Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, Tập 24, Số đặc biệt 1, 2026: 88-95 https://doi.org/10.31817/tckhnnvn.2026.24.SP01.10
vie.vjas.vn

ẢNH HƯỞNG CỦA LỰA CHỌN GEN NỘI CHUẨN ĐẾN PHÂN TÍCH BIỂU HIỆN BDNF VÀ BACE1 TẠI VÙNG DƯỚI ĐỒI CHUỘT NHẮT TRẮNG TRONG MÔ HÌNH NHỊN ĂN - CHO ĂN LẠI

Nguyễn Thành Trung*, Vũ Thị Thu Trà, Phạm Thị Lan Hương, Nguyễn Thị Thanh Hà

Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

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

Ngày nhận bài: 03.04.2026 Ngày chấp nhận đăng: 22.09.2026

TÓM TẮT

Lựa chọn gen nội chuẩn phù hợp là điều kiện quan trọng để bảo đảm độ tin cậy của phân tích biểu hiện gen bằng RT-qPCR. Nghiên cứu này nhằm so sánh β-actin và GAPDH khi sử dụng làm gen nội chuẩn để đánh giá biểu hiện của BDNF và BACE1 tại vùng dưới đồi chuột trong mô hình nhịn ăn - cho ăn lại. Chuột đực khỏe mạnh được chia thành ba nhóm: đối chứng, nhịn ăn hoàn toàn 48 giờ (uống nước tự do) và cho ăn lại 4 giờ sau nhịn ăn 48 giờ. Mẫu vùng dưới đồi được thu nhận, tách chiết ARN tổng số, tổng hợp cDNA và phân tích bằng RT-qPCR. Khi chuẩn hóa bằng β-actin, biểu hiện BDNF giảm có ý nghĩa thống kê ở nhóm nhịn ăn 48 giờ và không còn khác biệt sau cho ăn lại 4 giờ so với đối chứng. Trong khi chuẩn hóa bằng GAPDH, biểu hiện BDNF không thay đổi có ý nghĩa thống kê ở cả hai nhóm xử lý. Đối với BACE1, mức độ biểu hiện không thay đổi đáng kể giữa các nhóm và cho kết quả nhất quán khi chuẩn hóa bằng cả hai gen nội chuẩn. Kết quả cho thấy β-actin và GAPDH không hoàn toàn tương đương trong mô hình nhịn ăn - cho ăn lại, trong đó β-actin có thể phù hợp hơn để đánh giá các gen nhạy cảm với trạng thái chuyển hóa tại vùng dưới đồi chuột.

Từ khóa: β-actin, GAPDH, RT-qPCR, chuẩn hóa biểu hiện gen.

Impact of Reference Gene Selection on BDNF and BACE1 Expression Analysis in the Mouse Hypothalamus during Fasting and Refeeding

ABSTRACT

Selecting appropriate reference genes is crucial for ensuring the reliability of RT-qPCR-based gene expression analysis. This study aimed to compare β-actin and GAPDH as reference genes for evaluating the expression of BDNF and BACE1 in the mouse hypothalamus under a fasting-refeeding model. Healthy male mice were divided into three groups: control, 48-hour complete fasting (with free access to water), and 4-hour refeeding after 48 hours of fasting. Hypothalamic samples were collected, total RNA was extracted, cDNA was synthesized, and gene expression was analyzed by RT-qPCR. When normalized to β-actin, BDNF expression was significantly decreased in the 48-hour fasting group and was no longer significantly different from the control group after 4 hours of refeeding. In contrast, when normalized to GAPDH, BDNF expression showed no significant changes in either treatment group. For BACE1, expression levels did not differ significantly among groups and yielded consistent results regardless of normalization with either reference gene. These findings indicate that β-actin and GAPDH are not fully equivalent as reference genes in the fasting–refeeding model, and β-actin may be more suitable for evaluating genes sensitive to metabolic status in the mouse hypothalamus.

Keywords: β-actin, GAPDH, BDNF, BACE1, hypothalamus, fasting, refeeding.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong nghiên cứu sinh lý, bệnh lý và chuyển hóa ở động vật, phân tích biểu hiện gen bằng RT-qPCR là phương pháp được sử dụng phổ biến nhờ độ nhạy và khả năng định lượng cao (Wagner, 2013; Li & cs., 2025). Tuy nhiên, độ tin cậy của kết quả phụ thuộc đáng kể vào việc lựa chọn gen nội chuẩn (reference gene) để chuẩn hóa dữ liệu. Theo khuyến cáo của MIQE, gen nội chuẩn cần được đánh giá về độ ổn định trong từng điều kiện thí nghiệm cụ thể, bởi sự

biến động của gen nội chuẩn có thể dẫn đến sai lệch trong phân tích biểu hiện gen (Bustin & cs., 2025). Mặc dù β-actin và GAPDH được sử dụng rộng rãi, mức độ biểu hiện của hai gen này có thể thay đổi tùy thuộc vào mô và điều kiện sinh lý (Vandesompele & cs., 2002). Vì vậy, việc lựa chọn gen nội chuẩn phù hợp có ý nghĩa quan trọng đối với độ chính xác của RT-qPCR (Vandesompele & cs., 2002; Bustin & cs., 2025).

Vùng dưới đồi đóng vai trò trung tâm trong điều hòa cân bằng năng lượng và đáp ứng với những thay đổi về trạng thái dinh dưỡng (Bombassaro & cs., 2024). Mô hình nhịn ăn - cho ăn lại là mô hình thực nghiệm hữu ích để đánh giá sự thích nghi của hệ thần kinh trung ương trước những thay đổi cấp tính về năng lượng (Pedroso & cs., 2020). Trong đó, BDNF có vai trò quan trọng đối với tính dẻo thần kinh và điều hòa cân bằng năng lượng (Miranda & cs., 2019), trong khi BACE1 là enzyme tham gia vào quá trình chuyển hóa amyloid precursor protein và có liên quan đến các cơ chế bệnh lý thần kinh (Yan & Vassar, 2014). Bên cạnh các cơ chế thần kinh, những thay đổi về trạng thái chuyển hóa cũng có thể ảnh hưởng đến biểu hiện và hoạt tính của BACE1 (Taylor & cs., 2022). Tuy nhiên, ảnh hưởng của việc lựa chọn gen nội chuẩn đến kết quả phân tích biểu hiện BDNF và BACE1 tại vùng dưới đồi trong mô hình nhịn ăn - cho ăn lại vẫn chưa được làm rõ. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm so sánh β-actin và GAPDH với vai trò là gen nội chuẩn và đánh giá ảnh hưởng của việc lựa chọn gen nội chuẩn đến kết quả phân tích biểu hiện BDNF và BACE1 tại vùng dưới đồi chuột nhắt trắng trong mô hình nhịn ăn 48 giờ - cho ăn lại 4 giờ bằng RT-qPCR. Nghiên cứu tập trung làm rõ liệu việc sử dụng các gen nội chuẩn khác nhau có dẫn đến sự khác biệt trong kết quả định lượng biểu hiện của BDNF và BACE1 hay không, qua đó cung cấp cơ sở lựa chọn gen nội chuẩn phù hợp cho các nghiên cứu biểu hiện gen tại vùng dưới đồi trong điều kiện thay đổi trạng thái chuyển hóa.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Đối tượng nghiên cứu là chuột nhắt trắng được nuôi tại Bộ môn Nội - Chẩn - Dược lý, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

Hóa chất sử dụng để tách chiết và tinh sạch RNA tổng số gồm: (i) dung dịch ly giải mẫu chứa 27% sucrose, 15M trisodium citrate, 0,15M NaCl, 1mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 1% sodium dodecyl sulfate (SDS) và 200 µg/ml proteinase K; (ii) hỗn hợp phenol-chloroform-isoamyl alcohol (25:24:1); (iii) isopropanol; (iv) ethanol 70%; và (v) dung dịch đệm TE (pH 8,0).

Sinh phẩm và hóa chất sử dụng cho phản ứng RT-qPCR gồm: (i) bộ kít High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA); (ii) bộ kít Thunderbird SYBR qPCR Mix (Toyobo Life Science, Osaka, Japan) và (iii) các cặp mồi đặc hiệu dùng để định lượng mức độ biểu hiện mRNA của BDNF, BACE1, β-actin và GAPDH. Trình tự các mồi đặc hiệu được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Trình tự mồi đánh giá định lượng mức độ biểu hiện mARN của BDNF và BACE1 ở não chuột

Gen	Tên mồi	Trình tự (5'-3')	Nguồn
BDNF	F	AAGGACGCGGACTTGTACAC	Fukuchi & cs. (2017)
	R	CGCTAATACTGTCACACACGC	
BACE1	F	CCGGCGGGAGTGGTATTATG	Wang & cs. (2019)
	R	GCAAACGAAGGTTGGTGGT	
GAPDH	F	GAAGGTCGGTGTGAACGGAT	Kambe & cs. (2021)
	R	CTCGCTCCTGGAAGATGGTG	
β-actin	F	CATGTACGTTGCTATCCAGGC	Wang & cs. (2019)
	R	CTCCTTAATGTCACGCACGAT	

2.2. Nội dung nghiên cứu

Hai gen đích được khảo sát trong nghiên cứu là BDNF và BACE1. Mức độ biểu hiện của các gen này được chuẩn hóa lần lượt theo β-actin và GAPDH nhằm so sánh sự khác biệt trong kết quả phân tích, qua đó xác định gen nội chuẩn phù hợp hơn để đánh giá các gen nhạy cảm với trạng thái chuyển hóa tại vùng dưới đồi chuột.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp lấy mẫu

Đối tượng nghiên cứu là chuột đực cùng lứa hoặc chuột CD-1 khỏe mạnh, 11 tuần tuổi. Động vật được nuôi riêng trong từng lồng, duy trì chu kỳ sáng/tối 12 giờ (bật đèn lúc 7:00 sáng và tắt đèn lúc 7:00 tối) trong ít nhất 1 tuần trước khi tiến hành nghiên cứu và trong suốt thời gian thí nghiệm. Các cá thể được lựa chọn và phân ngẫu nhiên (n = 4-5 con/nhóm) vào các nghiệm thức, gồm: (i) nhịn ăn hoàn toàn trong 48 giờ nhưng được cung cấp nước uống tự do; và (ii) cho ăn lại trong 4 giờ sau khi kết thúc 48 giờ nhịn ăn. Nghiên cứu đã được "Hội đồng chuẩn y sử dụng động vật trong nghiên cứu của Học viện Nông nghiệp Việt Nam" đã xem xét và phê duyệt quy trình nghiên cứu (Mã số phê duyệt: CARE 09/2025).

Sau khi kết thúc thời gian xử lý, chuột được gây chết nhân đạo bằng khí carbon dioxide (CO_2) theo phương pháp tăng dần nồng độ. Khí CO_2 được cung cấp từ bình khí nén thông qua hệ thống điều áp và lưu lượng kế, bảo đảm kiểm soát chính xác tốc độ cấp khí. Chuột được đặt vào buồng chưa được nạp sẵn CO_2, sau đó khí CO_2 được cấp từ từ với tốc độ thay thế khoảng 30-70% thể tích buồng/phút. Động vật được theo dõi liên tục trong suốt quá trình cho đến khi ngừng hô hấp và được xác nhận tử vong trước khi tiến hành thu mẫu bằng phương pháp cắt bỏ đầu. Vùng dưới đồi được thu nhận bằng kẹp phẫu tích từ các lát cắt não vành có tọa độ từ 0,0 đến -3,0mm so với điểm bregma (Paxinos & Watson, 2014). Ngay sau khi thu nhận, các mẫu được làm đông lạnh nhanh trong nitơ lỏng và bảo quản ở -80°C cho đến khi tiến hành tách chiết RNA tổng số.

2.3.2. Phương pháp tách và tinh sạch RNA

RNA tổng số được tách chiết từ vùng dưới đồi của não chuột bằng phương pháp Sepasol-chloroform kết hợp kết tủa isopropanol. Mẫu mô được ly giải trong dung dịch Sepasol, sau đó bổ sung chloroform để tách pha và ly tâm thu dịch nổi chứa RNA. RNA được kết tủa bằng linear acrylamide và isopropanol, tiếp theo rửa bằng ethanol 75% để loại bỏ tạp chất.

Cặn RNA sau đó được xử lý với DNase nhằm loại bỏ DNA nhiễm, rồi tiếp tục tinh sạch bằng phương pháp tách pha với PCI (phenol:chloroform:isoamyl alcohol, 25:24:1). RNA được kết tủa lại bằng kali acetat 3M và ethanol tuyệt đối, rửa bằng ethanol 75%, hong khô ở nhiệt độ phòng và hòa tan trong nước không chứa RNase. Cuối cùng, mẫu RNA được ủ hòa tan hoàn toàn và xác định nồng độ RNA tổng số trước khi sử dụng cho các bước phân tích tiếp theo.

2.3.3. Phương pháp realtime PCR định lượng mức độ biểu hiện mRNA của BDNF, BACE1

cDNA được tổng hợp từ RNA tổng số bằng bộ kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Phản ứng real-time PCR (qPCR) được thực hiện bằng bộ kit THUNDERBIRD SYBR qPCR Mix (Toyobo Life Science, Osaka, Japan) trên hệ thống Thermal Cycler Dice Real Time System TP800 (Takara Bio Inc., Shiga, Japan).

Hỗn hợp phản ứng qPCR có tổng thể tích 20µl, bao gồm 1µl mồi xuôi (5pmol), 1µl mồi ngược (5pmol), 5µl cDNA mẫu, 10µl SYBR qPCR master mix và 3µl nước không chứa nuclease. Các phản ứng được chuẩn bị và tiến hành theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Mức độ biểu hiện của các gen đích được chuẩn hóa lần lượt theo β-actin và GAPDH nhằm đánh giá tính phù hợp của từng gen nội chuẩn và được biểu thị dưới dạng mức biểu hiện tương đối (%). Trình tự các cặp mồi đặc hiệu sử dụng trong nghiên cứu được trình bày ở bảng 1.

2.3.4. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý và phân tích bằng phần mềm GraphPad Prism 4.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA). Mức độ biểu hiện của các gen sau khi thực hiện qPCR được tính toán theo phương pháp định lượng tương đối $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Livak & Schmittgen, 2001). Sự khác biệt về mức độ biểu hiện gen giữa các nhóm được đánh giá bằng phân tích phương sai một yếu tố (one-way ANOVA) và kiểm định Tukey để so sánh cặp đôi giữa các giá trị trung bình. Giá trị P <0,05 được xem là có ý nghĩa thống kê; trong đó, P <0,05.

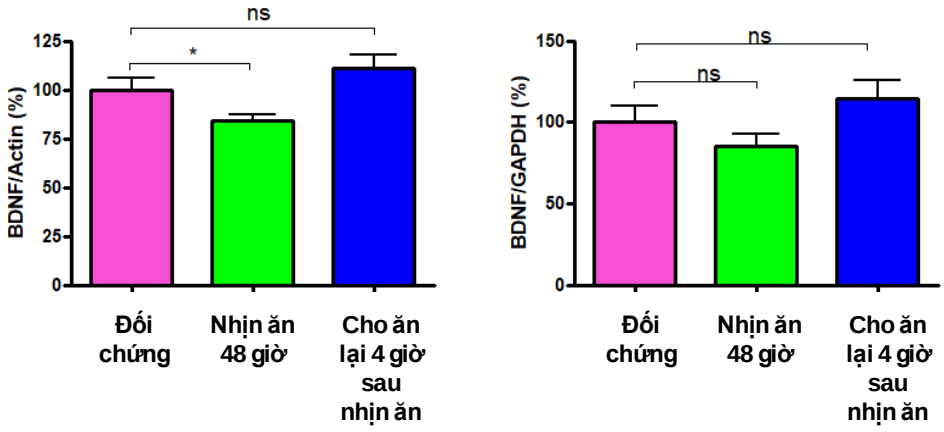
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Biểu hiện mRNA tương đối của BDNF tại vùng dưới đồi chuột trong mô hình nhịn ăn 48 giờ và được cho ăn lại 4 giờ khi chuẩn hóa theo β-actin hoặc GAPDH

Kết quả chuẩn hóa theo β-actin ở hình 1 cho thấy biểu hiện mRNA của BDNF tại vùng dưới đồi giảm sau 48 giờ nhịn ăn, nhưng không còn khác biệt có ý nghĩa thống kê sau 4 giờ cho ăn lại so với nhóm đối chứng. Sự giảm biểu hiện BDNF trong điều kiện nhịn ăn có thể liên quan đến sự thay đổi trạng thái năng lượng và các tín hiệu chuyển hóa - nội tiết, bao gồm glucose, leptin, insulin và ghrelin, qua đó ảnh hưởng đến hoạt động của các mạch thần kinh điều hòa cân bằng năng lượng (Harvey & Rios, 2024; Herman & cs., 2025).

Sự phục hồi biểu hiện BDNF sau 4 giờ cho ăn lại cho thấy BDNF có thể đáp ứng tương đối nhanh với sự thay đổi trạng thái dinh dưỡng, phù hợp với vai trò của phân tử này trong điều hòa chức năng thần kinh và cân bằng năng lượng. Sự đáp ứng này có thể liên quan đến quá trình tái lập các tín hiệu chuyển hóa và thần kinh - nội tiết sau khi cung cấp lại thức ăn (Brigadski & Leßmann, 2020; Harvey & Rios, 2024; Numakawa & Kajihara, 2025). Điều này cho thấy BDNF không chỉ là chỉ dấu của chức năng thần kinh mà còn là một phân tử nhạy cảm với trạng thái dinh dưỡng cấp tính.

Tuy nhiên, ý nghĩa quan trọng của kết quả không chỉ nằm ở sự thay đổi biểu hiện BDNF theo trạng thái dinh dưỡng mà còn ở cách kết quả được chuẩn hóa bằng gen nội chuẩn. Do đó, kết quả khi sử dụng β-actin cần được đối chiếu trực tiếp với kết quả khi sử dụng GAPDH. Nếu hai phương pháp chuẩn hóa cho kết quả khác nhau về mức độ thay đổi hoặc ý nghĩa thống kê, điều này cho thấy lựa chọn gen nội chuẩn có thể ảnh hưởng đáng kể đến diễn giải biểu hiện BDNF trong mô hình nhịn ăn - cho ăn lại, qua đó nhấn mạnh sự cần thiết phải đánh giá tính ổn định của gen nội chuẩn trước khi tiến hành phân tích RT-qPCR.



*Ghi chú: Sự khác biệt giữa các nhóm được đánh giá bằng phân tích phương sai một yếu tố (one-way ANOVA). ns: không có ý nghĩa thống kê. *: P <0,05.*

Hình 1. Mức độ biểu hiện mRNA tương đối của BDNF tại vùng dưới đồi ở các nhóm chuột đối chứng, nhịn ăn 48 giờ và cho ăn lại 4 giờ sau nhịn ăn, được chuẩn hóa theo β-actin hoặc GAPDH (n= 4-5 con/nhóm)

Một phát hiện quan trọng của nghiên cứu là xu hướng thay đổi của BDNF chỉ được ghi nhận khi dữ liệu được chuẩn hóa bằng β-actin, trong khi GAPDH không cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở cả hai nhóm xử lý. Điều này cho thấy kết luận sinh học về BDNF phụ thuộc mạnh vào lựa chọn gen nội chuẩn.

Bên cạnh đó, GAPDH là một enzyme trung tâm trong con đường đường phân, do đó mức biểu hiện của gen này có thể chịu ảnh hưởng trực tiếp bởi tình trạng thay đổi chuyển hóa năng lượng, đặc biệt trong mô hình nhịn ăn kéo dài và cho ăn lại (Seidler, 2013). Trong điều kiện nhịn ăn 48 giờ, cơ thể chuyển từ ưu tiên sử dụng glucose sang huy động axit béo và thể ketone, kéo theo sự thay đổi đáng kể trong hoạt động chuyển hóa của mô thần kinh (Karimi & cs., 2021). Vì vậy, GAPDH có thể không còn duy trì tính ổn định tuyệt đối như một housekeeping gene trong bối cảnh này. Nếu GAPDH biến động theo trạng thái dinh dưỡng, việc sử dụng gen này để chuẩn hóa có thể che lấp hoặc làm giảm khả năng phát hiện những thay đổi thực sự của BDNF.

Ngược lại, β-actin là gen liên quan đến cấu trúc bộ xương tế bào và trong nghiên cứu này dường như thể hiện độ ổn định cao hơn trong điều kiện nhịn ăn và cho ăn lại (Ummay Sumaya & cs., 2025), nhờ đó phản ánh rõ hơn sự thay đổi biểu hiện của BDNF. Kết quả này cho thấy β-actin có thể là gen nội chuẩn phù hợp hơn GAPDH khi đánh giá biểu hiện BDNF tại vùng dưới đồi trong mô hình thay đổi trạng thái dinh dưỡng cấp tính.

Kết quả trên nhấn mạnh rằng việc sử dụng các gen nội chuẩn phổ biến như GAPDH một cách mặc định có thể dẫn đến đánh giá sai hoặc bỏ sót các thay đổi sinh học có ý nghĩa trong các mô hình liên quan đến chuyển hóa năng lượng. Nếu chỉ sử dụng GAPDH, nghiên cứu có thể kết luận rằng BDNF không thay đổi dưới tác động của nhịn ăn và cho ăn lại. Tuy nhiên, khi sử dụng β-actin, dữ liệu lại cho thấy BDNF giảm sau nhịn ăn 48 giờ và phục hồi sau refeeding, một kết quả có ý nghĩa sinh học hợp lý hơn đối với vùng dưới đồi.

Do đó, phát hiện này không chỉ có giá trị trong việc giải thích đáp ứng của BDNF với tình trạng nhịn ăn mà còn cung cấp bằng chứng quan trọng cho việc thẩm định gen nội chuẩn trước khi phân tích RT-qPCR trong các mô hình có biến động chuyển hóa mạnh.

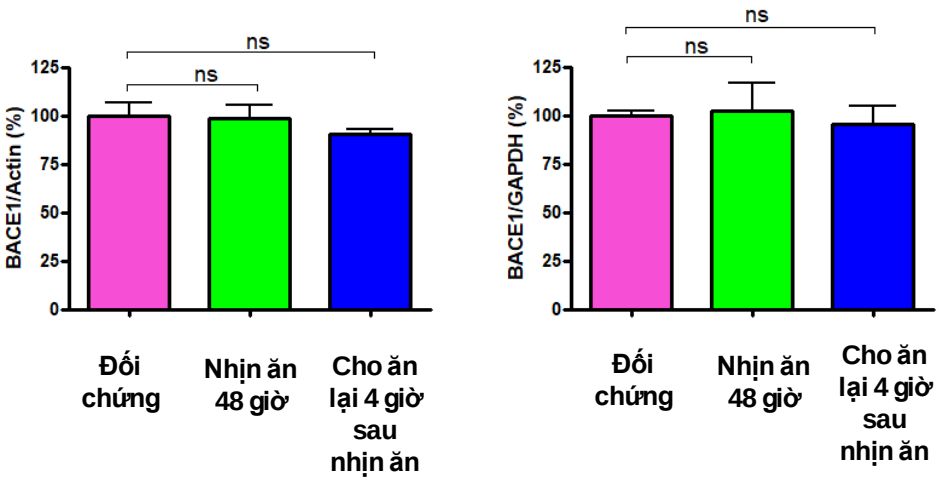
Như vậy, kết quả nghiên cứu cho thấy sự thay đổi biểu hiện của BDNF trong vùng dưới đồi dưới tác động của nhịn ăn 48 giờ chỉ được ghi nhận rõ ràng khi sử dụng β-actin để chuẩn hóa dữ liệu qPCR, trong khi GAPDH có thể làm che lấp sự khác biệt này; điều đó gợi ý rằng β-actin là gen nội chuẩn phù hợp hơn GAPDH trong đánh giá biểu hiện BDNF ở mô hình nhịn ăn và cho ăn lại.

3.2. Mức độ biểu hiện mRNA BACE1 tương đối trong vùng dưới đồi của chuột nhịn ăn 48 giờ và được cho ăn lại 4 giờ, được chuẩn hóa theo β-actin hoặc GAPDH

Kết quả ở hình 2 cho thấy biểu hiện mRNA của BACE1 tại vùng dưới đồi không thay đổi có ý nghĩa thống kê sau 48 giờ nhịn ăn cũng như sau 4 giờ cho ăn lại, bất kể dữ liệu được chuẩn hóa theo β-actin hay GAPDH. Kết quả này cho thấy BACE1 có thể không phải là gen đáp ứng sớm với những biến đổi cấp tính của trạng thái năng lượng tại vùng dưới đồi trong điều kiện và thời gian khảo sát.

BACE1 là enzyme then chốt trong quá trình xử lý amyloid precursor protein (APP) theo con đường amyloidogenic, góp phần hình thành amyloid-β và thường được nghiên cứu trong bối cảnh bệnh lý thoái hóa thần kinh (Zhang & Song, 2013). Mặc dù biểu hiện và hoạt tính của BACE1 có thể chịu ảnh hưởng bởi stress oxy hóa, viêm thần kinh và các rối loạn chuyển hóa (Francelin & cs., 2021), kết quả hiện tại cho thấy sự thay đổi trạng thái dinh dưỡng cấp tính do nhịn ăn và cho ăn lại chưa đủ để gây ra biến động rõ rệt ở mức phiên mã BACE1 tại vùng dưới đồi.

Đáng chú ý, sự tương đồng của kết quả khi chuẩn hóa theo β-actin và GAPDH cho thấy trong trường hợp BACE1, việc lựa chọn hai gen nội chuẩn này không làm thay đổi kết luận chính về xu hướng biểu hiện trong mô hình nghiên cứu. Như vậy, trái với BDNF nếu có sự khác biệt giữa các phương pháp chuẩn hóa, BACE1 thể hiện đáp ứng phiên mã tương đối ổn định đối với thay đổi dinh dưỡng cấp tính trong khoảng thời gian khảo sát.



Ghi chú: Sự khác biệt giữa các nhóm được đánh giá bằng phân tích phương sai một yếu tố (one-way ANOVA); ns: Không có ý nghĩa thống kê.

Hình 2. Mức độ biểu hiện mRNA tương đối của BACE1 tại vùng dưới đồi ở các nhóm chuột đối chứng, nhịn ăn 48 giờ và cho ăn lại 4 giờ sau nhịn ăn, được chuẩn hóa theo β-actin hoặc GAPDH (n = 4-5 con/nhóm)

Kết quả không ghi nhận sự thay đổi biểu hiện mRNA BACE1 tại vùng dưới đồi sau 48 giờ nhịn ăn và 4 giờ cho ăn lại không nhất thiết cho thấy BACE1 hoàn toàn không đáp ứng với thay đổi trạng thái dinh dưỡng. Sự điều hòa BACE1 có thể mang tính đặc hiệu mô; do đó, những thay đổi không rõ tại vùng dưới đồi vẫn có thể xuất hiện ở các vùng não khác như hồi hải mã hoặc vỏ não, là những vùng được quan tâm nhiều hơn trong nghiên cứu về xử lý APP, quá trình amyloid hóa và thoái hóa thần kinh (Akyüz & Aslan, 2025).

Bên cạnh đó, hoạt động sinh học của BACE1 không chỉ phụ thuộc vào mức độ mRNA mà còn chịu sự điều hòa ở các mức sau phiên mã và sau dịch mã, bao gồm độ ổn định mRNA, hiệu quả dịch mã, sự phân bố nội bào của protein và hoạt tính enzyme (De Pietri Tonelli & cs., 2004; Vassar & cs., 2009). Vì vậy, không thay đổi biểu hiện mRNA chưa đủ để loại trừ khả năng BACE1 có những biến đổi ở mức protein hoặc hoạt tính enzyme dưới tác động của nhịn ăn và cho ăn lại.

Đáng lưu ý, kết quả BACE1 cho thấy sự nhất quán khi sử dụng hai gen nội chuẩn: biểu hiện mRNA không thay đổi có ý nghĩa thống kê khi chuẩn hóa theo cả β-actin và GAPDH. Điều này cho thấy kết luận đối với BACE1 tương đối ổn định và ít phụ thuộc vào lựa chọn gen nội chuẩn trong điều kiện thí nghiệm hiện tại. Kết quả này cũng khác với BDNF, qua đó cho thấy ảnh hưởng của gen nội chuẩn có thể phụ thuộc vào từng gen đích. Trong khi lựa chọn gen nội chuẩn có thể ảnh hưởng đến khả năng phát hiện những thay đổi biểu hiện tinh tế của BDNF, việc sử dụng β-actin hoặc GAPDH không làm thay đổi kết luận về BACE1.

Như vậy, kết quả BACE1 cho thấy việc lựa chọn β-actin hay GAPDH làm gen nội chuẩn không làm thay đổi kết luận sinh học về biểu hiện BACE1 tại vùng dưới đồi trong mô hình nhịn ăn 48 giờ - cho ăn lại 4 giờ. Tuy nhiên, do nghiên cứu mới đánh giá mRNA tại một vùng não và ở các thời điểm giới hạn, cần có thêm các nghiên cứu đánh giá nhiều thời điểm, vùng não khác nhau và các chỉ tiêu ở mức protein hoặc hoạt tính enzyme để xác định đầy đủ hơn đáp ứng của BACE1 đối với thay đổi trạng thái dinh dưỡng.

Tóm lại, nghiên cứu này cũng có một số hạn chế cần được xem xét. Thứ nhất, phân tích chỉ được thực hiện trên mRNA tại vùng dưới đồi, do đó chưa phản ánh đầy đủ những thay đổi có thể xảy ra ở mức protein hoặc tại các vùng não khác

như vùng hồi hải mã hoặc vỏ não. Thứ hai, việc sử dụng hai thời điểm xử lý (48 giờ nhịn ăn và 4 giờ cho ăn lại) chỉ cung cấp cái nhìn giới hạn về động học đáp ứng của các gen đích. Những thay đổi sớm hơn hoặc muộn hơn sau cho ăn lại có thể chưa được ghi nhận. Thứ ba, nghiên cứu mới chỉ so sánh hai gen nội chuẩn phổ biến mà chưa thực hiện xác thực hệ thống trên một tập hợp rộng hơn các gen tham chiếu. Do đó, các nghiên cứu tiếp theo cần mở rộng thời gian theo dõi, khảo sát thêm nhiều vùng não, kết hợp phân tích ở mức protein, hoạt tính enzyme và các chỉ dấu chức năng thần kinh, đồng thời thực hiện đánh giá chuẩn hóa trên nhiều reference genes để tối ưu hóa độ tin cậy của dữ liệu RT-qPCR.

4. KẾT LUẬN

Trong mô hình nhịn ăn 48 giờ - cho ăn lại 4 giờ ở chuột, β-actin và GAPDH không cho kết quả chuẩn hóa tương đương trong phân tích RT-qPCR tại vùng dưới đồi. Sự khác biệt này thể hiện rõ đối với BDNF, trong khi BACE1 cho kết quả ổn định hơn giữa hai gen nội chuẩn. Những phát hiện này cho thấy β-actin có thể là gen nội chuẩn phù hợp hơn GAPDH để đánh giá các gen nhạy cảm với trạng thái chuyển hóa trong mô hình nghiên cứu hiện tại, đồng thời nhấn mạnh tầm quan trọng của việc xác thực gen nội chuẩn nhằm đảm bảo độ chính xác trong diễn giải dữ liệu biểu hiện gen.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới cô Trần Thị Ánh vì sự hỗ trợ quý báu trong quá trình thực hiện các nội dung của nghiên cứu, đặc biệt là trong công tác chăm sóc và quản lý động vật thí nghiệm, góp phần quan trọng vào việc hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Akyüz E. & Aslan F.Ş. (2025). Role of the Hippocampus in Cognition. *In*: The Human Hippocampus: Development, Neuroanatomy, Neurophysiology, Neuropathology and Surgery. Turgut, M., Acer, N., Turgut, A. T. & Di Rocco, C. (eds.). Springer Nature Switzerland Cham. pp. 205-214.

Bombassaro B., Araujo E.P. & Velloso L.A. (2024). The hypothalamus as the central regulator of energy balance and its impact on current and future obesity treatments. Arch Endocrinol Metab. 68(Spec Issue): e240082.

Brigadski T. & Leßmann V. (2020). The physiology of regulated BDNF release. Cell and Tissue Research. 382(1): 15-45.

Bustin S.A., Ruijter J.M., van den Hoff M.J.B., Kubista M., Pfaffl M.W., Shipley G.L., Tran N., Rödiger S., Untergasser A., Mueller R., Nolan T., Milavec M., Burns M.J., Huggett J.F., Vandesompele J. & Wittwer C.T. (2025). MIQE 2.0: Revision of the Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments Guidelines. Clinical Chemistry. 71(6): 634-651.

De Pietri Tonelli D., Mihailovich M., Di Cesare A., Codazzi F., Grohovaz F. & Zacchetti D. (2004). Translational regulation of BACE-1 expression in neuronal and non-neuronal cells. Nucleic Acids Research. 32(5): 1808-1817.

Francelin C., Mitter S.K., Qian Q., Barodia S.K., Ip C., Qi X., Gu H., Quigley J., Goldberg M.S., Grant M.B. & Boulton M.E. (2021). BACE1 Inhibition Increases Susceptibility to Oxidative Stress by Promoting Mitochondrial Damage. Antioxidants. 10(10): 1539.

Fukuchi M., Izumi H., Mori H., Kiyama M., Otsuka S., Maki S., Maehata Y., Tabuchi A. & Tsuda M. (2017). Visualizing changes in brain-derived neurotrophic factor (BDNF) expression using bioluminescence imaging in living mice. Sci Rep. 7(1): 4949.

Harvey T. & Rios M. (2024). The Role of BDNF and TrkB in the Central Control of Energy and Glucose Balance: An Update. Biomolecules. 14(4): 424.

Herman R., Trsan J., Lipar L., Jensterle M. & Janez A. (2025). Endocrine Adaptations to Prolonged Fasting: From Physiology, Clinical Uncertainties, Translational Challenges to Healthspan Implications. Nutrients. 17(24).

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.

Karimi R., Cleven A., Elbarbry F. & Hoang H. (2021). The Impact of Fasting on Major Metabolic Pathways of Macronutrients and Pharmacokinetics Steps of Drugs. European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics. 46(1): 25-39.

Li X., Li X., Wu Z., Wang K., Qiao R., Han X., Li X., Yang F., Yu T., Wang T. & Bai J. (2025). Recent Advances in Nutritional Requirements and Metabolic Homeostasis Regulation of Animals Under Stress Conditions. 15(23): 3412

Livak K.J. & Schmittgen T D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods. 25(4): 402-8.

Miranda M., Morici J.F., Zanoni M.B. & Bekinschtein P. (2019). Brain-Derived Neurotrophic Factor: A Key Molecule for Memory in the Healthy and the Pathological Brain. Front Cell Neurosci. 13: 363.

Numakawa T. & Kajihara R. (2025). The Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor as an Essential Mediator in Neuronal Functions and the Therapeutic Potential of Its Mimetics for Neuroprotection in Neurologic and Psychiatric Disorders. Molecules. 30(4): 848.

Paxinos G. & Watson C. (2014). The rat brain in stereotaxic coordinates. Elsevier, Academic Press. Amsterdam.

Pedroso J.A.B., Wasinski F. & Donato J. (2020). Prolonged fasting induces long-lasting metabolic consequences in mice. The Journal of Nutritional Biochemistry. 84: 108457.

Seidler N.W. (2013). GAPDH and Intermediary Metabolism. In: GAPDH: Biological Properties and Diversity. Seidler, N. W. (ed.). Springer Netherlands Dordrecht. pp. 37-59s.

Taylor H.A., Przemylska L., Clavane E.M. & Meakin P.J. (2022). BACE1: More than just a β-secretase. Obes Rev. 23(7): e13430.

Ummay Sumaya W., Begum R.A., Alam S., Jahan H., Al Mamun A. & Muid K.A. (2025). Insights into the Structural and Functional Properties of Actin Isoforms in Different Model Organisms. Biology Bulletin. 52(5): 193.

Vandesompele J., De Preter K., Pattyn F., Poppe B., Van Roy N., De Paepe A. & Speleman F. (2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. Genome Biol. 3(7): Research0034.

Vassar R., Kovacs D.M., Yan R. & Wong P.C. (2009). The â-Secretase Enzyme BACE in Health and Alzheimer's Disease: Regulation, Cell Biology, Function, and Therapeutic Potential. The Journal of Neuroscience. 29(41): 12787-12794.

Wagner E.M. (2013). Monitoring Gene Expression: Quantitative Real-Time RT-PCR. In: Lipoproteins and Cardiovascular Disease: Methods and Protocols. Freeman, L. A. (ed.). Humana Press Totowa, NJ: 19-45 pages.

Wang L., Liu J., Wang Q., Jiang H., Zeng L., Li Z. & Liu R. (2019). MicroRNA-200a-3p Mediates Neuroprotection in Alzheimer-Related Deficits and Attenuates Amyloid-Beta Overproduction and Tau Hyperphosphorylation via Coregulating BACE1 and PRKACB. Front Pharmacol. 10: 806.

Yan R. & Vassar R. (2014). Targeting the β secretase BACE1 for Alzheimer's disease therapy. The Lancet Neurology. 13(3): 319-329.

Zhang X. & Song W. (2013). The role of APP and BACE1 trafficking in APP processing and amyloid-β generation. Alzheimer's Research & Therapy. 5(5): 46.