

SỰ GIAO TIẾP CHÉO GIỮA NICOTINE VÀ PACAP TRONG ĐIỀU HÒA TÍNH THèm ẮN Ở VÙNG DƯỚI ĐỒI CỦA CHUỘT NHẮT

Nguyễn Thành Trung^{1*}, Yuki Kambe², Trần Thị Ánh¹, Nguyễn Mạnh Tường¹

¹Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²Trường Đại học Kagoshima, Nhật Bản

*Tác giả liên hệ: nguyenthanhtrung@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 31.10.2022

Ngày chấp nhận đăng: 27.01.2023

TÓM TẮT

Nicotine là một trong những nguyên nhân gây giảm tính thèm ăn. Nhiều báo cáo đã chỉ ra các cơ chế sinh học thần kinh cơ bản của tác động chán ăn của việc hút thuốc lá thông qua các thụ thể nicotine ở não bộ. Tuy nhiên, nicotine có thể hoạt động thông qua một con đường bổ sung do polypeptide kích hoạt cyclase adenylate tuyến yên (PACAP) điều chỉnh trong não bộ hay không vẫn chưa được xác định. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng kết hợp các nghiên cứu được lý như biểu hiện quá mức có chọn lọc của PACAP, knock-down gen PACAP ở vùng giữa bụng dưới đồi (VMH) và đánh giá thức ăn thu nhận ở chuột nhắt. Kết quả cho thấy, liều lượng nicotine phụ thuộc nồng độ làm giảm lượng thức ăn thu nhận ở những con chuột được điều trị hàng ngày trong 5 ngày liên tiếp. Ngoài ra, với tác dụng ức chế cho ăn ở chuột nhắt trắng bị knock-out gen PACAP được quan sát rõ rệt hơn. Hơn nữa, sự biểu hiện quá mức của PACAP trong vùng VMH làm tăng sự biểu hiện của $\alpha 4$ của nicotine. Cùng với đó, sự knock-down gen PACAP trong VMH làm giảm sự biểu hiện của $\alpha 4$. Tóm lại, sự biểu hiện của nicotine thụ thể $\alpha 4$ ở vùng dưới đồi có thể được điều chỉnh bởi gen PACAP trong VMH.

Từ khóa: Nicotine, thức ăn thu nhận, trọng lượng, PACAP, chuột nhắt.

The Crosstalk Between nicotine and PACAP in the Appetite Regulation in the Mouse Hypothalamus

ABSTRACT

Nicotine is one of the causes of suppressed appetite. Many reports have shown the underlying neurobiological mechanisms of the anorexia effects of cigarette smoking through nicotine receptors in the brain. However, whether nicotine may act through an additional pathway regulated by polypeptide pituitary adenylate cyclase (PACAP) in the brain is yet to be determined. To address these issues, we used pharmacological combination such as overexpression, knockdown PACAP gene in VMH and feeding in this study. At first, we found that dose-dependent nicotine decreased the food intake in mice treated daily for 5 days. In addition, more pronounced effects of inhibition feeding were observed in PACAP knockout mice. Furthermore, overexpression of PACAP in the VMH increased the expression while knockdown of PACAP in the VMH decreased the expression of $\alpha 4$ of Nicotine. Taken together, these results suggested that the expression of $\alpha 4$ receptor of Nicotine in the hypothalamus might be regulated by PACAP in the VMH.

Keywords: Nicotine, food intake, body weight, PACAP, mouse.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nicotine ảnh hưởng đến nhiều khía cạnh của hành vi bao gồm vận động, nhận thức, lo lắng, học tập và trí nhớ, cũng như các hành vi liên quan đến lạm dụng ma túy (Decker & cs.,

1995). Một số nghiên cứu cũng chỉ ra mối liên hệ tích cực và tiêu cực của việc hút thuốc với các bệnh tâm thần và thần kinh. Tỷ lệ hút thuốc cao hơn nhiều ở người tâm thần phân liệt (lên đến 90%) (Nisell & cs., 1995), bệnh nhân trầm cảm (lên đến 65%) (Breslau, 1995) và người

nghiện rượu (lên đến 90%) (Burling & Ziff, 1988) so với dân số chung. Hơn nữa, với sự đa dạng của các hiệu ứng hành vi do nicotine làm trung gian ví dụ như tăng cân sau khi bỏ thuốc (Hughes & cs., 1994), có vẻ như những tác động này được điều chỉnh thông qua việc kích hoạt có chọn lọc các loại thụ thể nicotine khác nhau.

Các nghiên cứu chỉ ra rằng việc cai thuốc lá làm tăng lượng tiêu thụ thức ăn và tăng trọng lượng cơ thể (Grunberg, 1982), trong khi cân nặng của những người hút thuốc thường ít hơn những người không hút thuốc (Perkins & cs., 1992). Sự gia tăng trọng lượng cơ thể được coi là một trở ngại cho việc cai thuốc lá dứt điểm. Các thí nghiệm trên chuột cái đã chỉ ra rằng việc sử dụng nicotine làm giảm lượng thức ăn và trọng lượng cơ thể, trong khi việc cai nghiện lại gây ra điều ngược lại (Levin & cs., 1987). Hầu hết các nghiên cứu điều tra tác động của nicotine thường báo cáo kết quả thu được từ các thí nghiệm được tiến hành trong thời gian tiếp xúc với nicotine hoặc chỉ trong thời gian ngắn sau khi ngừng sử dụng nicotine. Ngoài ra, các nghiên cứu được công bố về mối quan hệ giữa nicotine và lượng thức ăn nói chung là có giới hạn thời gian (Jang & cs., 2002).

Cùng với đó, polypeptide kích hoạt cyclase adenylate tuyến yên (PACAP) là một polypeptit thần kinh đa chức năng có liên quan đến nhiều chức năng sinh lý khác nhau, bao gồm sinh nhiệt, hoạt động vận động, huy động dự trữ năng lượng và liên quan cảm giác thèm ăn (Rudecki & Gray, 2016). Một nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rõ ràng rằng thao tác biểu hiện gen PACAP dẫn đến thay đổi hành vi cho ăn ở chuột (Nguyen & cs., 2020). Đáng chú ý, cách tiếp cận dựa trên kỹ thuật sinh học phân tử (phản ứng realtime PCR) với các cặp mồi đặc hiệu có khả năng định lượng nhanh, chính xác sự biểu hiện gen mRNA các thụ thể liên quan của nicotine. Hiện nay, các thụ thể nicotine (nAChRs) có thể được chia thành hai loại chính: thụ thể tế bào thần kinh và cơ. Các nAChR của cơ và tế bào thần kinh là các kênh cation xuyên màng pentameric thuộc về siêu họ của các kênh ion phối tử bao gồm các thụ thể GABA, 5-HT và glycine, nhưng sự bổ sung khác nhau của các tiểu đơn vị làm cho các nAChR của cơ và tế bào

thần kinh đáp ứng với các hợp chất khác nhau. Các nAChR của cơ bao gồm các tiểu đơn vị $\alpha 1$, $\beta 1$, γ , δ và ϵ trong khi các nAChR của tế bào thần kinh bao gồm $\alpha 2-10$ và $\beta 2-4$ (Brunzell & cs., 2015).

Từ đó đặt ra yêu cầu về việc xác định cơ chế của nicotine bằng các kỹ thuật phòng thí nghiệm nhanh và chính xác là vô cùng cấp thiết. Ngoài ra, cơ chế của nicotine thông qua các thụ thể hay PACAP ảnh hưởng đến tính thèm ăn vẫn chưa được nghiên cứu đầy đủ. Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm làm rõ vai trò và cơ chế ảnh hưởng của nicotine trong hành vi thèm ăn ở chuột nhắt trắng.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Đối tượng: chuột nhắt trắng bình thường và chuột bị knock-out gen PACAP được điều trị với nicotine nuôi tại Bộ môn Nội - Chẩn - Dược lý, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

Hóa chất dùng gây phụ thuộc vào nicotine: nicotine hydro tartrat (Sigma-Aldrich, Milan, Ý) 1 mg/kg hoặc 3 mg/kg.

Hóa chất dùng cho thiết kế AAV vector: AAVPro Helper Free System (Takara Bio, Shiga, Nhật Bản), polyethyleneimine 1 mg/ml (Polyscience, Eppelheim, Đức), benzonase (Merck Millipore, Darmstadt, Đức, Opti-prep (Abbott Diagnostics Technologies, AS, Oslo, Na Uy) và Vivaspin 20 (Sartorius, Tokyo, Nhật Bản).

Thuốc gây mê dùng cho tiêm não chuột gồm: medetomidine (Domitor Nippon Zenyaku Kogyo Co., Ltd., Tokyo, Japan), 4,0 mg/kg midazolam (Dormicum®, Astellas Pharma Inc., Tokyo, Nhật Bản) và 5,0 mg/kg butorphanol (Vetorphale®, Meiji Seika Kaisha, Ltd., Tokyo, Nhật Bản).

Hóa chất dùng tách và tinh sạch ARN tổng số gồm: dung dịch ly giải mẫu có chứa 27% sucrose, 15mM trisodium citrate, 0,15M NaCl, 1mM ethylene diaminetetraacetic acid, 1% sodium dodecyl sulphate, 200 μ g/ml proteinase K; phenol-chloroform-isoamyl alcohol (25:24:1); isopropyl; cồn 70%; dung dịch đệm TE (pH 8).

Sinh phẩm, hóa chất dùng cho phản ứng qPCR: HighCapacity cDNA RT kit (Applied Biosystems, Foster City, CA); Bộ kit Thunderbird SYBR qPCR kit (Toyobo Life Science, Osaka, Nhật Bản); Cặp mồi đánh giá định lượng mức độ biểu hiện mRNA của các thụ thể của nicotine được thực hiện theo các công bố trước đây và trình tự mồi đặc hiệu được trình bày ở bảng 1.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Lấy mẫu

Để gây ra sự phụ thuộc vào nicotine, những con chuột nhắt bình thường được tiêm nước muối (đối chứng) hoặc muối nicotin hydro tartrat với các liều lượng 1 mg/kg hoặc 3 mg/kg tương ứng, hai lần tiêm mỗi ngày, cách nhau 8 giờ, bắt đầu lúc 08:00 giờ trong 5 ngày. Sau đó, lượng thức ăn thu nhận của chuột mỗi ngày được đo để đánh giá ảnh hưởng của nicotine đến lượng thức ăn thu nhận.

2.2.2. Thiết kế plasmid và vector chuyển gen bằng AAV

DNA Intergrated Technologies (Coralville, IA) đã tổng hợp các đoạn ngắn của vùng mã hóa của chuột PACAP có trình tự bao gồm 5'- GA GAGATGTCGCCACGAAAT -3' (shPACAP) và

shARN Scramble, có trình tự bao gồm 5'- CCTA AGGTTAAGTCGCCCTCG -3' (Scramble). Sau đó, các đoạn được nhân bản vào plasmid pAAV-U6-shARN-CAG-mCherry để tạo ra pAAV-U6-shPACAP-CAG-mCherry. AAV vector serotype 9 (AAV 2/9) được sản xuất bởi AAVPro® Helper Free System. Sau đó trộn cùng một lượng plasmid (pAAV, pRC9 và pHelper), hỗn hợp plasmid được chuyển nhiễm nhanh vào tế bào HEK293AAV (Takara Bio) bằng cách sử dụng polyethyleneimine 1 mg/ml theo hướng dẫn của nhà sản xuất. HEK293AAV tế bào được thu hoạch và phân giải trong PBS bằng chu kỳ đông lạnh/rã đông 3 lần sau khi gây nhiễm. Ly giải tế bào đã được xử lý bằng benzonase để loại bỏ ADN và ARN bị tạp nhiễm và sau đó, Opti-prep được sử dụng trong máy siêu ly tâm để làm sạch virion AAV. Các virion AAV sau đó được cô lại bằng Vivaspin® 20, cuối cùng là AAV2/9-U6-shPACAP-CAG-mCherry, AAV2/9-U6-Scramble-CAG-mCherry được tạo ra. Hiệu giá AAV được định lượng như đã mô tả trước đây của Aurnhammer & cs. (2011). AAV2/9-CAG-PACAP-IRES-EGFP để biểu hiện PACAP và AAV2/9-CAG-IRES-EGFP đã được báo cáo trước đây của Nguyen & cs. (2020). Sau đó các virus được chuyển vào ống Eppendorf và giữ ở -80°C cho đến khi sử dụng.

Bảng 1. Trình tự mồi đánh giá định lượng mức độ biểu hiện mRNA của nicotine ở não chuột

Gen	Tên mồi	Trình tự (5'-3')	Nguồn
$\alpha 2$	F	GGTCGTCACCATCATCATC	Taillebois & cs. (2014)
	R	CCACGACGGTATCTTGTGC	
$\alpha 4$	F	TGAGAATGTCACCTCCATCAGG	Kedikian & cs. (2013)
	R	CTTTGCGGTGACTCACTTGACA	
$\alpha 7$	F	CCGACATCACAGGATACATTGC	
	R	GGTAGACGGAATGAGAGGTTCT	
$\beta 2$	F	TGGAGCCCAGAAGAGTTTGATG	
	R	CTCCAATGCTGTCGTCTCCTAT	
$\beta 4$	F	CTACAGGAAGCATTAGAGG	Smith & cs. (2014)
	R	CAGAATACACACAATCACG	
GAPDH	F	GAAGGTCGGTGTGAACGGAT	Kambe & cs. (2021)
	R	CTCGCTCCTGGAAGATGGTG	

2.2.3. Tiêm não chuột nhắt trắng

Chuột được gây mê bởi i.p. hỗn hợp bao gồm 0,75 mg/kg medetomidine, 4,0 mg/kg midazolam và 5,0 mg/kg butorphanol. Các lỗ đã được khoan trên não chuột. Kim thủy tinh (Ringcaps, Hirschmann Labouräte GmbH & Co. Eberstadt, Đức) được kéo bởi một người kéo (PE-22, Narishige, Tokyo, Nhật Bản) và được đưa vào các vị trí thích hợp theo phương pháp lập thể. Tiêm 0,5µl AAV (4×10^{13} virus/ml) hai bên, kim tiêm được cố định tại các vị trí tiêm trong 10 phút để virus có thể khuếch tán hết thể tích. Tọa độ của các vùng giữa bụng dưới đồi (VMH) cụ thể như sau: bên $\pm$ 0,4mm; phía sau -1,58mm từ não và bụng, cách bề mặt não -5,2mm theo tập bản đồ não chuột. Quá trình thu vùng dưới đồi được thực hiện theo công bố trước đây của Nguyen & cs. (2020).

2.2.4. Tách và tinh sạch ARN

ARN được tách từ vùng dưới đồi não chuột bởi Sepasol-RNA 1 Super G kit (Nacalai Tesque, Kyoto, Nhật Bản), với các bước thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

2.2.5. Phương pháp realtime qPCR định lượng mức độ biểu hiện mRNA của các thụ thể nicotine ở não chuột

Complementary DNA (cDNA) được tổng hợp bởi HighCapacity cDNA RT kit. qPCR được thực hiện bằng bộ kit Thunderbird SYBR qPCR trong máy chu trình nhiệt Thermal Cycler Dice (Real Time System TP800, Takara Bio Inc., Shiga, Nhật Bản). Thành phần phản ứng PCR được phối trộn theo hướng dẫn của nhà sản xuất, trong đó: 1µl mỗi xuôi mỗi loại + 1µl mỗi ngược mỗi loại + 5µl cADN mẫu tách chiết + 10µl master mix + vừa đủ nước 20µl. Mức độ biểu hiện của mỗi gen đã được chuẩn hóa (normalize) bởi mức độ biểu hiện GAPDH và được biểu thị dưới dạng đơn vị biểu hiện tương đối. Trình tự mỗi đặc hiệu được trình bày ở bảng 1.

2.2.6. Đánh giá lượng thức ăn thu nhận

Lượng thức ăn thu nhận được đánh giá theo nghiên cứu đã được công bố của Nguyen & cs. (2020).

2.2.7. Xử lý số liệu

Kết quả được hiển thị dưới dạng mean $\pm$ SEM. Student's t test, one -way ANOVA được sử dụng để so sánh các giá trị trung bình. Khi phân tích bằng one - way ANOVA, dùng Dunnett test để so sánh giá trị trung bình của lô thử nghiệm so với lô chứng. Các phép thử được tích hợp trong phần mềm Graph Prism 9 (GraphPad, La Jolla, CA, Mỹ). Giá trị $P \leq 0,05$ được xác định là giới hạn sai khác có ý nghĩa thống kê.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

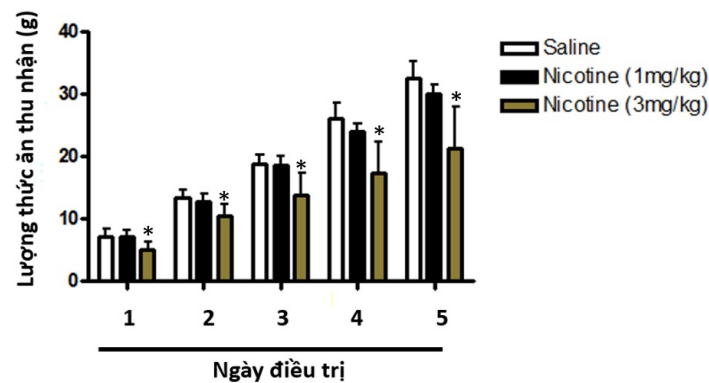
3.1. Lượng thức ăn thu nhận và khối lượng chuột sau khi điều trị với nicotine ở chuột nhắt trắng bình thường

Kết quả ở hình 1 cho thấy lượng thức ăn thu nhận của chuột nhắt giảm dần từ ngày 1 đến ngày 5 sau khi tiêm liều lượng 1 mg/kg hoặc 3 mg/kg tương ứng. Đáng chú ý, kết quả thể hiện rõ rệt nhất với liều lượng 3 mg/kg. Như vậy, tác dụng của nicotine làm giảm lượng thức ăn thu nhận và có sự phụ thuộc vào nồng độ thuốc theo thời gian điều trị.

Trong nghiên cứu này, kết quả giảm lượng thức ăn thu nhận được quan sát tương đồng với các nghiên cứu đã công bố trước đây (Albanes & cs., 1987; Fulkerson & French, 2003; Mineur & cs., 2011).

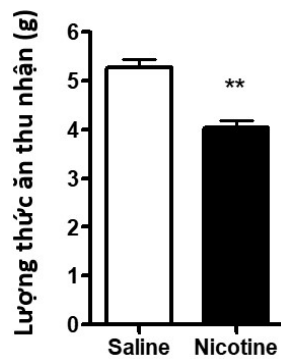
3.2. Lượng thức ăn thu nhận ở chuột sau khi điều trị với nicotine ở chuột nhắt trắng knock-out gen PACAP

Kết quả ở hình 2 cho thấy lượng thức ăn thu nhận ở chuột sau khi điều trị với nicotine ở chuột nhắt trắng knock-out gen PACAP có khuynh hướng giảm. Tuy nhiên, mức độ giảm ít hơn so với việc gây thu nhận thụ động nicotine ở chuột nhắt trắng. Một nghiên cứu gần đây cũng đã đề cập về tác dụng làm giảm lượng thức ăn thu nhận của nicotine qua việc kích hoạt tế bào thần kinh POMC ở vùng nhân cung (ARC) (Mineur & cs., 2011). Đồng thời, nghiên cứu gần đây của nhóm chúng tôi cũng chỉ ra việc giảm thức ăn thu nhận của PACAP thông qua POMC (Nguyen & cs., 2020). Điều đó chỉ ra rằng, nicotine có thể thông qua tế bào thần kinh PACAP để làm giảm lượng thức ăn thu nhận ở chuột.



Ghi chú: *: $P < 0,05$; One-way ANOVA được sử dụng để đánh giá ý nghĩa thống kê của các kết quả.

Hình 1. Lượng thức ăn thu nhận ở chuột nhắt trắng khi điều trị với nicotine sau 5 ngày liên tục (n = 4)



Ghi chú: **: $P < 0,01$; Student's t-test được sử dụng để đánh giá ý nghĩa thống kê của các kết quả.

Hình 2. Lượng thức ăn thu nhận ở chuột nhắt trắng knock-out gen PACAP khi điều trị với nicotine sau 5 ngày liên tục (n = 3)

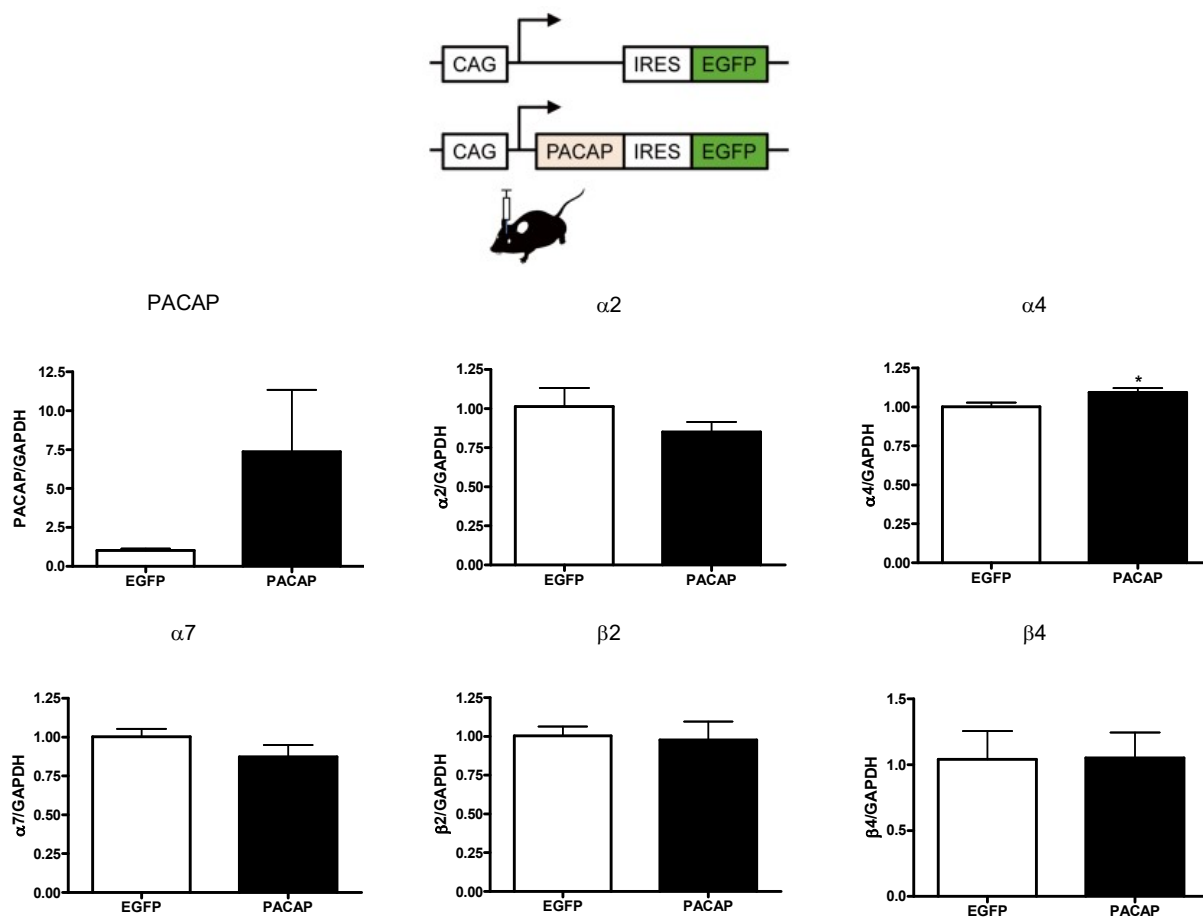
3.3. Mức độ biểu hiện của các thụ thể $\alpha 2$, $\alpha 4$, $\alpha 7$, $\beta 2$ và $\beta 4$ của nicotine ở chuột nhắt trắng sau khi được biểu hiện quá mức có chọn lọc của PACAP ở vùng VMH

Kết quả ở hình 3 cho thấy, chuột đã được biểu hiện chọn lọc PACAP ở vùng VMH thành công. Đặc biệt, sự biểu hiện mRNA của thụ thể $\alpha 4$ của nicotine tăng lên ở chuột được biểu hiện quá mức có chọn lọc PACAP. Trong khi đó, mức độ biểu hiện mRNA của các thụ thể khác không có sự thay đổi đáng kể. Do đó, chúng tôi đưa ra giả thuyết rằng các tế bào thần kinh PACAP trong VMH kiểm soát sự thèm ăn có thể thông qua thụ thể $\alpha 4$ của nicotine. Mặc dù, kết quả của nghiên cứu này có sự khác nhau với các nghiên cứu khác khi đã chỉ ra thụ thể $\alpha 3\beta 4$ nicotinic

acetylcholine đóng vai trò chính. Tuy nhiên, nghiên cứu này đã chỉ ra thêm một cơ chế khác qua tế bào thần kinh PACAP làm giảm tính thèm ăn thông qua thụ thể $\alpha 4$ của nicotine.

3.4. Mức độ biểu hiện của các thụ thể $\alpha 2$, $\alpha 4$, $\alpha 7$, $\beta 2$ và $\beta 4$ ở chuột nhắt trắng sau khi knock-down gen PACAP ở vùng VMH ở thời điểm ban ngày và ban đêm

Kết quả ở hình 4 cho thấy, chuột sau khi được tiêm AAV2/9-U6-shPACAP-CAG-mCherry dùng để knock-down gen PACAP đã thành công. Đáng lưu ý, mức độ biểu hiện của thụ thể $\alpha 4$ của nicotine có khuynh hướng giảm, trong khi các thụ thể còn lại không thay đổi ở chuột nhắt trắng sau khi được knock-down gen PACAP ở VMH.



Ghi chú: *: $P < 0,05$; Student's t -test được sử dụng để đánh giá ý nghĩa thống kê; AAV2/9-CAG-PACAP-IRES-EGFP để biểu hiện PACAP và AAV2/9-CAG-IRES-EGFP để làm đối chứng.

Hình 3. Mức độ biểu hiện của các thụ thể $\alpha 2$, $\alpha 4$, $\alpha 7$, $\beta 2$ và $\beta 4$ ở chuột nhắt trắng sau khi overexpression của PACAP ở vùng VMH ($n = 3$)

Các báo cáo trước đây đã chứng minh rằng việc kích hoạt Mc4r bởi melanocortins là rất quan trọng đối với quy định về lượng thức ăn và tiêu hao năng lượng và được xác nhận bởi xu hướng tăng tính thèm ăn ở chuột knock-down Mc4r ở vùng nhân cận não thất của vùng dưới đồi PVN (Tao, 2010). Những dữ liệu này chứng minh rằng nicotine làm giảm lượng thức ăn chủ yếu thông qua sự kích hoạt phụ thuộc $\beta 4$ nAChR của tế bào thần kinh POMC và con đường melanocortin. Nó đã được chứng minh rằng các tế bào thần kinh POMC biểu hiện các dấu hiệu cholinergic (Meister & cs., 2006) và dòng béo phì tự nhiên của chuột Tub/Tub (Bäckberg & Meister, 2004). Điều này cho thấy sự suy giảm nội sinh cholinergic quanh mạch trong nhân cung. Qua đó, các quan sát nhấn

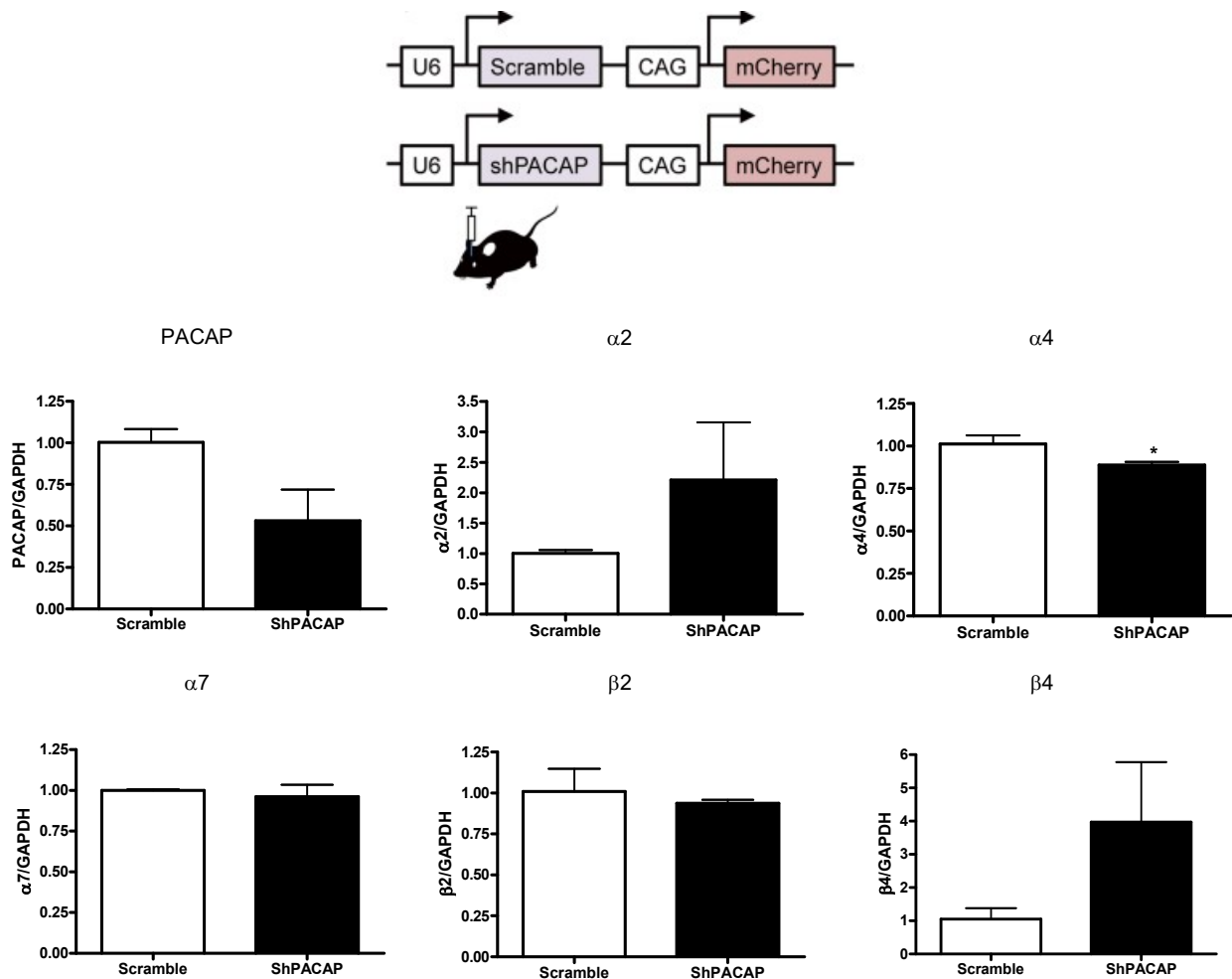
mạnh vai trò có thể có của acetylcholine trong điều hòa trao đổi chất qua tế bào thần kinh POMC. Do đó, tất cả các cơ chế này có thể làm thay đổi hoạt động của các tế bào thần kinh POMC. Sự giải phóng chất dẫn truyền thần kinh từ các thiết bị đầu cuối trước synap có thể ảnh hưởng đến năng lượng tiêu hao và lượng thức ăn thu nhận.

Một nghiên cứu gần đây chỉ ra kích hoạt các thụ thể $\alpha 3\beta 4$ nicotinic acetylcholine ở vùng dưới đồi dẫn đến kích hoạt các tế bào thần kinh pro-opiomelanocortin (POMC). Các tế bào thần kinh POMC và sự kích hoạt tiếp theo của các thụ thể melanocortin 4 rất quan trọng đối với việc giảm lượng thức ăn do nicotinic gây ra ở chuột (Tao, 2010). Nghiên cứu này chứng minh rằng nicotine làm giảm lượng thức ăn thu nhận bằng

cách gây ảnh hưởng đến hệ thống melanocortin của vùng dưới đồi. Kết quả trong nghiên cứu này của chúng tôi cho thấy rằng, thụ thể $\alpha 4$ nAChRs có tác dụng làm giảm lượng thức ăn thu nhận ở chuột nhắt. Cùng với đó, tế bào thần kinh POMC biểu hiện nAChRs và tương tác thuốc với nicotine. Do vậy, khi nicotine đến nhân cung ARC, sẽ làm tăng biểu hiện của PACAP dẫn đến làm tăng sự biểu hiện của các tế bào thần kinh POMC và hoạt động của POMC được tăng lên thông qua việc kích hoạt các $\alpha 4$ nAChRs (Hình 5). Đáng lưu ý, vai trò một số thụ thể thần kinh khác như $\beta 2$ và $\beta 4$ của nicotine vì mức độ biểu hiện tương đương trong kiểm soát tính thèm ăn. Do vậy, cần có những nghiên cứu tiếp theo để làm rõ có hay không sự

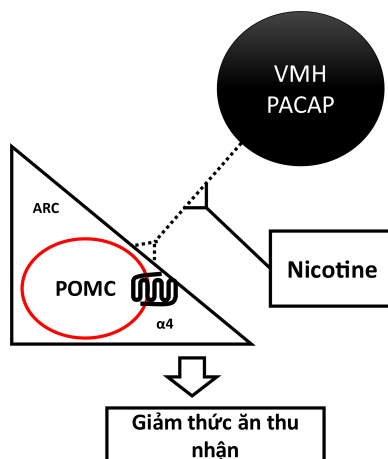
đồng biểu hiện mới có khả năng kiểm soát tính thèm ăn hay chỉ một mình thụ thể $\alpha 4$ có thể thực hiện được.

Nicotine làm giảm lượng thức ăn thu nhận bằng cách gây ảnh hưởng đến hệ thống melanocortin của vùng dưới đồi. Kết quả chứng minh thêm rằng $\alpha 4$ nAChRs là thụ thể làm trung gian cho các hiệu ứng này. Cùng với đó, tế bào thần kinh POMC biểu hiện nAChRs và tương tác thuốc với Nicotine. Do vậy, khi nicotine đến nhân cung ARC, sẽ làm tăng biểu hiện của PACAP và dẫn đến làm tăng sự biểu hiện của các tế bào thần kinh POMC và hoạt động của POMC được tăng lên thông qua việc kích hoạt các $\alpha 4$ nAChRs.



Ghi chú: *: $P < 0,05$; Student's *t*-test được sử dụng để đánh giá ý nghĩa thống kê; AAV2/9-U6-shPACAP-CAG-mCherry dùng để knock-down gen PACAP, AAV2/9-U6-Scramble-CAG-mCherry dùng để làm đối chứng.

Hình 4. Mức độ biểu hiện gen mRNA của các thụ thể $\alpha 2$, $\alpha 4$, $\alpha 7$, $\beta 2$ và $\beta 4$ ở chuột nhắt trắng sau khi knockdown của PACAP ở vùng VMH (n = 3)



Hình 5. Mô hình cơ chế tác động của nicotine đối với cảm giác thèm ăn ở chuột nhắt trắng

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã chỉ ra sự biểu hiện của nicotine thụ thể $\alpha 4$ ở vùng dưới đồi có thể được điều chỉnh bởi gen PACAP trong VMH trong việc kiểm soát tính thèm ăn ở chuột nhắt trắng. Do đó, chất chủ vận $\alpha 4$ có thể hữu ích để hạn chế cân nặng đạt được sau khi cai thuốc lá và thuốc nicotinic cũng có thể hữu ích để kiểm soát bệnh béo phì và các rối loạn chuyển hóa liên quan.

LỜI CẢM ƠN

Các nội dung được thực hiện trong bài báo có sử dụng một phần kinh phí của đề tài khoa học công nghệ cấp Học viện “Nghiên cứu cơ chế ảnh hưởng của nicotine đối với cảm giác thèm ăn ở chuột nhắt”, mã số T2022-09-32.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Albanes D., Jones D. Y., Micozzi M. S. & Mattson M. E. (1987). Associations between smoking and body weight in the US population: analysis of NHANES II. *Am J Public Health*. 77(4): 439-44.

Aurnhammer C., Haase M., Muether N., Hausl M., Rauschhuber C., Huber I., Nitschko H., Busch U., Sing A., Ehrhardt A. & Baiker A. (2011). Universal Real-Time PCR for the Detection and Quantification of Adeno-Associated Virus Serotype 2-Derived Inverted Terminal Repeat Sequences. *Human Gene Therapy Methods*. 23(1): 18-28.

Bäckberg M. & Meister B. (2004). Abnormal cholinergic and GABAergic vascular innervation

in the hypothalamic arcuate nucleus of obese tub/tub mice. *Synapse*. 52(4): 245-57.

Breslau N. (1995). Psychiatric comorbidity of smoking and nicotine dependence. *Behav Genet*. 25(2): 95-101.

Brunzell D.H., Stafford A.M. & Dixon C.I. (2015). Nicotinic receptor contributions to smoking: insights from human studies and animal models. *Current addiction reports*. 2(1): 33-46.

Burling T.A. & Ziff D.C. (1988). Tobacco smoking: a comparison between alcohol and drug abuse inpatients. *Addict Behav*. 13(2): 185-90.

Decker M.W., Brioni J.D., Bannon A.W. & Arneric S.P. (1995). Diversity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors: lessons from behavior and implications for CNS therapeutics. *Life Sci*. 56(8): 545-70.

Fulkerson J.A. & French S.A. (2003). Cigarette smoking for weight loss or control among adolescents: gender and racial/ethnic differences. *J Adolesc Health*. 32(4): 306-13.

Grunberg N.E. (1982). The effects of nicotine and cigarette smoking on food consumption and taste preferences. *Addict Behav*. 7(4): 317-331.

Hughes J.R., Higgins S.T. & Bickel W.K. (1994). nicotine withdrawal versus other drug withdrawal syndromes: similarities and dissimilarities. *Addiction*. 89(11): 1461-70.

Jang M.H., Shin M.C., Lim B.V., Chung J.H., Kang H.S., Kang S.A., Choue R.W., Kim E.H. & Kim C.J. (2002). nicotine administration decreases nitric oxide synthase expression in the hypothalamus of food-deprived rats. *Neurosci Lett*. 322(1): 29-32.

Kambe Y., Yamauchi Y., Thanh Nguyen T., Thi Nguyen T., Ago Y., Shintani N., Hashimoto H., Yoshitake S., Yoshitake T., Kehr J., Kawamura N.,

- Katsuura G., Kurihara T. & Miyata A. (2021). The pivotal role of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide for lactate production and secretion in astrocytes during fear memory. *Pharmacol Rep.* 73(4): 1109-1121.
- Kedikian X., Faillace M.P. & Bernabeu R. (2013). Behavioral and Molecular Analysis of Nicotine-Conditioned Place Preference in Zebrafish. *PLOS ONE.* 8(7): e69453.
- Levin E.D., Morgan M.M., Galvez C. & Ellison G.D. (1987). Chronic nicotine and withdrawal effects on body weight and food and water consumption in female rats. *Physiol Behav.* 39(4): 441-4.
- Meister B., Gömüç B., Suarez E., Ishii Y., Dürr K. & Gillberg L. (2006). Hypothalamic proopiomelanocortin (POMC) neurons have a cholinergic phenotype. *Eur J Neurosci.* 24(10): 2731-40.
- Mineur Y.S., Abizaid A., Rao Y., Salas R., DiLeone R.J., Gündisch D., Diano S., De Biasi M., Horvath T.L., Gao X.B. & Picciotto M.R. (2011). nicotine decreases food intake through activation of POMC neurons. *Science.* 332(6035): 1330-2.
- Nguyen T.T., Kambe Y., Kurihara T., Nakamachi T., Shintani N., Hashimoto H. & Miyata A. (2020). Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide in the Ventromedial Hypothalamus Is Responsible for Food Intake Behavior by Modulating the Expression of Agouti-Related Peptide in Mice. *Molecular Neurobiology.* 57(4): 2101-2114.
- Nisell M., Nomikos G.G. & Svensson T.H. (1995). nicotine dependence, midbrain dopamine systems and psychiatric disorders. *Pharmacol Toxicol.* 76(3): 157-62.
- Perkins K.A., Epstein L.H., Sexton J.E., Solberg-Kassel R., Stiller R.L. & Jacob R.G. (1992). Effects of nicotine on hunger and eating in male and female smokers. *Psychopharmacology (Berl).* 106(1): 53-9.
- Rudecki A.P. & Gray S.L. (2016). PACAP in the Defense of Energy Homeostasis. *Trends in Endocrinology & Metabolism.* 27(9): 620-632.
- Smith M.L., Souza F.G.O., Bruce K.S., Strang C.E., Morley B.J. & Keyser K.T. (2014). Acetylcholine receptors in the retinas of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor knockout mouse. *Molecular vision.* 20: 1328-1356.
- Taillebois E., Beloula A., Quinchard S., Jaubert-Possamai S., Daguin A., Servent D., Tagu D., Thany S. H. & Tricoire-Leignel H. (2014). Neonicotinoid Binding, Toxicity and Expression of Nicotinic Acetylcholine Receptor Subunits in the Aphid *Acyrtosiphon pisum*. *PLOS ONE.* 9(5): e96669.
- Tao Y.X. (2010). The melanocortin-4 receptor: physiology, pharmacology, and pathophysiology. *Endocr Rev.* 31(4): 506-43.