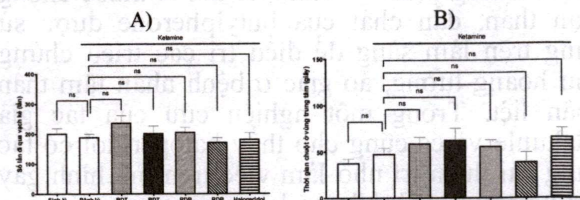
Hình 2. Kết quả đánh giá hành vi trên thử nghiệm mê lộ chữ Y cải tiến (modified Y-maze) gây mô hình bằng ketamin

Kết quả đánh giá trên thông số phần trăm thời gian chuột khám phá cánh mới ở thời điểm kết thúc gây mô hình (Hình A) và kết quả sau 7 ngày điều trị bằng haloperidol (liều 0,5 và 2 mg/kg) trên thông số tỷ lệ thời gian khám phá cánh mới ($*p < 0,05$; $**p < 0,01$ khi so sánh với nhóm chứng bệnh lý gây mô hình TTPL).

3.2. *Đánh giá tác dụng của hai mẫu cao chiết ban di thực (BDT), rau đắng biển (RDB) trên mô hình gây tâm thần phân liệt trên chuột nhắt trắng*

• *Thử nghiệm không gian mở (OFT - Open-field test)*

Kết quả đánh giá số lần vận động qua vạch kẻ (F (6, 42) = 1,261, $p = 0,296$) và thời gian chuột ở vùng trung tâm giữa các lô (F (6, 42) = 1.793, $p = 0,124$) đều không cho thấy sự khác biệt so với lô chứng bệnh lý.

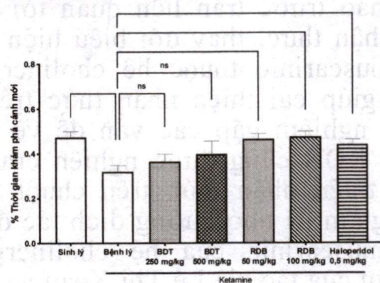


Hình 3. Đánh giá tác dụng của mẫu BDT và RDB trên mô hình không gian mở (OFT-Open field test)

Kết quả đánh giá trên thông số về số lần chuột đi qua vạch kẻ (Hình A) và thời gian chuột ở vùng trung tâm (Hình B). (ns: $p > 0,05$ khi so sánh với nhóm chứng gây mô hình TTPL).

• *Thử nghiệm mê lộ chữ Y (modified Y-maze)*

Kết quả cho thấy lô được điều trị bằng cao chiết BDT (liều 250 và 500 mg/kg) không thể hiện tác dụng cải thiện trí nhớ trên mô hình tâm thần phân liệt gây bằng ketamin ($p > 0,05$), trong khi lô điều trị bằng mẫu cao chiết RDB (liều 50 và 100 mg/kg) thể hiện tác dụng cải thiện trí nhớ ($p = 0,016$ & $0,006$) so với nhóm chứng gây mô hình tâm thần phân liệt (Hình 4).



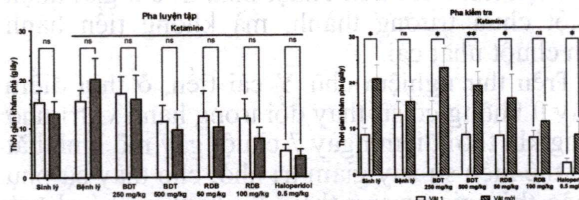
Hình 4. Đánh giá tác dụng của mẫu BDT và RDB trên thử nghiệm Y-maze

Chuột gây mô hình TTPL được điều trị với các mẫu BDT (liều 250 và 500 mg/kg), hoặc RDB (liều 50 và 100 mg/kg), chứng haloperidol (0,5 mg/kg, i.p) (N=6-7. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, ns: $p > 0,05$ so với nhóm chứng gây mô hình TTPL).

• *Thử nghiệm nhận diện đồ vật (ORT - Object Recognition Task)*

Trong pha luyện tập, thời gian khám phá giữa vật 1 và 2 ở tất cả các lô thí nghiệm đều không cho thấy sự khác biệt ($p > 0,05$). Trong pha kiểm tra, có sự khác biệt thời gian khám phá giữa vật 1 (vật thể tương tự pha luyện tập) và vật thể mới (vật khác biệt so với vật thể ở pha luyện tập) giữa lô sinh lý ($p = 0,011$), lô BDT liều 250 & 500

mg/kg ($p = 0,047$ & $0,003$), lô RDB 50 mg/kg ($p = 0,041$) và lô sử dụng thuốc chứng haloperidol liều 0,5 mg/kg ($p = 0,048$) với lô chứng bệnh lý (Hình 5).



Hình 5. Đánh giá tác dụng của mẫu BDT và RDB trên thử nghiệm ORT

Chuột gây mô hình TTPL được điều trị với các mẫu BDT (liều 250 và 500 mg/kg), hoặc RDB (liều 50 và 100 mg/kg), chứng Haloperidol (0,5 mg/kg, i.p) (N=6-7) đánh giá thử nghiệm nhận diện đồ vật ORT. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ so với nhóm chứng gây mô hình TTPL.

4. Bàn luận

4.1. Triển khai mô hình gây tâm thần phân liệt bằng ketamin

Mô hình được lý sử dụng các chất ức chế thụ thể NMDA như PCP, MK-801 và ketamin được sử dụng để nghiên cứu giả thuyết về con đường bệnh sinh liên quan tới bệnh tâm thần phân liệt. Mô hình gây ra các thay đổi hành vi đặc trưng tương tự mô phỏng các triệu chứng “âm”, “dương” và vấn đề nhận thức ở bệnh tâm thần phân liệt. Nhiều nghiên cứu của các tác giả khác nhau sử dụng ketamin để gây mô hình tâm thần phân liệt sử dụng liều rất đa dạng và nhiều nhóm chuột khác nhau. Một số nghiên cứu sử dụng ketamin với liều lặp lại 50 hoặc 100 mg/kg làm tăng thời gian bất động của chuột trong thử nghiệm bơi cưỡng bức [4],[10], trong khi một số nghiên cứu khác với liều 10 hoặc 30 mg/kg kéo dài thời gian bất động [11],[12]. Sự nhạy của ketamin cũng sự khác nhau giữa các giới với liều, thời gian nghiên cứu [10],[11],[12]. Chính sự đa dạng trong ảnh hưởng của ketamin mà mô hình tâm thần phân liệt gây bằng ketamin là công cụ nghiên cứu các khía cạnh khác nhau trong triệu chứng của tâm thần phân liệt cũng như con đường bệnh sinh.

Trên thử nghiệm không gian mở, kết quả cho thấy chuột được gây mô hình bằng ketamin lặp lại liều cao (100 mg/kg) không làm thay đổi hành vi vận động tự nhiên, cũng như căng thẳng ở chuột nhắt. Trong các nghiên cứu sử dụng ketamin gây mô hình tâm thần phân liệt, mô phỏng hành vi “dương tính” đặc trưng của bệnh tâm thần phân liệt cho thấy có sự thay đổi hành vi vận động phụ thuộc vào liều ketamin [3],[4]. Một điều đáng chú ý là sự ảnh hưởng của ketamin lên hành vi vận động đối với chuột cái cao hơn so với ảnh hưởng trên chuột đực và tăng vận động mạnh ở thời điểm ban đầu, giảm dần theo thời

gian đến khi về mức tương đương nhóm đối chứng [13], và ảnh hưởng đối với chuột ở giai đoạn niên thiếu nhưng không ảnh hưởng ở giai đoạn trưởng thành [14]. Trong nghiên cứu này chỉ chọn khảo sát trên chuột nhắt đực ở giai đoạn chuột chưa trưởng thành, mà không tiến hành trên chuột nhắt cái.

Trên thử nghiệm chữ Y cải tiến, ở thời điểm ngày 0 không có sự thay đổi trong hành vi trí nhớ trong khi thời điểm ngày 7 chuột gây mô hình bắt đầu thể hiện sự suy giảm trí nhớ, cho thấy sự phụ thuộc thời gian trong thay đổi hành vi trí nhớ ở mô hình tâm thần phân liệt gây bằng ketamin. Trong nghiên cứu của tác giả Hou và cs, cũng đã chỉ ra gây mô hình tâm thần phân liệt bằng ketamin phụ thuộc vào thời gian, liều gây cũng như mô hình đánh giá [4], việc sử dụng lặp lại ketamin và đánh giá sau 7 ngày sẽ phù hợp với gây mô hình và đánh giá tác thay đổi trên hành vi. Về cơ chế ảnh hưởng của haloperidol có các tác động khác nhau tới hành vi trí nhớ trên các thử nghiệm đánh giá, haloperidol làm giảm quá trình củng cố và khả năng học tập trên thử nghiệm mê lộ nước (Morris water maze), không có tác dụng cải thiện trí nhớ trên mô hình gây suy giảm nhận thức bằng MK-801 [15], hoặc cũng có thể tăng cường khả năng học tập khi kết hợp với hình phạt (gây shock bằng điện) hoặc phân thưởng (có thêm thức ăn) [16].

4.2. Đánh giá tác dụng của hai mẫu dược liệu

• Đánh giá vận động tự nhiên

Dựa trên các liều nghiên cứu có tác dụng của RDB và BDT trước đây trên các mô hình đánh giá hành vi, kết hợp với định lượng hàm lượng hoạt chất trong cao và khảo sát trước khi tiến hành nghiên cứu trên mô hình, đã xác định liều đánh giá trên mẫu RDB là 50 và 100 mg/kg, BDT là 250 và 500 mg/kg. Thử nghiệm trên thử nghiệm không gian mở (OFT) mẫu đánh giá gồm BDT (250 & 500 mg/kg) và RDB (50 & 100 mg/kg) đều không làm thay đổi hành vi vận động tự nhiên trên chuột được gây mô hình bằng ketamin và lô chuột sinh lý. Ketamin vẫn được sử dụng là một thuốc an thần, và sử dụng lặp lại kéo dài vẫn để lại các trạng thái tương tự như tâm thần phân liệt trên động vật thí nghiệm [10],[17], chính vì vậy không loại trừ được khả năng ketamin vẫn mô phỏng biểu hiện bệnh tâm thần phân liệt trên chuột nhắt khi hành vi vận động tự nhiên không thay đổi. Bên cạnh đó, hệ điều hoà hành vi vận động tự nhiên được cho là khá phức tạp liên quan tới sự điều hoà ngoài hệ dopaminergic và các hạch cơ sở [18], còn có hệ serotonergic [19] và noradrenergic [20], vì vậy có thể có sự hỗ trợ điều hoà lẫn nhau thông qua mạng lưới thần kinh giúp ổn định hành vi.

• Đánh giá khả năng ghi nhớ

Thử nghiệm mê lộ chữ Y cải tiến (modified Y-maze) là một trong những thử nghiệm được sử

dụng rộng rãi để đánh giá hành vi liên quan tới trí nhớ làm việc liên kết với không gian. Nhóm chuột được điều trị với cao chiết BDT không cải thiện khả năng ghi nhớ không gian, trong khi lô điều trị bằng mẫu cao chiết RDB (liều 50 và 100 mg/kg) thể hiện tác dụng cải thiện trí nhớ, thời gian khám phá cánh mới tăng gấp gần 1,5 lần so với lô bệnh lý. Nhóm sử dụng thuốc đối chứng dương haloperidol (liều 0,5 mg/kg, i.p) ($p = 0,045$) cũng cải thiện trí nhớ không gian so với nhóm chứng bệnh lý. Haloperidol là thuốc chống loạn thần, dẫn chất của butylpheron được sử dụng trên lâm sàng để điều trị các triệu chứng như hoang tưởng, ảo giác ở bệnh nhân tâm thần phân liệt. Trong một nghiên cứu của tác giả Olakunle và cs cũng cho thấy haloperidol có tác dụng cải thiện trí nhớ làm việc trên mô hình gây bởi ketamin [17]. Nhưng kết quả nghiên cứu của tác giả Xu cùng cs lại cho thấy haloperidol làm giảm hành vi khám phá trên thử nghiệm đánh giá trí nhớ không gian ở chuột nhắt phụ thuộc vào liều sử dụng [21].

Thử nghiệm nhận diện đồ vật (ORT) lại được sử dụng phổ biến để nghiên cứu các cơ chế thần kinh nằm trong sự hình thành trí nhớ ngắn hạn kết hợp với trí nhớ nhận diện hình ảnh. Trên thử nghiệm ORT, cao chiết BDT ở cả hai mức liều 250 mg/kg ($p=0,047$) và 500 mg/kg ($p=0,003$), cao chiết RDB liều 50 mg/kg ($p=0,041$) đều thể hiện tác dụng cải thiện các triệu chứng suy giảm khả năng ghi nhớ. Các nghiên cứu trước cũng chỉ ra mối liên hệ mật thiết của vùng vỏ não thuộc mũi, đồi hải mã và vùng vỏ não trước trán liên quan tới hành vi ghi nhớ nhận thức, thay đổi biểu hiện của thụ thể muscarinic thuộc hệ cholinergic làm thay đổi, giúp cải thiện nhận thức trên chuột nhắt thực nghiệm gặp các vấn đề về trí nhớ. Cao chiết RDB cũng được nghiên cứu có tác dụng cải thiện nhận thức trên chuột gây mô hình suy giảm trí nhớ hướng đích tác động lên thụ thể muscarinic của hệ cholinergic [6]. Nghiên cứu của tác giả Lê Thị Xoan và cs. năm 2015 đã đánh giá tác dụng của RDB trong cải thiện suy giảm trí nhớ trên mô hình T2VO. Hoạt chất bacopasid I trong RDB có tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh ở hồi hải mã thông qua con đường tín hiệu protein kinase C và con đường tín hiệu phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K)/Akt [22]. Nghiên cứu của tác giả Phạm Thị Nguyệt Hằng và cs. sử dụng mô hình gây độc tế bào thần kinh chuột bằng trimethyltin đã cho thấy RDB có tác dụng cải thiện trí nhớ của chuột thông qua cơ chế chính là bảo vệ tế bào thần kinh và thúc đẩy sự hình thành tế bào thần kinh mới ở hồi hải mã [23]. Một nghiên cứu khác của tác giả Clos và cs. đánh giá tác động của hệ Dopaminergic ảnh hưởng khác nhau lên khả năng ghi nhớ [24]. Kết quả cũng chỉ rõ ra hệ

Dopaminergic, chủ yếu liên quan tới thụ thể D2, ảnh hưởng tới trực tiếp hồi hải mã-não giữa đóng vai trò điều hoà trong trí nhớ phân đoạn (episodic memory - liên quan tới thời gian, không gian, biểu cảm và ngoại cảnh), ngược lại làm bất lợi tới các trí nhớ tổng hợp nhận thức thuộc tầng vỏ não trước trán [24]. Bên cạnh đó, hypericin thành phần chính có trong BDT cũng có thể ức chế tái thu hồi serotonin, norepinephrin và dopamin dẫn đến giảm mức độ biểu hiện của beta adrenoreceptor và tăng mức độ biểu hiện của thụ thể serotonin 5-HT2A và 5-HT1A [25]. Điều đó cũng gợi ý về đích tác dụng của BDT với tác dụng cải thiện trí nhớ. Tuy nhiên để làm rõ cơ chế cần nghiên cứu cụ thể và sâu hơn về cơ chế tác động trên các đích cụ thể ở mô hình TTPL trên chuột nhắt.

5. Kết luận

Với kết quả thu được nhóm nghiên cứu đã tiến hành xây dựng mô hình tâm thần phân liệt thành công bằng tiêm phúc mạc liều lặp lại ketamin (100 mg/kg) trong thời gian 10 ngày, không làm thay đổi vận động tự nhiên nhưng làm thay đổi về hành vi liên quan tới trí nhớ. Kết quả đánh giá tác dụng của mẫu ban di thực (BDT) với cả liều 250 và 500 mg/kg chỉ có tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ trên thử nghiệm ORT, còn cao tiêu chuẩn rau đắng biển (RDB) liều 50 mg/kg thể hiện tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ trên cả thử nghiệm mê lộ chữ Y và ORT. Với kết quả này cho thấy hai cao chiết có tiềm năng trong phát triển các liệu pháp điều trị mới cho bệnh lý tâm thần phân liệt, tuy nhiên vẫn cần nghiên cứu sâu thêm để xác định đích tác dụng cụ thể của hai mẫu cao này.

Tài liệu tham khảo

1. Bùi Quang Huy (2022), Tâm thần phân liệt nguyên nhân, chẩn đoán và điều trị. Vol. 1. NXB Y học.
2. Stone J. M., Erlandsson K., Arstad E., Squassante L., Teneggi V., Bressan R. A., Krystal J. H., Ell P. J., Pilowsky L. S. (2008), Relationship between ketamine-induced psychotic symptoms and NMDA receptor occupancy: a [(123)I]CNS-1261 SPET study. *Psychopharmacology (Berl)*, 197(3), 401-8.
3. Chatterjee M., Ganguly S., Srivastava M., Palit G. (2011), Effect of 'chronic' versus 'acute' ketamine administration and its 'withdrawal' effect on behavioural alterations in mice: implications for experimental psychosis. *Behav Brain Res*, 216(1), 247-54.
4. Hou, Y., Zhang, H., Xie, G., Cao, X., Zhao, Y., Liu, Y., Mao, Z., Yang, J., Wu, C. (2013), Neuronal injury, but not microglia activation, is associated with ketamine-induced experimental schizophrenic model in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 45 107-16.
5. Jash R., Chowdary K.A. (2014), Ethanolic extracts of *Alstonia scholaris* and *Bacopa monnieri* possess neuroleptic activity due to anti-dopaminergic effect. *Pharmacognosy Res*, 6(1), 46-51.
6. Le X. T., Pham H. T., Do P. T., Fujiwara H., Tanaka K., Li F., Van Nguyen T., Nguyen K. M., Matsumoto K. (2013), *Bacopa monnieri* ameliorates memory deficits in olfactory bulbectomized mice: possible involvement of glutamatergic and cholinergic systems. *Neurochem Res*, 38(10) 2201-15.
7. Zhou Y., Shen Y. H., Zhang C., Su J., Liu R. H., Zhang W. D. (2007), Triterpene saponins from *Bacopa monnieri* and their antidepressant effects in two mice models. *Journal of Natural Products*, 70(4) 652-5.
8. Thiele B., Brink I., Ploch M. (1994), Modulation of cytokine expression by hypericum extract. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 7 Suppl 1, S60-2.
9. Laakmann G., Schüle C., Baghai T., Kieser M. (1998), St. John's wort in mild to moderate depression: the relevance of hyperforin for the clinical efficacy. *Pharmacopsychiatry*, 31 Suppl 1, 54-9.
10. Chindo B. A., Adzu, B., Yahaya T. A., Gamaniel K. S. (2012), Ketamine-enhanced immobility in forced swim test: a possible animal model for the negative symptoms of schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 38(2), 310-6.
11. Garcia L. S., Comim C. M., Valvassori S. S., Réus G. Z., Andreazza A. C., Stertz L., Fries G. R., Gavioli E. C., Kapczinski F., Quevedo J. (2008), Chronic administration of ketamine elicits antidepressant-like effects in rats without affecting hippocampal brain-derived neurotrophic factor protein levels. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 103(6) 502-6.
12. Krimmel S. R., Zanos P., Georgiou P., Colloca L., Gould T. D. (2020), Classical conditioning of antidepressant placebo effects in mice. *Psychopharmacology (Berl)*, 237(1), 93-102.
13. McDougall S. A., Moran A. E., Baum T. J., Apodaca M. G., Real V. (2017), Effects of ketamine on the unconditioned and conditioned locomotor activity of preadolescent and adolescent rats: impact of age, sex, and drug dose. *Psychopharmacology (Berl)*, 234(18), 2683-2696.
14. Parise E. M., Alcantara L. F., Warren B. L., Wright K. N., Hadad R., Sial O. K., Kroeck K. G., Iñiguez S. D., Bolaños-Guzmán C. A. (2013), Repeated ketamine exposure induces an enduring resilient phenotype in adolescent and adult rats. *Biological Psychiatry*, 74(10), 750-759.
15. Song J. C., Seo M. K., Park S. W., Lee J. G., Kim Y. H. (2016), Differential effects of olanzapine and haloperidol on MK-801-induced memory impairment in mice. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience*, 14(3), 279-285.
16. Marwari S., Dawe G. S. (2019), Effects of haloperidol on cognitive function and behavioural flexibility in the IntelliCage social home cage environment. *Behav Brain Res*, 371, 111976.
17. Onaolapo O. J., Ademakinwa O. Q., Olalekan T. O., Onaolapo A. Y. (2017), Ketamine-induced behavioural and brain oxidative changes in mice: an assessment of possible beneficial effects of zinc as mono- or adjunct therapy. *Psychopharmacology (Berl)*, 234(18), 2707-2725.
18. Ryczko D., Dubuc R. (2017), Dopamine and the brainstem locomotor networks: From lamprey to human. *Frontiers in Neuroscience*, 11, 295.
19. Flaive A., Fougère M., van der Zouwen C. I., Ryczko D. (2020), Serotonergic modulation of locomotor activity from basal vertebrates to mammals. *Frontiers in Neural Circuits*, 14, 590299.
20. Mitchell H. A., Ahern T. H., Liles L. C., Javors M. A., Weinshenker D. (2006), The effects of norepinephrine transporter inactivation on locomotor activity in mice. *Biological Psychiatry*, 60(10), 1046-52.
21. Xu H., Yang H. J., Rose G. M. (2012), Chronic haloperidol-induced spatial memory deficits accompany the upregulation of D(1) and D(2) receptors in the caudate putamen of C57BL/6 mouse. *Life Sciences*, 91(9-10), 322-8.
22. Le X. T., Pham H. T. N., Van Nguyen T., Nguyen K. M., Tanaka K., Fujiwara H., Matsumoto K. (2015), Protective effects of *Bacopa monnieri* on ischemia-induced cognitive deficits in mice: the possible contribution of bacopaside I and underlying mechanism. *Journal of Ethnopharmacology*, 164, 37-45.
23. Pham H. T. N., Phan S. V., Tran H. N., Phi X. T., Le X. T., Nguyen K. M., Fujiwara H., Yoneyama M., Ogita K., Yamaguchi T. (2019), *Bacopa monnieri* (L.) Ameliorates cognitive deficits caused in a trimethyltin-induced neurotoxicity model mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 42(8), 1384-1393.
24. Clos M., Bunzeck N., Sommer T. (2019), Dopamine is a double-edged sword: dopaminergic modulation enhances memory retrieval performance but impairs metacognition. *Neuropsychopharmacology*, 44(3), 555-563.
25. Teufel-Mayer R., Gleitz J. (1997), Effects of long-term administration of hypericum extracts on the affinity and density of the central serotonergic 5-HT1 A and 5-HT2 A receptors. *Pharmacopsychiatry*, 30 Suppl 2, 113-6.