

NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG CHYLOMICRON TÀN DƯ TRONG HỆ VẬN CHUYỂN THUỐC TỚI GAN

Đến tòa soạn 17-11-2022

Phan Thị Kiều Trang^{1,2}, Phạm Thu Uyên³, Đỗ Thị Khánh Vy³, Nguyễn Thành Dương^{1,3,*}

¹ Học viện Khoa học và Công nghệ Hà Nội, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

² Viện nghiên cứu Tế bào gốc và Công nghệ Gen Vinmec

³ Viện Kỹ thuật nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

*Email: ntduong182@gmail.com

SUMMARY

APPLICATION OF CHYLOMICRON REMNANTS AS CARRIER FOR DRUG DELIVERY TO LIVER

Chylomicrons (CM) are the largest lipid particles in the blood which consist largely of triglycerides. Chylomicron remnants (CMr) are formed when peripheral tissue lipids are removed from chylomicrons and bind to receptors on the surface of hepatocyte. Due to its properties, chylomicron remnants can serve as a great vehicle for drug delivery. This paper focuses on studying a three-component CMr - Toc - siRNA system, thereby improving the effectiveness of fatty liver disease treatments and reducing the effects unwanted side. The CMr – Toc – siRNA complexes were synthesized by lipophilic binding of the tocopherol residue of Toc-siRNA and CMr. The system was, then, tested for cytotoxicity by incubation with the Live/Dead assay kit and testing in mice to determine total RNA. According to research, chylomicron remnants have an average diameter of 140-143 nm determined by dynamic light scattering (DLS) measurement and contain apoB48 and apoE. With a cell viability of approximately 92.2%, the chylomicron remnant system carrying siRNA is highly biologically safe. Results from qRT-PCR showed that CMr-Toc-siRNA was effective at delivering siRNA to liver cells via chylomicron-mediated siRNA delivery, since endogenous apoB mRNA levels decreased by more than 30%.

Keywords: Apolipoprotein B, chylomicron remnants, drug delivery system, lymph

1. GIỚI THIỆU

Gan nhiễm mỡ là căn bệnh có lượng mỡ tích tụ hơn 5% tổng trọng lượng tế bào gan khiến gan phình ra, việc tích tụ triacylglycerol có thể giúp bảo vệ gan nhưng sự có mặt của các lipid trong gan một thời gian dài có thể khiến gan tổn thương, viêm và phát triển thành gan nhiễm mỡ [1,2,3]. Bệnh nhân mắc bệnh gan nhiễm mỡ có thể phát triển thành xơ gan, thậm chí ung thư gan gây nguy hiểm đến tính mạng [4]. Thống kê cơ sở dữ liệu Cochrane và Scopus cho thấy tỷ lệ mắc bệnh gan nhiễm mỡ ở các

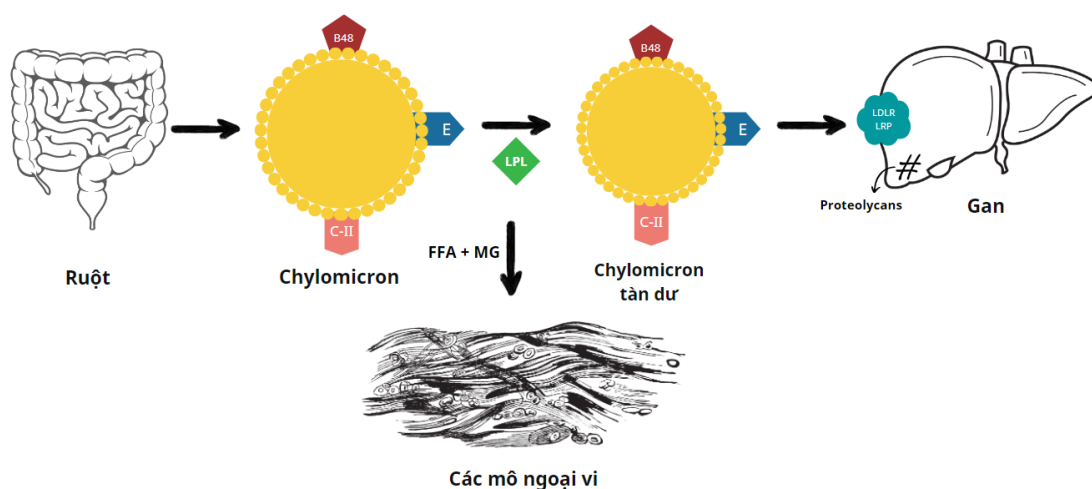
nước phương Tây là 20-30%, còn trên toàn cầu là 2-4 % [5]. Mặc dù tỷ lệ mắc gan nhiễm mỡ ở các nước châu Á thấp hơn so với các nước phương Tây, nhưng nó đang gia tăng nhanh chóng trong những năm gần đây do sự gia tăng của bệnh béo phì và tiểu đường. Do đó, cần có các chiến lược phòng chống và kiểm soát tốt và các phương pháp nghiên cứu để chữa khỏi căn bệnh này [6].

Lipoprotein là một loại hợp chất được tạo thành từ lipid và protein [7] có vai trò điều hòa triglycerid và cholesterol trong máu. Dựa vào

tỷ trọng, lipoprotein được chia thành 5 loại bao gồm chylomicron (CM), VLDL (lipoprotein tỷ trọng rất thấp), LDL (lipoprotein tỷ trọng thấp), IDL (lipoprotein tỷ trọng trung bình), HDL (lipoprotein tỷ trọng cao) [7]. Trong đó, chylomicrons là lipoprotein có tỷ lệ lipid cao nhất và ít đặc nhất ($<0,95$) chứa 1-2% protein, 85-88% triglycerid, 8% phospholipid, 3% cholesteryl este và 1% cholesterol. Trong quá trình di chuyển trong hệ tuần hoàn, chylomicrons loại bỏ các chất béo từ các mô ngoại vi, tạo thành các chylomicrons tàn dư [8] liên kết với các thụ thể trên bề mặt tế bào gan [9]. Chylomicron tàn dư có tiềm năng lớn trong việc đưa các phân tử thuốc đến gan một cách có chọn lọc. Nghiên cứu của Annie và cộng sự đề cập tới sử dụng chylomicron để vận chuyển Primaquine (PQ) đến gan nhằm chữa trị ung thư gan giai đoạn cuối [10]. Kết quả cho thấy PQ kết hợp chylomicron ổn định hơn PQ tự do khi được ủ trong huyết thanh. Cuối cùng, khi tiêm vào tĩnh mạch của chuột, chylomicron kết hợp với PQ dẫn đến tăng đáng kể sự tích tụ PQ trong gan so với việc tiêm PQ tự do.

Liệu pháp can thiệp RNA (RNA interference hay RNAi) là quá trình sinh học làm vô hiệu hoá một gen mục tiêu [11], giúp kiểm soát được các gen đang hoạt động. Có nhiều loại

RNA với tên gọi khác nhau như miRNA (microRNA), siRNA (small interfering RNA), shRNA (short hairpin RNA) và hoạt động đa dạng các chức năng trong tế bào. Trong đó, siRNA được sử dụng khá phổ biến trong liệu pháp gen mang lại rất nhiều tiềm năng trong việc điều trị ung thư [12], bệnh khô mắt [13] và gần đây nhất là điều trị SAR COVID-19 [14]. Để nghiên cứu ứng dụng siRNA trong điều trị gan nhiễm mỡ, Yokota và cộng sự đã sử dụng siRNA liên hợp với tocopherol nhắm vào apolipoprotein B (apoB) để làm giảm hiệu quả mRNA apoB nội sinh (mRNA) trong gan [15]. Mục đích của nghiên cứu này nhằm cung cấp một phương pháp hiệu quả, an toàn để sử dụng tocopherol và là bước quan trọng trong việc sử dụng siRNA tổng hợp như một hệ thống hứa hẹn cho liệu pháp gen. Tuy nhiên, phương pháp này có những hạn chế như tocopherol không hướng đích, làm suy yếu một phần tác dụng của siRNA khi đến gan. Do đó, trong bài báo này chúng tôi tập trung nghiên cứu sử dụng chylomicron tàn dư để vận chuyển siRNA liên hợp tocopherol đến gan. Hệ thống vận chuyển này giúp cải thiện các hạn chế của tocopherol, tăng hiệu quả điều trị và giảm thiểu các tác dụng phụ không mong muốn.

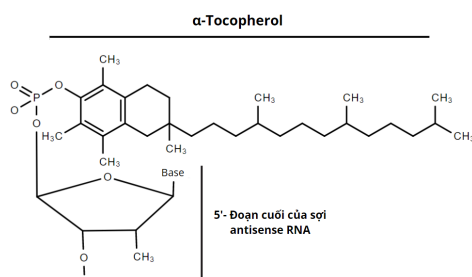


Hình 1. Quá trình hình thành chylomicron tàn dư từ ruột và định hướng tới gan (FFA: các acid béo tự do, MG: monoglyceride)

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Toc – siRNA được cung cấp từ Đại học Y và Nha khoa Tokyo (Tokyo, Nhật Bản) có cấu trúc như hình 2. Sợi sense và sợi antisense của siBACE có trình tự như sau: siBACE sense, 5'-GAAcCuAuGCGAuGCGAAuGUUUUAU*A*C-3'; antisense, 5'-guauaaACAuUCGCAuCGCAUAgGUuC * U * U-3'. α -Tocopherol và fluorophore Cy3 được liên kết cộng hóa trị với đầu 5 của sợi sense và sợi antisense.



Hình 2. Cấu trúc hóa học của α -tocopherol – siRNA

Cấu trúc của mạch apoB-1 Toc – siRNA có trình tự như sau: sense strand (27 RNAs to 21 RNAs), 5'-GuCAuCACACUGAAuACCAAU| GCuG'A-3; sợi antisense (Toc-29 RNAs to 21 RNAs), 5'-Toc-uoc'A'gc'AU|UGGuAuUCAGUGuGAuGAc'A'C-3'. Đối với mạch điều khiển Toc-siRNA có trình tự là : Sợi sense (27 RNAs to 21 RNAs), 5'-GaACcUAUG CgAUGcGAAUGU| UUauA'C-3'; Sợi antisense (Toc-29 RNAs to 21 RNAs), 5'-Toc-gua'U'aa'AC|AUUcGcAUCGCAuAGgUUC'U'U-3'. D,L- α -tocopherol được cung cấp từ công ty Tokyo Kasei (Nhật Bản). Chất đánh dấu Cy3 được cung cấp từ công ty Hokkaido Science System (Nhật Bản). Chuột tám tuần tuổi được cung cấp bởi Học viện Quân Y (Việt Nam). Tế bào Hepa 1-6 được mua từ ATTC (Hoa Kỳ). Môi trường nuôi cấy tế bào DMEM được cung cấp bởi Công ty Sigma-Aldrich (Hoa Kỳ). Huyết thanh bào thai bò, Phalloidin Alexa-488 và Random Hexamers được mua từ Công ty

Invitrogen (Hoa Kỳ). Isogen được cung cấp từ Công ty Nippon Gene (Nhật Bản). TaqMan Universal PCR Master Mix, đoạn mồi cho mRNA apoB của chuột được mua từ Công ty Applied Biosystems (Hoa Kỳ).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập chylomicron từ bạch huyết

Để phân lập chylomicron, chuột được cung cấp một lượng dầu ngô (1 mL, chứa α -tocopherol (4 mg/mL) làm chất chống oxy hóa) thông qua ống dạ dày. Sau khoảng 1 tiếng, tiến hành gây mê ống ngực bằng natri pentobarbital (liều lượng 60 mg/kg thể trọng). Nhũ chấp được thu thập trong khoảng 15 đến 18 giờ trong dung dịch ampicillin (0,1 mg/mL), xếp lớp dưới NaCl 0,9% (1,006 g/mL) chứa trong các ống polyallomer (6,5 mL) và được ly tâm siêu tốc trong 6×10^5 g/phút với roto góc cố định ở 12°C . Các chylomicrons lớn được thu thập từ phần trên cùng (1–1,5 mL) của ống polyallomer. Chuột được thắt tất cả các mạch chính cung cấp cho gan và ruột, sau đó các chylomicron (chứa 30–40 μmol triacylglycerol và 50 mg glucose bổ sung) được tiêm vào tĩnh mạch chuột và để lưu thông trong 45 phút. Sau đó, huyết thanh được phân lập từ mẫu máu bằng cách ly tâm (2500 g, 15 phút, 12°C). Tiếp theo, huyết thanh được ly tâm siêu tốc trong 6×10^7 g/phút thu được chylomicron tàn dư ở phần trên cùng (1–1,5 mL). Chylomicron tàn dư được xếp lớp dưới NaCl 0,9% (1,006 g/mL) sau đó làm sạch bằng cách ly tâm siêu tốc với tốc độ $3,2 \times 10^7$ g/phút ở 12°C . Chylomicron tàn dư được làm sạch tương đối không chứa lipoprotein có mật độ trung bình và rất thấp, được phân lập từ phần trên cùng (1–1,5 mL) bằng máy cắt ống Beckman.

2.2.2. Khảo sát kích thước chylomicron

Kích thước trung bình và hệ số đa phân tán (PDI) của chylomicron tàn dư được xác định theo phương pháp tán xạ ánh sáng động (DLS),

thực hiện trên máy Horiba SZ-100 (Nhật Bản) ở 25°C.

2.2.3. Tổng hợp chylomicron vận chuyển siRNA

Hệ chylomicron tàn dư mang siRNA được điều chế bằng cách phối trộn giữa hai dung dịch chylomicron tàn dư và dung dịch Toc – siRNA. Trộn đều và thu lấy hỗn hợp hệ 3 thành phần Chylomicron tàn dư – Toc – siRNA (CMr – Toc – siRNA).

2.2.4. Nuôi cấy tế bào

Tế bào Hepa 1 - 6 được nuôi cấy trong môi trường DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) có bổ sung 10% huyết thanh bào thai bò và 1% penicillin/streptomycin ở 37 °C trong CO₂ 5%. Môi trường được thay mới thường xuyên mỗi 3 ngày.

2.2.5. Xác định mRNA

Tổng số RNA được chiết xuất từ tế bào nuôi cấy hoặc gan chuột sử dụng Isogen. RNA được phiên mã ngược với Superscript III và hexamers ngẫu nhiên. qRT-PCR được thực hiện trên 1,5 µg DNA bổ sung bằng cách sử dụng TaqMan Universal PCR Master Mix theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các điều kiện khuếch đại là 40 chu kỳ biến tính ở 95 °C trong 15 giây và ủ ở 60 °C trong 60 giây với máy dò trình tự ABI PRISM 7700.

2.2.6. Thử nghiệm độc tế bào

Tế bào Hepa được gieo với nồng độ 2×10^4 tế bào trên mỗi giếng của đĩa 96 giếng và được bổ sung 100 µL môi trường nuôi cấy. Sau khi ủ qua đêm, CMr – Toc – siRNA và nhóm đối chứng có nồng độ từ 0 đến 20 µM lần lượt được thêm vào đĩa nuôi cấy và ủ tiếp trong 24 giờ. Sau đó, môi trường trong mỗi giếng đã được loại bỏ và bổ sung vào 50 µL dung dịch thuốc thử MTT 1,0 mg/mL. Tế bào được ủ tiếp trong 2 giờ ở 37 °C bằng bộ xét nghiệm Live/Dead (Invitrogen R37601) trước khi kết quả được chụp bằng kính hiển vi huỳnh quang Olympus IX83 (Nhật Bản) và phân tích bằng

phần mềm ImageJ (Viện Y tế Quốc gia, Maryland, Hoa Kỳ).

2.2.7. Thử nghiệm trên chuột

Để phân tích khả năng vận chuyển siRNA đến gan của hệ CMr – Toc – siRNA, chuột được tiêm vào tĩnh mạch đuôi một lượng 8 mg/kg Cy3 có thể chứa α -tocopherol ở trong dung dịch 0,25 mL Maltose 10%. Một giờ sau khi tiêm vào tĩnh mạch, chuột bị giết và lấy mẫu gan. Tổng số RNA được xác định như trên.

2.2.8. Thống kê và xử lý số liệu

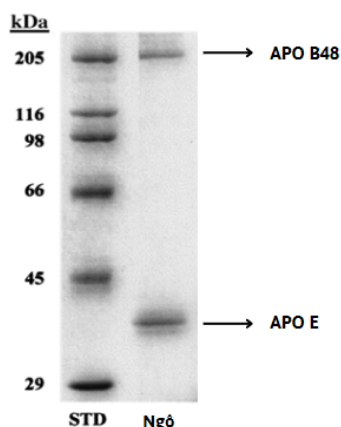
Số liệu được thống kê và xử lý bằng phần mềm OriginPro 2022 (OriginLab, MA, USA). Tất cả số liệu được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ SD và có độ lặp lại 3 lần.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

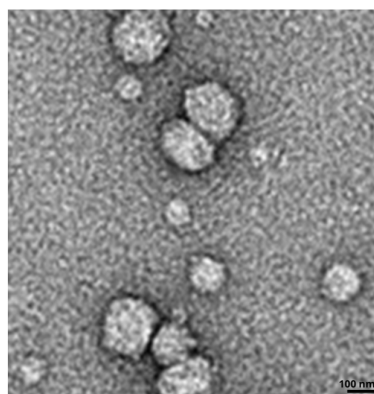
3.1. Một số đặc điểm của chylomicron tàn dư phân lập từ bạch huyết

Kết quả cho thấy hàm lượng triacylglycerol ($1,10 \pm 0,23$ mm), tổng cholesterol ($0,21 \pm 0,02$ mm) và hàm lượng protein ($89,26 \pm 10,48$ µg/mL). Tỷ lệ tổng triacylglycerol trên tổng cholesterol (TG : TC) thấp (5,2 : 1) phản ánh lượng dư thừa cholesterol.

Dưới kính hiển vi điện tử quét, các thành phần chylomicron tàn dư có hình dạng tròn, với đường kính trung bình 140 – 143 nm. Thành phần apolipoprotein của chylomicron tàn dư có nguồn gốc dầu ngô được thể hiện trong (Hình 3a). Kết quả cho thấy một kiểu mẫu điển hình của chylomicron tàn dư, chứa apoB48 và apoE. Không phát hiện được apoB100 hoặc apoC (hoặc bất kỳ apolipoprotein nào khác) trong chế phẩm. Kết quả này tương đồng với các nghiên cứu trước đây [16 -18]. Do chylomicron tàn dư được hình thành khi chylomicron bị rút dần triglycerid nên thành phần bề mặt của chylomicron tàn dư có chứa cholesterol, phospholipid. Các apo A và apo CII sẽ được chuyển giao cho HDL- C đồng thời chylomicron tàn dư nhận cholesterol este từ HDL- C được vận chuyển về gan.



(a)

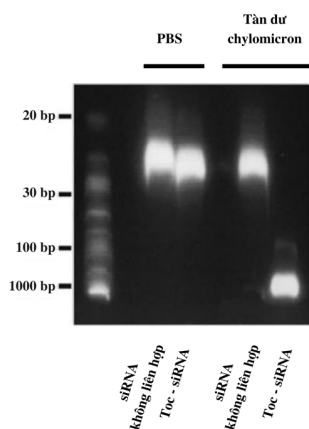


(b)

Hình 3. Một số đặc điểm của chylomicron tàn dư phân lập được từ bạch huyết
(a) Thành phần chylomicron tàn dư được phân lập khi cho chuột sử dụng dầu ngô
(b) Ảnh quét kính hiển vi điện tử chylomicron tàn dư

3.2. Hệ chylomicron tàn dư mang siRNA

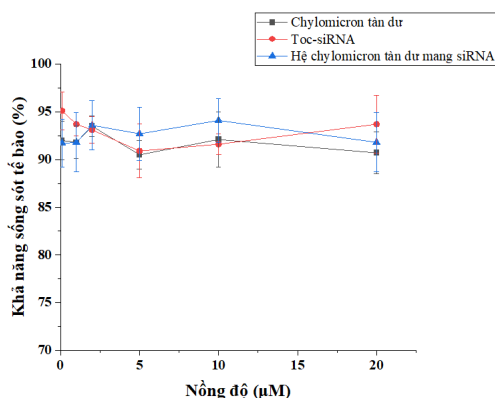
Để chứng minh sự liên kết của Toc-siRNA và chylomicron tàn dư, chúng tôi đã tiến hành thử nghiệm xê dịch gel để đánh giá sự tương tác giữa hai phân tử này. Thêm 100 pmol siRNA không liên hợp hoặc Toc-siRNA vào 10 mL dung dịch muối đệm phosphat (PBS) hoặc dung dịch chylomicron tàn dư và sau đó ủ các mẫu ở 37 °C trong 30 phút. Kết quả cho thấy hỗn hợp Toc-siRNA được ủ với phân đoạn chylomicron tàn dư có tính xê dịch thấp hơn nhiều so với Toc-siRNA được ủ với PBS. Kết quả này cho thấy sự tương tác của Toc-siRNA với chylomicron tàn dư là do sự liên kết ưa béo bởi gốc tocopherol của Toc-siRNA (Hình 4). Về mặt cấu trúc tocopherol khá tương đồng với cholesterol nên sự tương tác giữa chylomicron tàn dư và Toc – siRNA khá dễ dàng [19].



Hình 4. Khả năng liên hợp giữa Toc – siRNA và chylomicron tàn dư

3.3. Độ an toàn sinh học của hệ liên hợp CMr – Toc – siRNA

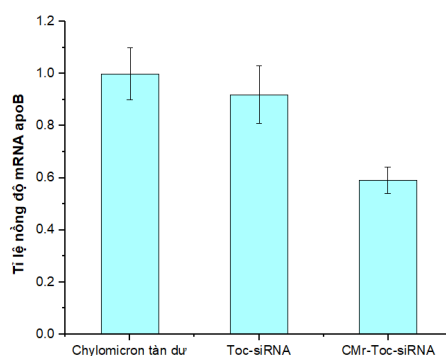
Độ an toàn sinh học của hệ chylomicron tàn dư mang siRNA được thử nghiệm và đánh giá bằng khả năng sống sót tế bào Hepa. Các nồng độ khác nhau của chylomicron tàn dư, Toc-siRNA và hệ chylomicron tàn dư mang siRNA, đều được kiểm tra với kết quả được trình bày trong Hình 5. Với nồng độ thấp 0,1 μM, tất cả các thành phần đều cho thấy khả năng sống sót tế bào xấp xỉ 92,2%. Khả năng sống sót của tế bào Hepa có sự biến động nhẹ khi nồng độ thuốc tăng dần lên 20 μM nhưng tỷ lệ này đều lớn hơn 90%. Kết quả này chứng minh rằng hệ chylomicron tàn dư mang siRNA có độ an toàn cao sinh học cao. So sánh với các hệ dẫn truyền thuốc khác, hệ chylomicron tàn dư mang siRNA có khả năng sống sót tế bào cao hơn, giúp giảm thiểu tác dụng phụ trong điều trị [20]. Ngoài ra khả năng hướng đích tới gan của hệ là ưu điểm đáng chú giúp nâng cao hiệu quả trong đưa thuốc hoặc các phân tử sinh học tới vị trí mong muốn.



Hình 5. Thử nghiệm an toàn sinh học của hệ chylomicron tàn dư mang siRNA trên tế bào Hepa 1-6

3.4. Thử nghiệm khả năng giảm gan nhiễm mỡ của CMr – Toc – siRNA trên chuột

Để đánh giá khả năng ức chế gen của phức hợp CMr – Toc – siRNA, nồng độ mRNA apoB nội sinh trong gan được khảo sát. Phức hợp CMr – Toc – siRNA được chuẩn bị và sau đó tiêm vào chuột bằng phương pháp tiêm nội tủy. Gan được chiết xuất 24 giờ sau khi tiêm, đồng nhất và xét nghiệm nồng độ apoB mRNA bằng cách sử dụng phản ứng chuỗi polymerase phiên mã ngược (qRT-PCR). Kết quả cho thấy, ở nồng độ 8 mg/kg apoB CMr – Toc – siRNA ức chế đáng kể mRNA apoB trong gan, giảm hơn 40% so với dung dịch chỉ có chylomicron tàn dư (Hình 6). So với Toc-siRNA, mức độ mRNA apoB giảm hơn 30%. Việc giảm mRNA apoB ở gan làm giảm nồng độ lipoprotein tỷ trọng rất thấp (VLDL) của gan, dẫn đến giảm hàm lượng triacylglycerol (TG), giảm nồng độ cholesterol và tăng hàm lượng lipoprotein trong gan. Chính vì vậy, việc mức độ mRNA apoB giảm nhiều nhất khi sử dụng phức hợp CMr – Toc – siRNA cho thấy công dụng của CMr – Toc – siRNA đối với việc phân phối siRNA qua trung gian chylomicron đến gan. So với nghiên cứu trước đó, việc sử dụng phức hợp CMr – Toc – siRNA cho thấy hiệu quả hơn Toc – siRNA đơn lẻ [21]. Điều này có thể do khả năng hướng đích của CMr giúp nâng cao hiệu suất đưa thuốc tới vị trí mong muốn.



Hình 6. Tỉ lệ nồng độ mRNA apoB tương đối của CMr-Toc-siRNA

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy các thành phần chylomicron tàn dư có hình dạng tròn với đường kính trung bình từ 140 đến 143 nm. Thành phần apolipoprotein của chylomicron tàn dư có nguồn gốc dầu ngô chứa apoB48 và apoE là một kiểu mẫu điển hình của chylomicron tàn dư. Hàm lượng thành phần lần lượt là triacylglycerol ($1,10 \pm 0,23$ mm), tổng cholesterol ($0,21 \pm 0,02$ mm), protein ($89,26 \pm 10,48$ μg/mL) và tỉ lệ tổng triacylglycerol trên tổng cholesterol (TG : TC) (5,2 : 1). Kết quả thử nghiệm xê dịch gel cho thấy sự liên kết với gốc tocopherol của Toc-siRNA và tạo hệ CMr-Toc-siRNA. Độ an toàn sinh học của hệ chylomicron tàn dư mang siRNA được thử nghiệm và đánh giá bằng khả năng sống sót tế bào Hepa 1-6 với nồng độ thấp 0,1 μM. Tất cả các thành phần đều cho thấy khả năng sống sót tế bào xấp xỉ 92,2 % chứng minh hệ chylomicron tàn dư mang siRNA có độ an toàn sinh học cao. Bên cạnh đó, kết quả đánh giá mức độ mRNA apoB nội sinh trong gan giảm hơn 30% cho thấy tác dụng của CMr – Toc – siRNA đối với việc vận chuyển siRNA đến gan. Từ các kết quả trên, hệ CMr – Toc – siRNA cho thấy khả năng dễ vận chuyển siRNA tới gan, khắc phục tốt các hạn chế của tocopherol và tăng tính hiệu quả trong quá trình điều trị gan nhiễm mỡ.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí từ đề tài GUST.STS.ĐT2020-SH11

TÀI LIỆU THAM KHẢO

K. Hokkanen, A. Tirronen, and S. Ylä-Herttuala, (2019). Intestinal lymphatic vessels and their role in chylomicron absorption and

- lipid homeostasis. *Curr. Opin. Lipidol.*, **vol. 30**, no. 5, pp. 370–376.
- [2] J. M. Kneeman, J. Misdraji, and K. E. Corey, May (2012). Secondary causes of nonalcoholic fatty liver disease. *Ther. Adv. Gastroenterol.*, **vol. 5**, no. 3, pp. 199–207
- [3] Nassir F, Rector RS, Hammoud GM, Ibdah JA, (2015). Pathogenesis and Prevention of Hepatic Steatosis. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*, **11(3)**, 167-75,
- [4] Điều Trị Ung Thư Gan Nguyên Phát. Available at <https://www.0013.trucbachconcert.com/topic/dieu-tri-ung-thu-gan-nguyen-phat> (accessed Nov. 16, 2022).
- [5] Ashtari S, Pourhoseingholi MA, Zali MR, (2015). Non-alcohol fatty liver disease in Asia: Prevention and planning. *World J Hepatol*, **7(13)**, 1788-1796.
- [6] M. S. Nussbaum and J. E. Fischer, (Jan 1991). Pathogenesis of hepatic steatosis during total parenteral nutrition. *Surg. Annu.*, **vol. 23** Pt 2, pp. 1–11.
- [7] Lombardi R, Onali S, Thorburn D, Davidson BR, Gurusamy KS, Tsochatzis E., (2017). Pharmacological interventions for non-alcohol related fatty liver disease (NAFLD). *Cochrane Database of Systematic Reviews*, **Issue 3**. Art. No.: CD011640.
- [8] Cấu tạo và phân loại của lipoprotein trong cơ thể. Available at <https://trungtamthuoc.com/bai-viet/cau-tao-va-phan-loai-liporotein> (accessed Nov. 16, 2022).
- [9] Rahmany S, Jialal I, (2022). Biochemistry, Chylomicron. In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- [10] Dierling AM, Cui Z, (2005). Targeting primaquine into liver using chylomicron emulsions for potential vivax malaria therapy. *Int J Pharm.*, **303(1-2)**, 143-52.
- [11] Borensztajn J, Getz GS, Kotlar TJ, (1998). Uptake of chylomicron remnants by the liver: further evidence for the modulating role of phospholipids. *J Lipid Res.*, **29(8)**, 1087-1096.
- [12] Devi GR, (2006). siRNA-based approaches in cancer therapy. *Cancer Gene Ther.*, **13(9)**, 819-829.
- [13] Y. Xin, M. Huang, W. W. Guo, Q. Huang, L. zhen Zhang, and G. Jiang, (Jul. 2017). Nano-based delivery of RNAi in cancer therapy. *Mol. Cancer*, **vol. 16**, no. 1, p. 134.
- [14] J. Moreno-Montañés, A.-M. Bleau, and A. I. Jimenez, (Apr. 2018). Tivanisirán, a novel siRNA for the treatment of dry eye disease. *Expert Opin. Investig. Drugs*, **vol. 27**, no. 4, pp. 421–426.
- [15] A. Idris et al., (Jul. 2021). A SARS-CoV-2 targeted siRNA-nanoparticle therapy for COVID-19. *Mol. Ther.*, **vol. 29**, no. 7, pp. 2219–2226.
- [16] Carmen G Vinagre , Fatima R Freitas , Carlos H de Mesquita , Juliana C Vinagre , Ana Carolina Mariani, Roberto Kalil-Filho , Raul C Maranhão. (2018). Removal of Chylomicron Remnants from the Bloodstream is Delayed in Aged Subjects. *Aging and Disease*, **9(4)**, 748-754.
- [17] Nakajima K, Nakano T, Tokita Y, Nagamine T, Inazu A, Kobayashi J, et al, (2011). Postprandial lipoprotein metabolism: VLDL vs chylomicrons. *Clin Chim Acta*, **412(15-16)**, 1306-18.
- [18] de Faria E, Fong LG, Komaromy M, Cooper AD, (1996). Relative roles of the LDL receptor, the LDL receptor-like protein, and hepatic lipase in chylomicron remnant removal by the liver. *J Lipid Res*, **37**, 197-209.
- [19] Stillwell W, Dallman T, Dumaual AC, Crump FT, Jensi LJ, (1996). Cholesterol versus alpha-tocopherol: effects on properties of bilayers made from heteroacid phosphatidylcholines. *Biochemistry*, **35(41)**, 13353-62.
- [20] Ngô Xuân Lương, Ngô Khánh Huyền, Nguyễn Nhật Minh, Phan Thị Kiều Trang, Nguyễn Thành Dương, (2021). Nghiên cứu phân lập và chế tạo hạt nano zerumbone. *Tạp chí Phân tích Hoá, Lý và Sinh học*, **Tập 26**, số 1, 57-63.
- [21] Y. Asami, K. Yoshioka, K. Nishina, T. Nagata, and T. Yokota, (2016). Drug delivery system of therapeutic oligonucleotides. *Drug Discov. Ther.*, **vol. 10**, no.5, pp. 256–262.