

bệnh nhân tổn thương nội sọ có biến chứng. Nguyên tắc cơ bản của phẫu thuật là lấy được toàn bộ nang và đường rò. Với những tổn thương nền sọ hoặc nội sọ cần được sửa chữa nền sọ sau khi lấy đường rò để tránh biến chứng rò dịch não tủy cũng như nhiễm trùng nội sọ hậu phẫu. Với những tổn thương khuyết thiếu vùng sống mũi cần được chỉnh hình giúp đảm bảo tính thẩm mỹ sau phẫu thuật. Trong nghiên cứu của chúng tôi tỷ lệ tái phát là 7.6%. Các biến chứng thường gặp là nhiễm trùng vết mổ, sẹo xấu, mất ngủ, ngạt mũi, biến dạng mũi gây mất thẩm mỹ.

V. KẾT LUẬN

Vị trí của nang và rò sống mũi chủ yếu ở sống mũi, chóp mũi và gốc mũi,... Không có sự tương quan nào giữa vị trí nang và lỗ rò với tổn thương xâm lấn nội sọ. Phim MRI là cơ sở vững chắc để chẩn đoán và phân độ tổn thương NDSCs. Cần phẫu thuật càng sớm càng tốt tránh những biến chứng sau này. Các biến chứng sau mổ có thể gặp như biến dạng mũi, sẹo xấu, ngạt mũi, mất ngủ, rò dịch não tủy. Trong quá trình theo dõi sau mổ, không chỉ định chụp MRI thường quy nếu không nghi ngờ tái phát.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **R Locke, H Kubba** (2012). Unusual variants of midline nasal dermoid cysts: a series of three cases. *The Journal of Laryngology & Otology*, 126, 83-87.
2. **Terry D.Wardinsky et al** (1991). Nasal Dermoid Sinus Cysts: Association with Intracranial Extension and Multiple Malformations. *Cleft Palate Craniofacial Journal*, 28(1), 87-95.
3. **H.L.Brydon** (1992). Intracranial Dermoid Cysts With Nasal Dermal Sinuses. *Acta Neurochirurgica*, 188, 185-188.
4. **Reza Rahbar, Prerak Shah, Jonh B. Mulliken et al** (2003). The Presentation and Management of Nasal Dermoid. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 129, 464-471.
5. **Jeremy Wales et al** (2020). A superficial nasal dermoid cyst excised through a novel horizontal zig-zag incision in a 49-year-old man. *Acta Oto-Laryngologica Case Reports*, 5(1), 28-32.
6. **Kun Nia, Xiaoyan Lia, Limin Zhao et al** (2020). Diagnosis and treatment of congenital nasal dermoid and sinus cysts in 11 infants. A consort compliant study, 99(21), 1-6
7. **Dasari Samuel Deenadayal** (2018). Management of Recurrent Nasal Dermoid in an Adolescent with Nasal Pyramid Deformity. *International Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*, 7, 132-137.

KHẢO SÁT TÍNH TOÀN VẸN PHÂN TỬ DNA TỰ DO (CCFDNA) TRONG MÁU Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ PHỔI KHÔNG TẾ BÀO NHỎ

Trần Ngọc Ánh¹, Lê Vũ Huyền Trang², Lê Thị Kim Chung², Nguyễn Văn Huy³, Lê Thị Huyền Trang⁴, Nguyễn Trọng Tuệ²

TÓM TẮT

Mục tiêu: Khảo sát nồng độ và tính toàn vẹn của ccfDNA trong huyết tương, từ đó đánh giá mối liên quan với một số đặc điểm của bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ (UTPKTBN). **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu bệnh-chứng với 50 bệnh nhân được chẩn đoán UTPKTBN và 50 người nhóm chứng không mắc các bệnh lý ung thư và bệnh lý tự miễn hệ thống kèm theo được tuyển chọn vào nghiên cứu tại khoa khám bệnh và khoa ung bướu bệnh viện đa khoa tỉnh Bắc Ninh trong thời gian từ tháng 8/2022 đến tháng 10/2023. **Kết quả:** Nồng độ trung bình của ALU-115 trong máu bệnh nhân

(81,25±48,36 ng/mL) cao hơn so với nhóm chứng (8,63±17,89 ng/mL), nồng độ ALU-247 ở bệnh nhân (51,75±40,25 ng/mL) cao hơn so với nhóm chứng (2,67±3,39 ng/mL), tỷ lệ ALU-247/ALU-115 ở nhóm bệnh nhân (0,65±0,25) cao hơn so với nhóm chứng (0,52±0,27). Khi phân tích giá trị chẩn đoán bằng đường cong ROC cho thấy ALU-247(AUC=96,692%, p<0,001, Se: 94%, Sp: 96%), ALU-115 (96,8%, p<0,001, Se: 100%, Sp: 86%), tỉ lệ ALU-247/ALU-115 (64,12%, p=0,015, Se: 86%, Sp: 46%) đều có giá trị cao cho chẩn đoán UTPKTBN. **Kết luận:** Nồng độ của các dấu ấn sinh học ALU-115, ALU-247 và tỉ lệ ALU-247/ALU-115 tăng ở bệnh nhân UTPKTBN cũng như có xu hướng tăng theo giai đoạn của bệnh. Các dấu ấn sinh học này có tiềm năng trở thành xét nghiệm trong chẩn đoán sớm và theo dõi điều trị bệnh UTPKTBN

Từ khóa: Ung thư phổi không tế bào nhỏ, ALU-115, ALU-247, screening, NSCLC guidelines

SUMMARY

STUDY OF THE CELL-FREE CIRCULATING DNA (ccfDNA) INTEGRITY IN PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER

Objective: Study the concentration and the

¹Bệnh viện Đa khoa Bắc Ninh

²Trường Đại học Y Hà Nội

³Bệnh viện Đa khoa Ninh Bình

⁴Bệnh viện TWQĐ 108

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Trọng Tuệ

Email: trongtue@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 4.12.2023

Ngày phản biện khoa học: 23.01.2024

Ngày duyệt bài: 7.2.2024

integrity of ccfDNA in plasma and then assess the relation to some characteristics of non-small cell lung cancer (NSCLC) patients. **Subjects and methods:** A case-control study with 50 NSCLC patients and 50 healthy controls without cancers, accompanying systemic autoimmune diseases recruited for the study at the Outpatient Department and Oncology Department of Bac Ninh General Hospital during the period from August 2022 to October 2023. **Results:** The average concentration of ALU-115 in the blood of cases (81.25 ± 48.36 ng/mL) was significantly higher than that in the control group (8.63 ± 17.89 ng/mL), ALU-247 concentration in cases group (51.75 ± 40.25 ng/mL) was significantly increased in than the control group (2.67 ± 3.39 ng/mL), the ratio of ALU-247/ALU-115 in the cases group (0.65 ± 0.25) significantly higher than the control group (0.52 ± 0.27). When analyzing the power of diagnostic test using the ROC curve for ALU-247 (AUC=96.692%, $p < 0.001$, Se: 94%, Sp: 96%), ALU-115 (96.8%, $p < 0.001$, Se: 100%, Sp: 86%), ALU-247/ALU-115 ratio (64.12%, $p = 0.015$, Se: 86%, Sp: 46%) all have high power for the detection of NSCLC disease. **Conclusion:** Concentrations of ALU-115, ALU-247 biomarkers, and ALU-247/ALU-115 ratio increased in NSCLC patients and tended to increase with the stage of the disease. These biomarkers had the potential in early diagnosis and treatment of NSCLC

Keywords: Non-small cell lung cancer, ALU-115, ALU-247, NSCLC guidelines

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư phổi là một trong những bệnh ung thư phổ biến nhất trên thế giới; với tỉ lệ tử vong hàng năm ước tính khoảng 2,1 triệu người.¹ Về phân thể bệnh ở bệnh nhân ung thư phổi; thể ung thư phổi không tế bào nhỏ (UTPKTBN) chiếm 80-85% với 2 loại tít mô bệnh học chính là ung thư biểu mô tuyến (Adenocarcinoma) và ung thư biểu mô tế bào vảy (SCC).² Cho đến nay đã có rất nhiều các phương pháp điều trị ung thư phổi mới được phát triển, tuy nhiên tỉ lệ bệnh nhân sống trên 5 năm vẫn còn rất thấp với tỉ lệ <15%.³ Nguyên nhân chủ yếu của thực trạng này là do bệnh nhân ung thư phổi thường được chẩn đoán bệnh ở giai đoạn muộn dẫn tới giảm tỉ lệ đáp ứng của bệnh nhân với các liệu pháp điều trị hiện có. Bên cạnh đó bệnh nhân UTPKTBN có tỉ lệ tái phát cao sau điều trị với tỉ lệ 30-50%.³ Để sàng lọc chẩn đoán các bệnh nhân UTPKTBN, các phương pháp như chụp X-quang, chụp cắt lớp vi tính là các kĩ thuật quy chuẩn được áp dụng. Ngoài ra xét nghiệm kháng nguyên CEA (Carcinoembryonic antigen) trong máu được biết đến như là dấu ấn ung thư cho nhiều loại ung thư bao gồm cả UTPKTBN, tuy nhiên CEA bị hạn chế về độ nhạy và độ đặc hiệu cho chẩn đoán UTPKTBN. Việc nghiên cứu và phát hiện phương pháp xét nghiệm có độ nhạy cao trong việc chẩn

đoán ung thư phổi được sớm và ít xâm lấn hơn sẽ giúp cải thiện được thời gian sống của bệnh nhân, tăng tỉ lệ đáp ứng điều trị và theo dõi phát hiện sớm các trường hợp bệnh tái phát.⁴

Gần đây sự ra đời của phương pháp "sinh thiết lỏng" với mục tiêu nhằm, xác định các phân tử DNA tự do (ccfDNA-cell free DNA) lưu hành trong huyết tương có nguồn gốc từ các tế bào hoại tử, apoptosis, hoặc bị tiêu hoá bởi các đại thực bào đã mở ra một công cụ mới cho chẩn đoán các khối u ác tính, đánh giá hiệu quả điều trị cũng như tiên lượng bệnh. Thực tế cho thấy, dù khối u có kích thước rất nhỏ dưới ngưỡng phát hiện của các phương pháp sàng lọc hiện có như (siêu âm, X-quang, cắt lớp vi tính...) nhưng vẫn chứa tới hàng chục triệu tế bào ung thư (khoảng 50 triệu tế bào) có thể giải phóng đủ số lượng DNA vào trong máu ở mức phát hiện được bằng các kĩ thuật xét nghiệm. DNA tự do trong tuần hoàn có nguồn gốc chủ yếu từ các tế bào đang giáng hoá, sau khi phân cắt bởi enzym endonuclease. Enzym này có nhiệm vụ phân cắt chromatin thành các nucleosome cần thiết giúp kiểm soát chúng khỏi sự tiêu huỷ protein trong máu. Ở người khoẻ mạnh, ccfDNA được giải phóng vào tuần hoàn thông qua quá trình apoptosis tế bào lympho và các tế bào có nhân khác. Quá trình apoptosis đã tạo ra các mảnh DNA tương đồng kích thước trong khoảng 185-200bp, là kết quả của quá trình phân cắt mạch đôi DNA nằm giữa các cấu trúc nucleosome bởi enzyme endonuclease. Tuy nhiên ở các tế bào ung thư, ccfDNA được tạo thành từ quá trình hoại tử tế bào, và nhiều quá trình khác như ly giải tế bào ung thư tự do trong máu hoặc vi di căn. Các mảnh DNA sản phẩm của quá trình này sẽ rất khác nhau về kích thước do sự phân cắt ngẫu nhiên và không hoàn toàn của DNA bộ gen bởi DNase.^{5,6}

Ứng dụng trong thực hành lâm sàng của xét nghiệm ccfDNA trong phát hiện khối u ở giai đoạn sớm, kiểm tra mức độ đột biến khối u và theo dõi khả năng tồn dư và tái phát khối u của ung thư phổi. ccfDNA có thể thu được từ các quy trình can thiệp tối thiểu và phản ánh được những thay đổi di truyền trong mô u, và kết quả phân tích ccfDNA được nhìn nhận là công cụ tiềm năng cho chẩn đoán và theo dõi ung thư phổi. Do đó, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với mục đích khảo sát nồng độ và tính toàn vẹn của ccfDNA từ đó đánh giá trong mối liên quan với một số đặc điểm của bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

50 bệnh nhân được chẩn đoán UTPKTBN và 50 người nhóm chứng không mắc các bệnh lý ung thư và bệnh lý tự miễn hệ thống kèm theo được tuyển chọn vào nghiên cứu tại khoa khám bệnh và khoa ung bướu bệnh viện đa khoa tỉnh Bắc Ninh, trong thời gian từ tháng 8/2022 đến tháng 10/2023.

2.1. Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân:

- Bệnh nhân được chẩn đoán UTPKTBN theo "Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị ung thư phổi không tế bào nhỏ" của bộ Y tế ban hành kèm quyết định số 4825/QĐ-BYT ngày 06/08/2023,
- Không mắc kèm các bệnh ung thư khác
- Không mắc các bệnh lý tự miễn kèm theo
- Có đầy đủ thông tin bệnh án
- Đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Ung thư di căn phổi,
- Có kèm các loại ung thư cơ quan khác,
- Có kèm các bệnh lý tự miễn hệ thống
- Bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu

2.3. Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu phân tích bệnh-chứng

2.4. Các quy trình kỹ thuật xét nghiệm.

2mL máu tĩnh mạch của đối tượng tham gia nghiên cứu được thu vào ống chứa chất chống đông EDTA sau đó được vận chuyển về Khoa xét nghiệm trung tâm bệnh viện đa khoa tỉnh Bắc Ninh li tâm với tốc độ 4000v/p trong vòng 5 phút tách huyết tương cho vào ống Eppendorf 1,5mL và được lưu trữ ở -20°C chờ thực hiện tách chiết DNA.

2.4.1. Tách chiết DNA. DNA được tách chiết từ huyết thanh bằng bộ kit tách chiết GeneJET Viral DNA and RNA Purification Kit (Thermo Scientific, USA) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sau tách chiết, sản phẩm DNA được kiểm tra độ tinh sạch bằng máy quang phổ NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, USA). Các sản phẩm đều đạt đủ nồng độ >5 pg/ul và đạt độ tinh sạch tốt với OD 260/280 nằm trong khoảng 1,8-2,2 cho thực hiện kỹ thuật realtime PCR sau đó.

2.4.2. Định lượng ALU 115 và ALU 247 bằng kỹ thuật Realtime PCR SYBR. Để khảo sát nồng độ và xác định chỉ số tính toàn vẹn của phân tử DNA tự do trong huyết thanh (ccfDNA) ở bệnh nhân ung thư phổi chúng tôi tiến hành đánh giá ở 2 đoạn DNA với 2 kích thước khác nhau: DNA đoạn ngắn với kích thước 115bp và DNA đoạn dài với kích thước 247bp bằng cách khuếch đại đoạn trình tự đồng thuận lặp lại ALU và định lượng. Đây là đoạn trình tự lặp lại chiếm

ưu thế trong bộ gen của con người và hầu hết các nghiên cứu về tính toàn vẹn của DNA đều sử dụng tỉ số giữa DNA đoạn dài ALU 247 được giải phóng từ các tế bào hoại tử/ DNA đoạn ngắn ALU115 được giải phóng từ các tế bào bình thường.

Trình tự mỗi sử dụng cho khuếch đại đoạn gen ALU-115 (Invitrogen, Life technologies, Thermo Fisher, Scientific Inc, USA) như sau:

Mỗi xuôi: 5'-CCTGAGGTCAGGAGTTCGAG-3'

Mỗi ngược: 5'-CCCAGTAGCTGGGATTACA-3'

Trình tự mỗi sử dụng để khuếch đại đoạn gen ALU-247 (Invitrogen, Life technologies, Thermo Fisher, Scientific Inc, USA) như sau:

Mỗi xuôi: 5'-GTGGCTCACGCCTGTAATC-3'

Mỗi ngược: 5'-CAGGCTGGAGTGCAGTGG-3'

Thí nghiệm realtimePCR SYBR được thực hiện với hoá chất SYBR™ Green Supermixes for Real-time PCR (Bio-Rad Laboratories, Inc, USA) trong tổng thể tích 25 µL bao gồm các thành phần sau: 12,5 µL SYBR green, 0,5 µL mỗi xuôi nồng độ 0,2 µM, 0,5 µL mỗi ngược 0,2 µM, 5 µL DNA mẫu, và 6,5 µL RNase-free water. Phản ứng PCR được thực hiện với chu trình nhiệt như sau: Biến tính ở 95°C trong 5 phút, [Biến tính ở 95°C trong 30 giây, găn mỗi ở 60°C trong 30s, kéo dài ở 72°C trong 30s] x40 chu kỳ và giai đoạn kéo dài cuối cùng ở 94°C trong 5 phút.

Đường chuẩn cho từng gen ALU-115 hoặc ALU-247 được xây dựng dựa trên genomic DNA thu được từ tách chiết các tế bào bạch cầu máu ngoại vi của người tình nguyện khoẻ mạnh với dải nồng độ pha loãng liên tục từ 10ng đến 0,01 pg để xác định giá trị nồng độ tuyệt đối tương ứng của ALU-115 và ALU-247 trong các mẫu bệnh phẩm theo phương pháp được đề xuất của Hussein và cộng sự. Sau đó, chỉ số toàn vẹn ccfDNA được đánh giá dựa trên nồng độ ALU-115 và ALU 247 đã xác định.⁷

2.5. Phân tích dữ liệu. Dữ liệu được phân tích bằng phần mềm phân tích thống kê IBM SPSS phiên bản 20.0 và Graphpad Prism phiên bản 8.0 với giá trị p<0,05 thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Sự phân bố của giá trị các biến định lượng được kiểm tra tính chuẩn bằng test kiểm định D'Agstino test, Kolmogorv-Smirnov test, và Sharpio-Wilk test. Với các biến định lượng không phân bố chuẩn sử dụng test kiểm định Mann-Whitney test hoặc Kruskall test. Với các biến định lượng phân bố chuẩn sử dụng kiểm định t-test không ghép cặp để kiểm tra sự khác biệt giữa 2 nhóm bệnh và nhóm chứng. Đường cong ROC được phân tích để xác định cut-off và diện tích dưới đường cong AUC với nồng độ của ALU-115

và ALU-247 cũng như chỉ số toàn vẹn ccfDNA dự đoán khả năng chẩn đoán của các marker trên. Diện tích dưới đường cong (AUC) >50% được chấp nhận về khả năng chẩn đoán của marker và AUC =100% là marker có khả năng chẩn đoán tốt nhất.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm của nhóm đối tượng nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm của đối tượng tham gia nghiên cứu

Tên biến	Nhóm bệnh	Nhóm chứng
Tuổi	64,02±9,248	43,86±12,152
Giới (Nam/Nữ)	3,17/1	1/1
Type mô bệnh học		
Adenocarcinoma (n,%)		47(94%)
SCC (n,%)		3(6%)
Giai đoạn bệnh		
II-III		11(22%)
IV		39(78%)

Trong nghiên cứu này, độ tuổi trung bình của nhóm bệnh là 64,02±9,248 tuổi, độ tuổi trung bình của nhóm chứng là 43,86±12,152 tuổi. Tỷ lệ nam/nữ chung của các đối tượng tham gia nghiên cứu là 1,7/1, tỷ lệ này trong nhóm bệnh là 3,17/1 và trong nhóm chứng là 1/1. Về đặc điểm lâm sàng của các đối tượng bệnh nhân trong nghiên cứu cho thấy, chủ yếu bệnh nhân được chẩn đoán ung thư phổi không tế bào nhỏ, Trong đó, tỉ lệ ung thư biểu mô tuyến với là 94%, tỉ lệ ung thư biểu mô vảy chỉ chiếm 6%. Hầu hết bệnh nhân nghiên cứu đang ở giai đoạn IV, với tỉ lệ 78%, số bệnh nhân ở giai đoạn II-III chỉ chiếm 22% và không có bệnh nhân nào ở giai đoạn I.

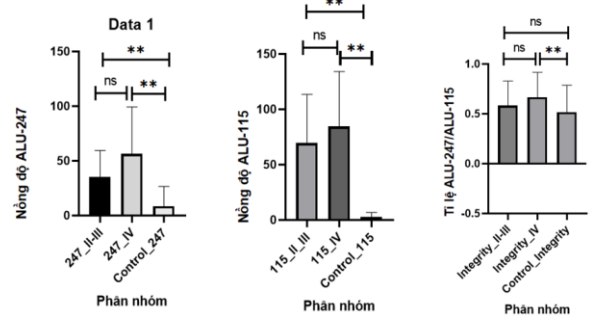
3.2. Xác định nồng độ ALU-115, ALU-247, tỉ lệ ALU-247/ALU-115 trong môi liên quan với bệnh UTPKTBN

Bảng 2. Nồng độ ALU-115, ALU-247 và tỉ lệ ALU-247/ALU-115 ở đối tượng nghiên cứu

	Nhóm chứng	Nhóm bệnh	P
Nồng độ ALU-115 (ng/mL)	8,63±17,89	81,25±48,36	<0,001*
Nồng độ ALU-247(ng/mL)	2,67±3,39	51,75±40,25	<0,001*
ALU247/ALU115	0,52±0,27	0,65±0,25	0,013*

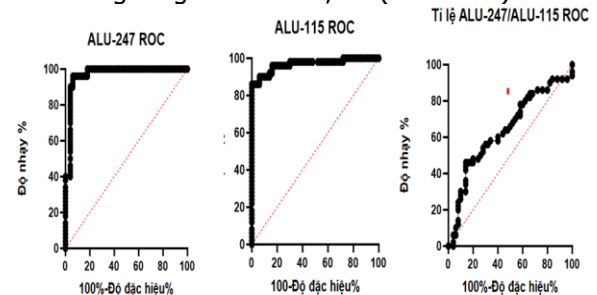
Kết quả nghiên cứu cho thấy sự tăng có ý nghĩa của nồng độ ALU-115, và ALU-247 ở nhóm bệnh nhân UTPKTBN (81,25±48,36 ng/mL; 51,75±40,25 ng/mL) so với nhóm chứng

(8,63±17,89 ng/mL; 2,67±3,39 ng/mL)(Bảng 2). Kết quả cũng cho thấy nồng độ ALU-115, ALU-247 ở nhóm bệnh nhân UTPKTBN giai đoạn II-III và giai đoạn IV cao hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng (P<0,05). (Biểu đồ 1)



Biểu đồ 1. Nồng độ của ALU-115, ALU-247, tỉ lệ ALU-247/ALU-115 ở các nhóm đối tượng nghiên cứu

Chúng tôi dựng đường cong ROC để phân tích so sánh giá trị chẩn đoán của ALU-115, ALU-247 và tỉ lệ ALU-247/ALU-115 dựa vào diện tích dưới đường cong (AUC). Giá trị AUC càng lớn cho thấy mức ý nghĩa về giá trị chẩn đoán của xét nghiệm càng tốt. Kết quả cho thấy giá trị diện tích dưới đường cong của xét nghiệm ALU-247 là tốt nhất 96,692%, p<0,001 với độ nhạy là 94% và độ đặc hiệu là 96% ở giá trị cut-off nồng độ là 8,16 ng/mL; diện tích dưới đường cong của xét nghiệm ALU-115 là 96,68%,p<0,001, với độ nhạy là 100% và độ đặc hiệu là 86% ở giá trị cut-off nồng độ là 9,75 ng/mL; diện tích dưới đường cong của tỉ lệ ALU-247/ALU-115 là 64,12%, p=0,015, với độ nhạy là 86% và độ đặc hiệu là 46% ở ngưỡng cut-off là 0,44. (Biểu đồ 2)



Biểu đồ 2. Đường cong ROC cho giá trị chẩn đoán của nồng độ ALU-247, ALU-115, tỉ lệ ALU-247/ALU-115

IV. BÀN LUẬN

Chẩn đoán sớm, theo dõi tiên lượng và tái phát cho các bệnh nhân bệnh UTPKTBN bằng cách sử dụng các dấu ấn sinh học có độ nhạy, độ đặc hiệu cao, ít xâm lấn là một trong những

cách tiếp cận hết sức quan trọng để giảm thiểu gánh nặng bệnh tật của bệnh ung thư phổi nói chung và UTPKTBN nói riêng. Hiện nay mặc dù có nhiều phương pháp đang được sử dụng để sàng lọc chẩn đoán sớm cũng như theo dõi tiên lượng và tái phát cho bệnh UTPKTBN như chụp cắt lớp vi tính (CT), X-quang, hay xét nghiệm kháng nguyên CEA. Tuy nhiên, các phương pháp này thường chẩn đoán được khối u ở giai đoạn khá muộn hoặc có độ nhạy và độ đặc hiệu thấp. Gần đây DNA tự do trong tuần hoàn được xem như là một dấu ấn sinh học có giá trị lớn và đầy tiềm năng vì khả năng thực hiện xét nghiệm đơn giản dễ dàng, ít xâm lấn cũng như khả năng tái lập cao. Nghiên cứu đã chỉ ra rằng giá trị trung bình của nồng độ ALU-247, ALU-115 cũng như tỉ lệ ALU-247/ALU-115 tăng cao hơn đáng kể ở nhóm bệnh nhân bệnh UTPKTBN so với nhóm chứng. Những kết quả này cũng tương tự như kết quả của các tác giả Kayokowaki và cộng sự hay Sai ren và cộng sự.

ALU-115 và ALU-247 trước đây vẫn được nghiên cứu nhằm đánh giá sự khác biệt giữa quá trình chết tế bào theo chương trình và chết tế bào theo cơ chế hoại tử. Trong quá trình chết tế bào theo chương trình (apoptosis), các phân tử DNA bị phân mảnh tạo thành những đoạn DNA có kích thước từ 185-200bp (ALU-115); các đoạn DNA có kích thước dài hơn như ALU-247 được đánh giá là sản phẩm của quá trình hoại tử tế bào, trong khi đó đoạn DNA ngắn hơn như ALU-115 được nhận định có tương ứng với tổng lượng DNA của tế bào. Các tế bào chết bằng quá trình hoại tử chủ yếu liên quan đến sự tiến triển của khối u, do đó các mảnh DNA dài hơn được quan tâm như là một dấu ấn sinh học hứa hẹn cho chẩn đoán ung thư.^{5,6}

Sự tăng biểu hiện của nồng độ ALU-115, ALU-247 và tỉ lệ ccfDNA trong huyết tương của các bệnh nhân có thể xuất phát từ sự vỡ của các mô u, hoại tử tế bào, apoptosis, quá trình phân bào không kiểm soát, tự thực bào (autophagy), sự giải phóng của chính khối u, các tế bào bình thường và sự vận chuyển của các vi di căn trong tuần hoàn. Trong các mô u luôn có sự tăng sinh của các tế bào với tốc độ cao do đó cần các cơ chế để cân bằng lại quá trình này, cơ chế đầu tiên đó là tăng tỷ lệ chết của tế bào theo chương trình và sau đó là tăng tỷ lệ hoại tử của các tế bào khi mô u bắt đầu xâm lấn. Bởi vậy, tính toàn vẹn của ccfDNA trong tuần hoàn được coi là một trong những dấu ấn thích hợp với bệnh ung thư.

Những kết quả thu được từ nghiên cứu này chỉ ra rằng sự biểu hiện của nồng độ ALU-247,

ALU-115 và chỉ số toàn vẹn ccfDNA (ALU-247/ALU-115) cho thấy một xu hướng tăng trong các giai đoạn của UTPKTBN với kết quả chỉ ra các giá trị trung bình của các chỉ số này ở bệnh nhân giai đoạn II-III và giai đoạn IV tăng cao hơn so với đối tượng trong nhóm chứng. Kết quả này có thể do DNA được giải phóng từ tế bào khối u vào tuần hoàn được nâng lên do sự xâm lấn bạch huyết. Các nghiên cứu chỉ ra rằng các mạch bạch huyết hoặc các mạch máu đi qua khối u đã tạo điều kiện cho khối u thay đổi và lan rộng từ đó sự khuếch tán của DNA giải phóng từ tế bào chết ở mô u vào tuần hoàn tăng lên. Do đó, ccfDNA trong tuần hoàn có thể liên quan trực tiếp đến tốc độ di chuyển của các tế bào khối u và sự phát triển của khối u, đại diện cho sự xâm lấn của khối u. Kết quả tính toán vẹn của ccfDNA trong tuần hoàn có thể được sử dụng để theo dõi tiến trình phát triển của UTPKTBN.^{5,7}

Các phân tích đường cong ROC từ lâu đã được sử dụng rộng rãi trong đánh giá giá trị chẩn đoán và tiên lượng của các dấu ấn sinh học trong các bệnh lý. Nghiên cứu này cho thấy, các dấu ấn nồng độ ALU-115, ALU-247 và tỉ lệ ALU-247/ALU-115 qua phân tích đường cong ROC đều có giá trị trong xác định sớm được UTPKTBN: với kết quả nồng độ trung bình ALU-247 huyết thanh cho giá trị AUC=96,692%, $p<0,001$, với nồng độ trung bình ALU-247 cho giá trị AUC=96,68%, $p<0,001$, với tỉ lệ ALU-247/ALU-115 cho giá trị AUC=64,12%, $p=0,015$.

Tuy nhiên, trong nghiên cứu này vẫn còn tồn tại những mặt hạn chế như cỡ mẫu nghiên cứu còn nhỏ, các bệnh nhân được lấy mẫu theo cách thuận tiện do đó tỷ lệ bệnh nhân các giai đoạn chưa đồng đều không có bệnh nhân ở giai đoạn Tis hay giai đoạn I dẫn tới các đánh giá tiến triển của dấu ấn sinh học ALU-115, ALU-247 chưa được hoàn toàn đầy đủ. Và cần thực hiện các nghiên cứu tiếp theo nhằm khắc phục các hạn chế này để xác nhận lại các nghiên cứu của chúng tôi.

V. KẾT LUẬN

Nồng độ của các dấu ấn sinh học ALU-115, ALU-247 và tỉ lệ ALU-247/ALU-115 tăng ở bệnh nhân UTPKTBN cũng như có xu hướng tăng theo giai đoạn của bệnh. Các dấu ấn sinh học này có tiềm năng trở thành xét nghiệm trong chẩn đoán sớm và theo dõi điều trị bệnh UTPKTBN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and

- mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424. doi:10.3322/caac.21492
- Molina JR, Yang P, Cassivi SD, Schild SE, Adjei AA.** Non-Small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Risk Factors, Treatment, and Survivorship. *Mayo Clin Proc Mayo Clin.* 2008;83(5):584-594.
 - Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D.** Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2011;61(2):69-90. doi:10.3322/caac.20107
 - Emerging molecular biomarkers—blood-based strategies to detect and monitor cancer | Nature Reviews Clinical Oncology.** Accessed October 30, 2023. <https://www.nature.com/articles/nrclinonc.2010.220>
 - De Mattos-Arruda L, Cortes J, Santarpia L, et al.** Circulating tumour cells and cell-free DNA as tools for managing breast cancer. *Nat Rev Clin Oncol.* 2013;10(7): 377-389. doi: 10.1038/nrclinonc.2013.80
 - Increased Integrity of Free Circulating DNA in Sera of Patients with Colorectal or Periapillary Cancer: Direct Quantitative PCR for ALU Repeats | Clinical Chemistry | Oxford Academic.** Accessed October 30, 2023. <https://academic.oup.com/clinchem/article/52/6/1062/5627032>
 - Hussein NA, Mohamed SN, Ahmed MA.** Plasma ALU-247, ALU-115, and cfDNA Integrity as Diagnostic and Prognostic Biomarkers for Breast Cancer. *Appl Biochem Biotechnol.* 2019;187(3): 1028-1045. doi:10.1007/s12010-018-2858-4
 - Ren S, Ren X, Guo H, et al.** Concentration and integrity indexes of urine cell-free DNA as promising biomarkers for early lung cancer diagnosis. *Pers Med.* 2021;18(2):129-139. doi:10.2217/pme-2020-0019
 - Waki K, Yokomizo K, Yoshiyama K, Takamori S, Komatsu N, Yamada A.** Integrity of circulating cell-free DNA as a prognostic biomarker for vaccine therapy in patients with nonsmall cell lung cancer. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2021;43(2):176-182. doi:10.1080/08923973.2021.1872619

NỒNG ĐỘ TNF-ALPHA HUYẾT THANH TRÊN BỆNH NHÂN MÀY ĐAY MẠN TÍNH

Lê Thái Vân Thanh^{1,2}, Mạch Khánh Huy²

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Mày đay mạn tính là một bệnh da phổ biến và hay tái phát. Sinh bệnh học có liên quan mật thiết đến sự phóng thích histamin và các hoá chất trung gian hoạt hoá mạch máu của tế bào mast. Bên cạnh đó, nhiều nghiên cứu cho thấy rằng còn có sự tham gia của các chất trung gian tiền viêm, đặc biệt là các cytokine. Tumor necrosis factor - alpha (TNF-alpha) là một cytokine tiền viêm liên quan mật thiết đến phản ứng viêm, miễn dịch và ngứa. **Mục tiêu:** Mô tả đặc điểm dịch tễ, lâm sàng và xác định nồng độ TNF-alpha trong huyết thanh của bệnh nhân mày đay mạn tính đến khám tại bệnh viện Đại học Y Dược TP. HCM. **Đối tượng – Phương pháp nghiên cứu:** Mô tả cắt ngang có phân tích, gồm 60 bệnh nhân mày đay mạn tính và 30 người khỏe mạnh được đưa vào nghiên cứu trong khoảng thời gian từ tháng 10/2021 đến tháng 8/2022. Độ nặng của bệnh được đánh giá bằng thang điểm Urticaria Activity Score over 7 days (UAS7). Định lượng TNF-alpha huyết thanh bằng kỹ thuật ELISA, sử dụng bộ kit Avi Bion Human TNF-alpha. **Kết quả:** 60 bệnh nhân mày đay mạn tính (18 nam và 42 nữ) độ tuổi trung bình là 35,8 ± 10,4 tuổi.

Nồng độ TNF-alpha của nhóm bệnh nhân mày đay mạn tính cao hơn nhóm người khỏe mạnh có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). **Kết luận:** Nồng độ TNF-alpha huyết thanh trên bệnh nhân mày đay mạn tính cao hơn so với người khỏe mạnh. **Từ khóa:** Mày đay mạn tính, TNF-alpha huyết thanh, UAS7.

SUMMARY

SERUM CONCENTRATION OF TNF-ALPHA AMONG PATIENTS WITH CHRONIC SPONTANEOUS URTICARIA

Background: Chronic spontaneous urticaria is a common skin disorder with high recurrent rate. The disease's pathogenesis is closely related to the release of histamine and vascular activating chemical mediators from mast cells. Besides, many studies show that cytokines play an essential role in the pathogenesis. Tumor necrosis factor - alpha (TNF-alpha) is a proinflammatory cytokine intimately involved in inflammatory, immune, and pruritic response. **Objective:** Our research aimed to determine clinical characteristics, epidemiology and level of TNF-alpha serum concentration in patients with chronic spontaneous urticaria at University Medical Center of Ho Chi Minh city. **Methods:** 60 chronic spontaneous urticaria patients (age ≥ 18) was recruited. 30 healthy adults served as the control group. UAS7 of chronic urticaria patients was evaluated during the interview. Serum TNF-alpha was measured using Avi Bion Human TNF-alpha. **Results:** 60 patients with chronic spontaneous urticaria (18 men and 42 women) had median age at 35.8 ± 10.4 years. The serum concentration of TNF-alpha in the

¹Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

²Bệnh viện Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Lê Thái Vân Thanh

Email: thanh.ltv@umc.edu.vn

Ngày nhận bài: 01.12.2023

Ngày phản biện khoa học: 15.01.2024

Ngày duyệt bài: 2.2.2024