

APOLIPOPROTEIN E TRONG CHUYỂN HÓA LIPID VÀ BỆNH ALZHEIMER

**Trần Thị Thanh Hương¹, Nguyễn Trung Anh^{1,2}, Phạm Thắng¹,
William Mantyh³, Huong Nguyen³, Trần Việt Lực^{1,2}
Nguyễn Thị Thanh Bình¹, Nguyễn Thanh Bình^{1,2}**

¹Bệnh viện Lão khoa Trung ương

²Trường Đại học Y Hà Nội

³Trường Đại học Minnesota

Tác giả chịu trách nhiệm khoa học: **Nguyễn Thanh Bình**

Tác giả liên hệ chính: **Trần Thị Thanh Hương**

Email: bstranthithanhhuong@gmail.com

Ngày tiếp nhận: 09/5/2024

Ngày phản biện: 25/6/2024

Ngày chấp nhận đăng: 25/6/2024

TÓM TẮT

Bệnh Alzheimer (AD) có căn nguyên không rõ ràng. Cơ chế bệnh sinh được biết đến nhiều nhất hiện nay là con đường beta - amyloid (A β) và con đường phosphoryl hóa protein tau. Rối loạn điều hòa chuyển hóa lipid đã nổi lên trong vai trò trung tâm của nhiều bệnh lý thoái hóa thần kinh, có thể là cơ chế gây AD. Các dạng đồng phân của một loại protein vận chuyển lipid - apolipoprotein E (APOE), có khả năng làm thay đổi nguy cơ mắc cũng như khả năng phục hồi trong một số bệnh thoái hóa thần kinh, trong đó có bệnh Alzheimer khởi phát muộn (LOAD). Các biến thể alen của gen APOE, làm thay đổi quá trình chuyển hóa lipid của tế bào và tổ chức với các loại tế bào và hệ thống khác nhau. Bài viết này tìm hiểu mối liên quan của APOE với cơ chế trao đổi chất nhằm xem xét những thay đổi ở cấp độ phân tử của tế bào trong chuyển hóa lipid thu được từ các dạng đồng phân APOE khác nhau. Những thay đổi này trong chuyển hóa lipid có thể làm sáng tỏ cơ chế gây bệnh và điều chỉnh nguy cơ mắc bệnh cũng như khả năng phục hồi bệnh thoái hóa thần kinh. Bài viết cũng đề cập tới một số phương pháp xác định đa hình gen APOE.

Từ khóa: Bệnh Alzheimer, Apolipoprotein E, chuyển hóa lipid.

1. ĐẠI CƯƠNG**• Căn nguyên bệnh Alzheimer**

Hầu hết các trường hợp AD là riêng lẻ, khởi phát muộn (≥ 65 tuổi) và không có nguyên nhân rõ ràng. AD thường khởi phát muộn và nguy cơ mắc tăng lên theo tuổi. Tuy nhiên, khoảng 5% đến 15% các trường hợp có tính chất gia đình; một nửa trong số những trường hợp này khởi phát sớm (< 65 tuổi) và thường liên quan đến các đột biến gen đặc hiệu. Ba loại đột biến gen phổ biến nhất bao gồm: APP, presenilin 1 và presenilin 2 có thể dẫn đến các dạng bệnh Alzheimer là di truyền gen trội trên nhiễm sắc thể thường, khởi phát sớm. Alen Apolipoprotein E4 (APOE4) được coi là yếu

tổ di truyền liên quan chặt chẽ với bệnh Alzheimer khởi phát muộn (LOAD) do tham gia vào quá trình tích tụ mảng bám beta-amyloid (A β), hình thành đám rối thần kinh trong tế bào thần kinh và rối loạn chuyển hóa lipid trong tổ chức não.

• Bệnh học bệnh Alzheimer

Hai con đường bệnh lý tạo nên kiểu hình đặc trưng cho AD: mảng bám A β ngoại bào và thoái hóa sợi trục thần kinh do NFT hình thành bên trong tế bào thần kinh. Mảng A β thường tập trung ở vùng vỏ não. Thoái hóa NFT bắt đầu ở vùng vỏ não của thùy thái dương trong (vỏ não nội khứu và hồi hải mã) và lan đến vùng vỏ não liên kết. Các quá trình bệnh lý này phát triển trong hai

đến ba thập kỷ tạo ra một giai đoạn tiền lâm sàng kéo dài. Lúc này, bệnh lý thần kinh liên quan đến AD đã hiện diện trong não nhưng không có bất kỳ suy giảm nhận thức nào. Các nghiên cứu chỉ ra rằng oligome của A β và p-tau là những chất gây độc thần kinh trong AD do mức độ oligome tương quan chặt chẽ với sự suy giảm nhận thức hơn so với mức độ của mảng bám A β hoặc NFT.

Chuyển hóa lipid có thể có trong bệnh lý thoái hóa thần kinh là do: lipid thực hiện nhiều chức năng sống còn, là thành phần cấu trúc của màng, phân tử khung và phân tử tín hiệu của tế bào. Não là cơ quan giàu lipid thứ hai nên mất cân bằng nội môi lipid đóng vai trò quan trọng trong các bệnh lý thoái hóa thần kinh.

Thực tế, trường hợp đầu tiên được mô tả về bệnh Alzheimer (AD) đã bao gồm việc quan sát thấy sự tích tụ lipid bất thường trong tế bào thần kinh đệm. Rối loạn điều hòa lipid cũng liên quan đến các bệnh thoái hóa thần kinh khởi phát muộn khác, như bệnh Parkinson (PD) và chứng mất trí nhớ thể Lewy (LBD) [1]. Các đột biến gen liên quan đến quá trình chuyển hóa lipid cũng gây ra các bệnh thoái hóa thần kinh nghiêm trọng khởi phát sớm như bệnh Tay–Sachs, bệnh Batten, bệnh Sandhoff và bệnh Niemann–Pick. Thay đổi trong cân bằng nội môi lipid còn liên quan đến tình trạng viêm thần kinh – yếu tố chính trong bệnh lý của nhiều bệnh thoái hóa thần kinh. Yếu tố nguy cơ di truyền đối với bệnh thoái hóa thần kinh như AD, PD và LBD bao gồm các biến thể của các gen liên quan điều tiết chuyển hóa lipid như: APOE, CLU, INPP5D, ABCA7, TREM2, PLCG2 và GBA [2].

Tính đa hình của APOE – chuyển hóa lipid và cơ chế bệnh lý đối với AD ở mức độ phân tử và tế bào được tập trung đề cập trong các nội dung dưới đây.

2. VAI TRÒ SINH HỌC CỦA APOLIPOPROTEIN E

Gen APOE của người nằm trên nhiễm sắc thể 19, mã hóa protein APOE, một loại protein vận chuyển lipid phổ biến

có thể liên kết với nhiều loại lipid bao gồm cholesterol, phospholipid và triglycerid trong các hạt lipoprotein [3]. APOE vận chuyển lipid vào tế bào thông qua các thụ thể bề mặt tế bào khác nhau. Cơ chế được hiểu rõ nhất về hoạt động vận chuyển này là thông qua thụ thể lipoprotein tỉ trọng thấp (LDLR) và các thụ thể APOE mới cũng đang dần được phát hiện. APOE có mặt ở ngoại vi và trong hệ thần kinh trung ương (CNS). Ở ngoại vi, APOE chủ yếu được sản xuất bởi tế bào gan và lưu thông trong huyết tương. Trong não, nó là dạng lipoprotein chiếm đa số và định lượng được bằng phép đo khối phổ. Trong CNS, APOE chủ yếu thể hiện ở tế bào ở thần kinh đệm (glia), là chất trung gian tế bào quan trọng trong cân bằng nội môi trao đổi chất. Tế bào hình sao (astrocyte) - tế bào điều tiết dẫn truyền thần kinh và khả năng trao đổi chất, là loại tế bào sản sinh ra nhiều APOE nhất trong CNS, sau đó là microglia - tế bào miễn dịch có thẩm quyền chủ yếu trong não [4].

Một số loại tế bào khác cũng sản xuất ra APOE, bao gồm: đại thực bào, tế bào mỡ ở ngoại vi; tế bào ít nhánh (oligodendrocyte), tế bào ngoại vi (pericyte) trong thần kinh trung ương (CNS) [5]. Mặc dù tế bào thần kinh trong điều kiện cơ bản không tạo ra lượng đáng kể APOE, các nghiên cứu đã lưu ý rằng căng thẳng và tổn thương thần kinh có thể gây ra tăng biểu hiện APOE ở các tế bào này.

3. TÍNH ĐA HÌNH GEN APOE VÀ BỆNH LÝ LIÊN QUAN

Tính đa hình gen APOE ở người thể hiện ở ba alen APOE thường gặp – APOE2, APOE3 và APOE4 – khác nhau ở hai vị trí axit amin (vị trí axit amin 112 và axit amin thứ 158). Ba alen này của APOE có những ảnh hưởng đa chiều và trên nhiều loại bệnh lý khác nhau. Đáng chú ý nhất là APOE4 làm tăng nguy cơ mắc LOAD, tuy nhiên alen này cũng là yếu tố di truyền làm tăng nguy cơ mắc nhiều bệnh lý thần kinh khác, bao gồm LBD, khả năng phục hồi kém sau chấn thương sọ não chấn thương [6], bệnh lý mạch máu não do kết tụ amyloid [7], bệnh

não mạn tính do chấn thương và suy giảm nhận thức do hóa trị liệu. Mặt khác, nguy cơ mắc các bệnh không liên quan đến thần kinh như tăng cholesterol máu, tăng triglycerid máu và bệnh tim mạch cũng như bệnh coronavirus nặng và kéo dài (Covid-19) của cá thể APOE4 cao hơn khi so sánh với APOE3. APOE2 là yếu tố bảo vệ chống lại nguy cơ LOAD. Tuy nhiên khi so sánh APOE2 với APOE3, APOE2 được phát hiện là yếu tố nguy cơ của tăng cholesterol máu, bệnh tim mạch, thoái hóa điểm vàng và một số bệnh ung thư khác. Trên thực tế, một nghiên cứu gần đây về các mẫu từ Biobank của Anh đã phát hiện ra rằng các alen APOE có liên quan đến nguy cơ mắc nhiều bệnh loại bệnh lý, bao gồm béo phì, bệnh gan, tắc nghẽn đường thở mãn tính và bệnh tiểu đường type 2 [8].

Mối liên quan giữa các alen APOE và các bệnh khác nhau gợi ý rằng APOE tham gia nhiều quá trình chung của tế bào. Các nghiên cứu gần đây đã xem xét tác động của các alen APOE trên nhiều con đường sinh học trung tâm như: cân bằng nội môi lipid, sử dụng glucose, viêm, vận chuyển tế bào và chức năng của ty thể. Việc làm gián đoạn các con đường và xảy ra ở nhiều loại tế bào đã bộc lộ tác động sâu sắc và đa hướng của các alen APOE đối với sinh học tế bào. Dựa vào sự mất cân bằng lipid xuất hiện trong nhiều bệnh thoái hóa thần kinh, dựa vào các alen APOE có ảnh hưởng kiểu hình rõ rệt trên nhiều loại tế bào và dựa vào APOE gắn và phân phối lipid bên trong và giữa các tế bào, giả thuyết được đưa ra là APOE tác động đến kiểu hình tế bào, nguy cơ mắc bệnh thông qua tác động của nó lên quá trình chuyển hóa lipid.

• Tính đa hình gen APOE và nguy cơ mắc bệnh Alzheimer

APOE3 là alen phổ biến nhất với tần số alen là 78% ở người da trắng và là một alen trung tính với nguy cơ mắc bệnh thoái hóa thần kinh. APOE4 có tần số alen là 14% ở người da trắng và là yếu tố nguy cơ di truyền mạnh nhất đối với LOAD. Nguy cơ

LOAD tăng theo liều alen gen APOE4 [9]. Ngược lại, APOE2 hiện diện ở mức 8% ở người da trắng có khả năng bảo vệ chống lại nguy cơ LOAD. Các alen APOE khác nhau có mối liên hệ chặt chẽ với hai cơ chế bệnh lý chính của LOAD là con đường β -amyloid và con đường tau phosphoryl hóa. APOE4 đặc biệt thúc đẩy quá trình oligome hóa, fibril hóa A β tăng hơn so với APOE2 hoặc APOE3 [8]. Mức độ liên quan giữa các alen APOE và mức độ nguy cơ mắc hoặc khả năng bảo vệ chống lại LOAD khác nhau ở các chủng tộc người.

Rối loạn chuyển hóa lipid là một cơ chế tiềm năng giải thích vai trò của APOE trong nguy cơ mắc bệnh thoái hóa thần kinh. Các giả thuyết khác, bao gồm các giả thuyết liên quan đến các dạng đồng phân APOE làm thay đổi sự kết tụ và lắng đọng protein, đã được nghiên cứu khám phá qua nhiều năm và ngày càng có các bằng chứng hỗ trợ hơn. Giả thuyết mới với việc hợp nhất các kiểu hình đa hướng do ảnh hưởng khác nhau của các dạng alen APOE lên quá trình chuyển hóa lipid cần nhiều nghiên cứu hơn nữa để xây dựng cơ chế tác động chính, tác động đến nguy cơ mắc các bệnh. Đây là một giả thuyết hấp dẫn do ảnh hưởng rộng rãi của chuyển hóa lipid lên các chức năng hoạt động của tế bào. Điều chỉnh chuyển hóa lipid có thể được áp dụng làm giảm nguy cơ đối với các bệnh lý khác nhau qua trung gian APOE. Những tiến bộ về phương pháp khối phổ đã cho phép định lượng nhiều loại lipid trong các mô hình bệnh khác nhau. Đó là chìa khóa công cụ nghiên cứu các chất chuyển hóa, tạo điều kiện tìm hiểu vai trò sinh học của lipid trong bệnh thoái hóa thần kinh. APOE, do có mối liên hệ chặt chẽ về mặt di truyền và có vai trò liên quan nhiều trạng thái bệnh tật, đang là trọng tâm của các nghiên cứu này.

4. APOE4 ẢNH HƯỞNG TRÊN CHUYỂN HÓA LIPID CỦA TẾ BÀO CNS

• Tác động lên chuyển hóa nội bào

Nhiều nghiên cứu cho thấy có sự tương quan giữa APOE4 và sự tích tụ

cholesterol nội bào. Cholesterol tích tụ trong tế bào gốc đa năng nhân tạo (iPSC) từ tế bào hình sao và microglia đồng hợp tử APOE4 [10,11], cũng như trong mạng lưới nội chất của tế bào ít nhánh (oligodendrocyte) [5]. Biểu hiện tăng tổng hợp từ đầu (*de novo*) và giảm bài xuất ra ngoài [10] dẫn đến sự tích tụ cholesterol đều liên quan APOE4. Một nghiên cứu gần đây về dịch tế học biến thể Jacksonville APOE3 được cho là một biến thể tăng tính bảo vệ, xuất phát từ khả năng thúc đẩy bài xuất cholesterol của nó. Nhiều nghiên cứu về mối tương quan giữa sự thay đổi quá trình sinh tổng hợp, bài xuất ra ngoài và khả năng lưu giữ cholesterol với các kiểu hình liên quan đến LOAD. Sự tích tụ cholesterol trong tế bào hình sao APOE4 có liên quan đến việc giảm chức năng lysosome [10], tăng sản xuất cytokine tiền viêm [10], tăng tín hiệu matrisome, suy giảm sự hấp thu của β - amyloid [11] và rối loạn động lực học của bộ khung tế bào [10]. Những mối tương quan này cho thấy mức cholesterol bất thường có thể là nguyên nhân chính gây ra nguy cơ mắc bệnh thoái hóa thần kinh. Công việc tiếp theo là cần thiết để xác định mối liên hệ nhân quả và cơ học giữa APOE4, sự tích tụ cholesterol thần kinh đệm và các bệnh lý liên quan đến LOAD.

Ngoài cholesterol, đồng hợp tử APOE4 dẫn đến sự tích tụ triglycerid trong tế bào hình sao và vi tế bào thần kinh đệm. Nhiều nghiên cứu trong số này báo cáo rằng triglycerid được lưu trữ trong các giọt lipid. Các giọt lipid là các bào quan đâm chồi từ màng mạng lưới nội chất vào bào tương và bao gồm một lớp đơn phospholipid được protein chức năng bao bọc lipid trung tính ở trung tâm. Trong tế bào hình sao của chuột cấy ghép gen APOE4 người, cũng như trong tế bào hình sao và microglia có nguồn gốc từ iPSC ở người mang APOE4 tạo ra sự hình thành các giọt lipid giàu triglycerid [12]. Mặc dù vẫn chưa rõ tại sao thần kinh đệm mang APOE4 lại tích tụ các giọt lipid, một nghiên cứu khác cho thấy tế bào hình sao APOE4 biểu hiện giảm tốc độ quá trình

β oxy hóa axit béo, cho thấy hiện tượng giảm chuyển hóa lipid. Hình thành các giọt lipid được cho là do tác dụng đệm của tế bào nhằm chống lại các lipid gây độc tế bào. Sự hiện diện nhiều giọt lipid trong tế bào thần kinh đệm mang APOE4 trong điều kiện cơ bản có thể gợi ý rằng cơ chế đệm này bị suy yếu hoặc bị quá tải, do đó khiến tế bào thần kinh đệm mang APOE4 hoạt động nhiều hơn, nhạy cảm với những tương tác của chất độc lipo [12]. Ở cả microglia và tế bào hình sao, sự tích lũy triglycerid do APOE4 gây ra có liên quan đến trạng thái tiền viêm. Tiền viêm liên quan đến các trạng thái lipid trong microglia cũng có liên quan đến bệnh thoái hóa thần kinh và mô hình lão hóa.

APOE4 làm trầm trọng thêm các kiểu hình liên quan đến AD (tích tụ amyloid- β và tau, khiếm khuyết mạch máu, viêm thần kinh, kiểu hình hành vi) ở các loại tế bào khác có nguồn gốc từ iPSC của con người không phải tế bào thần kinh đệm [5], cũng như ở các mô hình chuột [13]. Chúng bao gồm các tế bào quanh mạch (một phần của hàng rào máu não), tế bào thần kinh [13] và tế bào miễn dịch thần kinh mạch máu. Các tế bào này có liên quan hết sức đa dạng đến nguy cơ và sự tiến triển của bệnh thoái hóa thần kinh nên cần có công trình nghiên cứu trong tương lai để xác định cách thức thay đổi trong quá trình chuyển hóa lipid nội bào tác động đến chức năng tế bào của chúng.

• Tác động vào tương tác tế bào thần kinh đệm với tế bào thần kinh

Các alen APOE có thể tác động đến hoạt động chức năng tế bào thần kinh bằng cách điều chỉnh quá trình trao đổi lipid giữa tế bào thần kinh đệm, bao gồm: tế bào hình sao, tế bào vi mô và tế bào ít nhánh với tế bào thần kinh.

- Tương tác giữa tế bào hình sao và tế bào thần kinh

APOE có tác động mạnh đến tương tác tế bào thần kinh – tế bào hình sao. Nghiên cứu trên mô hình nuôi cấy của ruồi giấm và chuột đã xác định vai trò của APOE

trong việc vận chuyển lipid peroxy hóa độc hại và các giọt lipid giàu triglycerid dư thừa từ tế bào thần kinh đến tế bào hình sao để phân hủy [14]. APOE4 của người làm suy yếu cả quá trình vận chuyển lipid độc hại và sau đó là quá trình phân giải lipid ở tế bào hình sao [14,15]. Việc giảm thanh thải lipid tương quan với tình trạng stress oxy hóa gia tăng, rối loạn chức năng ty thể, khiếm khuyết về năng lượng sinh học và cản trở quá trình truyền synap trong tế bào thần kinh [15].

Các tế bào thần kinh cũng cần một lượng lớn cholesterol và việc cung cấp phụ thuộc vào các tế bào hình sao và APOE. Là lipoprotein chính trong CNS, APOE cung cấp cholesterol cho các tế bào thần kinh. Những thay đổi mức độ cholesterol của tế bào thần kinh đã được chứng minh là có liên quan đến bệnh lý tau và amyloid- β của LOAD [16]. Vai trò của APOE trong việc cung cấp cholesterol có thể chỉ ra cơ chế bệnh lý của APOE4 đối với LOAD.

- Tương tác giữa tế bào thần kinh và microglia

Sự tương tác giữa microglia và tế bào thần kinh cũng bị ảnh hưởng bởi sự mất điều chỉnh lipid liên quan đến APOE4. Microglia có nguồn gốc iPSC đồng hợp tử APOE4 có biểu hiện tích lũy triglycerid và cholesterol - kiểu hình tiền viêm, giảm tín hiệu cân bằng nội môi thuần khiết và ảnh hưởng tiêu cực đến hoạt động của tế bào thần kinh [17]. Điều tiết trực tiếp mức độ hình thành các giọt lipid vi mô bằng cách sử dụng chất ức chế tổng hợp acyl-CoA gây ảnh hưởng đến tình trạng viêm dây thần kinh và hoạt động của tế bào thần kinh [17]. Những phát hiện vi mô này cho thấy sự liên hệ giữa biểu hiện rối loạn chuyển hóa lipid và chức năng thần kinh. Công việc tiếp theo trong các mô hình nghiên cứu bệnh thoái hóa thần kinh là cần thiết để xác nhận việc sản xuất lipid ở cấp độ tế bào có gây ảnh hưởng đến sự tiến triển của bệnh hay không.

- Tương tác giữa tế bào thần kinh và tế bào ít nhánh (oligodendrocyte)

APOE4 ảnh hưởng đến quá trình myelin hóa trong các nghiên cứu trên tế bào, chuột và mô của người. Kết quả nuôi cấy tổ hợp các hỗn hợp và sự kết hợp các tế bào thần kinh có nguồn gốc iPSC của người với các tế bào ít nhánh đồng hợp tử APOE3 và APOE4 đã xác định sự tích lũy cholesterol bất thường trong các tế bào ít nhánh APOE4 dẫn đến tình trạng myelin hóa kém của các tế bào thần kinh được đồng nuôi cấy [5].

Một nghiên cứu trên một mô hình chuột gây mắc bệnh theo con đường protein tau (tauopathy), đồng hợp tử APOE4 đã xác định được tác động làm tăng chức năng độc hại thần kinh của APOE4 trong việc gây ra các khiếm khuyết về myelin hóa và làm giảm số lượng tế bào tiền thân của tế bào thần kinh đệm và tế bào thần kinh đệm [13]. Điều thú vị là những tác động này là đặc trưng đối với mô hình chuột mắc bệnh tauopathy, cho thấy rằng sự tương tác giữa kiểu gen APOE4 và bệnh lý tau có thể có những tác động cụ thể đến quá trình myelin hóa.

Các nghiên cứu được mô tả ở đây đã bắt đầu làm sáng tỏ mối quan hệ phức tạp giữa các dạng alen APOE, tác dụng của chúng đối với quá trình chuyển hóa lipid thần kinh đệm và hậu quả là mất chức năng của tế bào.

5. APOE ẢNH HƯỞNG ĐẾN LIPOPROTEIN VÀ VẬN CHUYỂN LIPID Ở NGƯỜI

Trong CNS, APOE có mặt trong các hạt lipoprotein tỷ trọng cao (HDL), trong khi ở ngoại vi nó liên kết với cả HDL và lipoprotein tỷ trọng rất thấp (VLDL). Bản chất của hạt HDL đã được báo cáo là có tác động đến kiểu hình bệnh thoái hóa thần kinh. Một nghiên cứu báo cáo rằng HDL làm tăng sự lắng đọng amyloid mạch máu trong các mô hình in vitro và HDL chứa APOE làm trầm trọng thêm tác dụng này. Một nghiên cứu khác về lipoprotein huyết tương người đã báo cáo hàm lượng APOE thấp hơn trong các hạt HDL ở những bệnh nhân có ít nhất một alen APOE4 [18]. Hơn nữa,

nghiên cứu tương tự cũng quan sát thấy những bệnh nhân có nồng độ APOE trong huyết tương hoặc trong các hạt HDL thấp hơn thực hiện các bài kiểm tra chức năng nhận thức kém hơn. Những nghiên cứu này và các nghiên cứu khác cho thấy thành phần hạt lipoprotein có thể ảnh hưởng đến kiểu hình bệnh thoái hóa thần kinh, và các nghiên cứu sâu hơn sẽ được thực hiện cần thiết để hiểu các cơ chế nền tảng cho những mối tương quan này. APOE được lipid hóa trong con đường bài tiết của tế bào bởi protein tải lipid, ABCA1. Trạng thái lipid hóa của các dạng alen APOE là khác nhau và APOE4 được báo cáo là kém lipid hóa nhất [19]. Do đó, các dạng alen APOE đã được chứng minh là làm thay đổi kích thước lipoprotein và APOE4 liên kết với các hạt HDL nhỏ hơn APOE3, APOE3 liên kết với các hạt HDL nhỏ hơn APOE2. Các loại lipid liên kết trong lipoprotein được quyết định bởi loại lipid của loại tế bào đó và kiểu gen APOE của cá thể [18]. Alen APOE có thể điều chỉnh mức độ protein liên quan đến quá trình lipid hóa, cho thấy mối quan hệ giữa lipid hóa và kiểu gen APOE [4]. Giảm lipid hóa APOE4 có thể làm ảnh hưởng đến khả năng bài xuất lipid dư thừa từ tế bào [20] và làm thay đổi số lượng cũng như tính chất lipid được vận chuyển đến tế bào thần kinh và mạch máu, từ đó thay đổi các chức năng thần kinh thiết yếu như kết nối khớp thần kinh và tính toàn vẹn của mạch máu.

Sự khác biệt giữa các nghiên cứu có thể là do sự khác biệt về đối tượng được mô tả cũng như phạm vi chuyển hóa đạt được. Những thay đổi trong các chất chuyển hóa ngoại vi có thể đóng vai trò là dấu ấn sinh học gây nguy cơ hoặc khả năng phục hồi; Tuy nhiên, cần phải tiếp tục nghiên cứu để hiểu các chất chuyển hóa trong máu phản ánh APOE liên quan đến CNS theo cơ chế như thế nào.

6. MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH ĐA HÌNH GEN APOE

• Đa hình độ dài đoạn giới hạn kết hợp phản ứng chuỗi polymerase (RFLP - PCR)

Là kỹ thuật nhằm xác định sự khác biệt trong các đoạn trình tự DNA đồng vị trí bằng sự hiện diện của các đoạn có độ dài khác nhau sau khi phân cắt các mẫu DNA với các enzyme cắt giới hạn đặc hiệu. RFLP, được coi như một chất đánh dấu phân tử, đặc trưng bởi sự kết hợp giữa enzyme cắt giới hạn và bản sao sợi đơn DNA. Hầu hết các dấu hiệu RFLP đều có tính đồng trội (cả hai alen trong mẫu dị hợp tử sẽ được phát hiện) và có tính đặc hiệu cao theo locus. Đầu dò RFLP là một trình tự DNA được đánh dấu, lai với một hoặc nhiều đoạn của DNA mẫu cần phân tích đã được cắt bằng enzyme, sản phẩm sau lai này được phân tách bằng điện di trên gel. Hình ảnh trên gel biểu lộ một kiểu vạch đặc trưng cho một kiểu gen cụ thể tại một locus cụ thể. Các DNA bộ gen ngắn, đơn /ít bản sao hoặc cDNA thường được sử dụng làm đầu dò RFLP.

Việc tách đủ DNA để phân tích RFLP bằng kỹ thuật PCR có thể được sử dụng để khuếch đại một lượng rất nhỏ DNA, thường trong 2-3 giờ, đến mức cần thiết cho phân tích RFLP.

• Phản ứng chuỗi polymerase thời gian thực (real-time PCR), còn được gọi là PCR định lượng

Trong PCR thông thường, sản phẩm DNA khuếch đại hoặc khuếch đại được phát hiện trong phân tích điểm cuối. Trong real - time PCR, sự tích lũy sản phẩm khuếch đại được đo khi phản ứng diễn ra theo thời gian thực với việc định lượng sản phẩm sau mỗi chu kỳ.

Quy trình làm việc Qpcr: đầu tiên, các phản ứng khuếch đại được thiết lập bằng thuốc thử PCR và các mẫu đặc biệt hoặc tùy chỉnh. Sau đó, các phản ứng sẽ được chạy trong các thiết bị real - time PCR và dữ liệu thu thập được sẽ được phân tích bằng phần mềm thiết bị độc quyền.

Việc phát hiện các sản phẩm PCR theo thời gian thực được thực hiện bằng cách đưa phân tử báo cáo huỳnh quang vào mỗi giếng phản ứng giúp tăng cường huỳnh quang với lượng DNA sản phẩm ngày càng tăng. Các chất hóa học phát huỳnh quang được sử dụng cho mục đích này bao gồm thuốc nhuộm gắn DNA và mỗi hoặc mẫu dò đặc hiệu theo trình tự được đánh dấu bằng huỳnh quang. Máy luận nhiệt chuyên dụng được trang bị mô-đun phát hiện huỳnh quang được sử dụng để theo dõi tín hiệu huỳnh quang khi quá trình khuếch đại diễn ra. Độ huỳnh quang đo được tỷ lệ thuận với tổng lượng khuếch đại; sự thay đổi huỳnh quang theo thời gian được sử dụng để tính toán lượng khuếch đại được tạo ra trong mỗi chu kỳ.

Ưu điểm chính của real - time PCR so với PCR là real - time PCR cho phép bạn xác định số lượng bản sao DNA mẫu ban đầu (chuỗi mục tiêu khuếch đại) với độ chính xác và độ nhạy cao trên phạm vi động rộng. Kết quả real - time PCR có thể là định tính (có hoặc không có trình tự) hoặc định lượng (số bản sao). Do đó, real - time PCR định lượng còn được gọi là phân tích qPCR. Ngược lại, PCR tốt nhất là bán định lượng. Ngoài ra, dữ liệu qreal - time PCR có thể được đánh giá mà không cần điện di trên gel, giúp giảm thời gian xét nghiệm và tăng công suất. Cuối cùng, do các phản ứng qreal - time PCR được chạy và dữ liệu được đánh giá trong hệ thống qPCR ống kín, thống nhất nên khả năng lây nhiễm sẽ giảm và nhu cầu thao tác hậu khuếch đại được loại bỏ trong phân tích qPCR.

• Microarray DNA (còn được gọi là chip DNA hoặc chip sinh học)

Là tập hợp các điểm DNA cực nhỏ được gắn trên bề mặt rắn. Các nhà khoa học sử dụng các vi mô DNA để đo mức độ biểu hiện của số lượng lớn gen đồng thời hoặc để tạo kiểu gen cho nhiều vùng trong bộ gen. Mỗi điểm DNA chứa picomoles (10–12 mol) của một chuỗi DNA cụ thể, được gọi là đầu dò (hoặc phóng viên hoặc

oligos). Đây có thể là một đoạn ngắn của gen hoặc thành phần DNA khác được sử dụng để lai mẫu cDNA hoặc cRNA (còn gọi là RNA chống giáng quan) (được gọi là mục tiêu) trong điều kiện nghiêm ngặt. Phép lai giữa mục tiêu thăm dò thường được phát hiện và định lượng bằng cách phát hiện các mục tiêu được đánh dấu huỳnh quang, bạc hoặc phát quang hóa học để xác định độ phong phú tương đối của các chuỗi axit nucleic trong mục tiêu. Nó cũng được sử dụng để xác định các biến thể cấu trúc và đo lường biểu hiện gen.

Nguyên tắc cốt lõi đằng sau các mảng vi mô là sự lai giữa hai chuỗi DNA, đặc tính của các chuỗi axit nucleic bổ sung là ghép đôi cụ thể với nhau bằng cách hình thành liên kết hydro giữa các cặp bazơ nucleotide bổ sung. Số lượng lớn các cặp bazơ bổ sung trong chuỗi nucleotide có nghĩa là liên kết không cộng hóa trị chặt chẽ hơn giữa hai chuỗi. Sau khi loại bỏ các trình tự liên kết không đặc hiệu, chỉ những sợi được ghép đôi mạnh mới còn lại. Các chuỗi mục tiêu được dán nhãn huỳnh quang liên kết với trình tự thăm dò tạo ra tín hiệu phụ thuộc vào các điều kiện lai (chẳng hạn như nhiệt độ) và quá trình rửa sau khi lai. Tổng cường độ của tín hiệu, từ một điểm (đặc điểm), phụ thuộc vào lượng mẫu mục tiêu liên kết với các đầu dò có tại điểm đó. Microarrays sử dụng định lượng tương đối trong đó cường độ của một tính năng được so sánh với cường độ của tính năng tương tự trong một điều kiện khác và danh tính của tính năng được xác định theo vị trí của nó. Ứng dụng của Microarray - DNA để xác định SNP: Xác định tính đa hình nucleotide đơn giữa các alen trong hoặc giữa các quần thể.

• Kỹ thuật giải trình tự DNA (DNA Sequencing)

Từ giữa những năm 1970, khi nhà nghiên cứu Frederick Sanger phát triển một số kỹ thuật nhanh hơn, hiệu quả hơn để giải trình tự DNA. Giải trình tự Sanger còn được gọi là phương pháp kết thúc chuỗi hoặc

phương pháp dideoxy, giải trình tự Sanger liên quan đến việc sử dụng enzyme DNA polymerase tinh khiết để tổng hợp chuỗi DNA có độ dài khác nhau. Đặc điểm chính của hỗn hợp phản ứng của phương pháp Sanger là bao gồm dideoxynucleotide triphosphate (ddNTPs). Các dideoxynucleotide kết thúc chuỗi này thiếu nhóm 3' hydroxyl (OH) cần thiết để hình thành liên kết phosphodiester giữa một nucleotide này với nucleotide tiếp theo trong quá trình kéo dài chuỗi DNA. Do đó, khi một dideoxynucleotide được kết hợp vào sợi đang phát triển, nó sẽ ức chế sự kéo dài thêm của sợi. Kết quả của nhiều phản ứng này là một số đoạn DNA có độ dài khác nhau. Những mảnh này sau đó được phân tách theo kích thước bằng cách sử dụng điện di gel hoặc ống mao dẫn, một phương pháp trong đó điện trường kéo các phân tử qua chất nền gel hoặc sợi mao mạch giống như tóc. Quy trình này đủ nhạy để phân biệt các đoạn DNA có kích thước khác nhau chỉ bằng một nucleotide. Ngày nay các nhà sản xuất đưa ra các máy giải trình tự DNA tự động dựa trên phương pháp Sanger. Những thiết bị này sử dụng thuốc nhuộm huỳnh quang để gắn thẻ từng nucleotide, cho phép các phản ứng được thực hiện trong một cột và đọc theo màu sắc (chứ không phải theo làn đường mà chúng xuất hiện), cung cấp dữ liệu chuỗi rẻ hơn và nhanh hơn phương pháp truyền thống.

7. KẾT LUẬN

Hiện nay, tìm hiểu các cơ chế bệnh sinh bệnh Alzheimer thông qua các con đường giải độc amyloid, phosphoryl hóa protein tau, chuyển hóa lipid do yếu tố di truyền v.v... là các cách tiếp cận nhằm tìm ra các phương thức điều trị hiệu quả bệnh Alzheimer. Hiện nay đã có những nghiên cứu thử nghiệm trên lâm sàng các thuốc điều trị nhắm tới cơ chế bệnh sinh bệnh Alzheimer và bước đầu có kết quả khả quan. Tuy nhiên, căn nguyên bệnh Alzheimer cũng như các bệnh liên quan thoái hóa thần kinh là chưa rõ ràng và đa

nhân tố, việc tiếp tục tìm hiểu mối tương quan của các yếu tố di truyền như APOE trên kiểu hình cũng mức độ tế bào liên quan đến tác động do chuyển hóa lipid đến các quá trình bệnh lý là vô cùng hấp dẫn. Thực tế, chẩn đoán và điều trị AD đang là một thách thức đối với Y tế Việt Nam do chi phí cao. Hiện nay, chưa có nghiên cứu nào đánh giá ảnh hưởng của kiểu gen APOE đến nguy cơ mắc AD của người Việt Nam cũng ảnh hưởng của nó đến nồng độ các biomarker AD trong máu. Việc này là hết sức cần thiết để có thể tiếp cận các phương pháp điều trị đang dần được áp dụng trên bệnh nhân mắc AD trên thế giới.

Lời cảm ơn

Xin trân trọng cảm ơn tập thể bác sĩ, giảng viên Bộ môn Thần kinh, Bệnh viện Lão khoa trung ương và Trường Đại học Minnesota đã hỗ trợ trong việc thực hiện bài tổng quan này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Fanning, S. et al. (2020).** Parkinson's disease: proteinopathy or lipidopathy? NPJ Parkinsons Dis. 6, 3.
2. **Bellenguez, C. et al (2022).** New insights into the genetic etiology of Alzheimer's disease and related dementias. Nat. Genet. 54, 412–436
3. **Mahley, R.W. et al. (2009).** Apolipoprotein E: structure determines function, from atherosclerosis to Alzheimer's disease to AIDS. J. Lipid Res. 50, 183–188
4. **Lanfranco, M.F. et al. (2021).** Expression and secretion of apoE isoforms in astrocytes and microglia during inflammation. Glia 69, 1478–1493.
5. **Blanchard, J.W. et al. (2022).** APOE4 impairs myelination via cholesterol dysregulation in oligodendrocytes. Nature 611,769–779
6. **Jordan, B.D. et al. (1997).** Apolipoprotein E epsilon4 associated with chronic traumatic brain injury in boxing. JAMA 278,136–140.

7. **Shinohara, M. et al. (2016).** Impact of sex and APOE4 on cerebral amyloid angiopathy in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol.* 132, 225–234.
8. **Lane-Donovan, C. and Herz, J. (2017).** ApoE, ApoE receptors, and the synapse in Alzheimer's disease. *Trends Endocrinol. Metab.* 28, 273–284
9. **Corder, E.H. et al. (1993).** Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 261, 921–923.
10. **de Leeuw, S.M. et al. (2022).** APOE2, E3, and E4 differentially modulate cellular homeostasis, cholesterol metabolism, and inflammatory response in isogenic iPSC-derived astrocytes. *Stem Cell Rep.* 17, 110–126.
11. **Lin, Y.T. et al. (2018).** APOE4 causes widespread molecular and cellular alterations associated with Alzheimer's disease phenotypes in human iPSC-derived brain cell types. *Neuron* 98,1141–1154.
12. **Sienski, G. et al. (2021).** APOE4 disrupts intracellular lipid homeostasis in human iPSC-derived glia. *Sci. Transl. Med.* 13, eaaz4564.
13. **Koutsodendris, N. et al. (2023).** Neuronal APOE4 removal protects against tau-mediated gliosis, neurodegeneration and myelin deficits. *Nat. Aging* 3, 275–296.
14. **Liu, L. et al. (2017).** The glia–neuron lactate shuttle and elevated ROS promote lipid synthesis in neurons and lipid droplet accumulation in glia via APOE/D. *Cell Metab.* 26, 719–737.
15. **Qi, G. et al. (2021).** ApoE4 impairs neuron–astrocyte coupling of fatty acid metabolism. *Cell Rep.* 34, 108572.
16. **van der Kant, R. et al. (2019).** Cholesterol metabolism is a druggable axis that independently regulates tau and amyloid- β in iPSC-derived Alzheimer's disease neurons. *Cell Stem Cell* 24, 363–375.
17. **Victor, M.B. et al. (2022).** Lipid accumulation induced by APOE4 impairs microglial surveillance of neuronal-network activity. *Cell Stem Cell* 29, 1197–1212.
18. **Koch, M. et al. (2020).** Association of apolipoprotein E in lipoprotein subspecies with risk of dementia. *JAMA Netw. Open* 3, e209250.
19. **Heinsinger, N.M. et al. (2016).** Apolipoprotein E genotype affects size of apoE complexes in cerebrospinal fluid. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 75, 918–924.
20. **Michikawa, M. et al. (2000).** Apolipoprotein E exhibits isoform-specific promotion of lipid efflux from astrocytes and neurons in culture. *J. Neurochem.* 74, 1008–1016.

SUMMARY**APOLIPOPROTEIN E IN LIPID METABOLISM AND ALZHEIMER'S DISEASE**

**Tran Thi Thanh Huong¹, Nguyen Trung Anh^{1,2}, Pham Thang¹,
William Mantyh³, Huong Nguyen³, Tran Viet Luc^{1,2},
Nguyen Thi Thanh Binh¹, Nguyen Thanh Binh^{1,2}**

¹National Geriatric Hospital

²Hanoi Medical University

³Minnesota University

Alzheimer's disease (AD) has an unclear etiology. The best known pathogenesis is the beta-amyloid pathway and the tau phosphorylation pathway. Dysregulation of lipid metabolism has emerged as a central feature of many neurodegenerative diseases, possibly as a mechanism for AD. Isoforms of a lipid transport protein, apolipoprotein E (APOE), have the potential to alter the risk and recovery of several neurodegenerative diseases, including late-onset Alzheimer's disease (LOAD). Allelic variants of the APOE gene alter cellular and tissue lipid metabolism in different cell types and systems. Aiming to understand the metabolic relevance of APOE, we examine the molecular changes in lipid metabolism resulting from different APOE isoforms. These changes in lipid metabolism may shed light on the pathogenic mechanisms and modulate the risk of developing and recovering from neurodegenerative diseases. Several methods for identifying genetic polymorphisms APOE are also discussed.

Keywords: Alzheimer's disease, Apolipoprotein E, lipid metabolism.