

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ QUỐC PHÒNG

HỌC VIỆN QUÂN Y

DƯƠNG THÙY LINH

NGHIÊN CỨU GIÁ TRỊ CỦA DẤU ẤN METHYL
HÓA GEN *SEPT9* HUYẾT TƯƠNG TRONG
CHẨN ĐOÁN UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNG

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI – 2025

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ QUỐC PHÒNG

HỌC VIỆN QUÂN Y

DƯƠNG THÙY LINH

**NGHIÊN CỨU GIÁ TRỊ CỦA DẤU ẤN METHYL
HÓA GEN *SEPT9* HUYẾT TƯƠNG TRONG
CHẨN ĐOÁN UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNG**

Ngành: Ung thư

Mã số: 9 72 01 08

Hướng dẫn khoa học: 1. GS.TS Nguyễn Văn Ba
2. TS. Hồ Hữu Thọ

HÀ NỘI – 2025

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là **Dương Thùy Linh**, nghiên cứu sinh Học viện Quân Y, chuyên ngành Ung thư, xin cam đoan:

Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của thầy GS.TS Nguyễn Văn Ba và TS. Hồ Hữu Thọ.

Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.

Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về những cam kết này.

Hà Nội, ngày tháng 09 năm 2025

Học viên

Dương Thùy Linh

LỜI CẢM ƠN

Với lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc, tôi xin bày tỏ lời cảm ơn chân thành tới:

Ban Giám đốc Học viện Quân y, Phòng quản lý đào tạo sau đại học HVQY, Bộ môn Ung thư HVQY đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập.

Đảng ủy, Ban Giám đốc Bệnh viện Quân y 103, Bệnh viện K Trung ương đã luôn giúp đỡ tôi trong quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận án này.

Phòng Công nghệ gen và di truyền - Viện Nghiên cứu Y dược học Quân sự - Học viện Quân y; Trung tâm Ung bướu – Bệnh viện Quân y 103; Khoa Ngoại Bụng 1 – Bệnh viện K; Khoa Ống tiêu hoá – BV Quân Y 103 đã tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập và tiến hành nghiên cứu này.

Đặc biệt, tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới GS.TS. Nguyễn Văn Ba và TS Hồ Hữu Thọ – những người thầy đã tận tình hướng dẫn, dìu dắt tôi trong quá trình học tập, nghiên cứu, giúp tôi hoàn thành luận án này.

Tôi xin chân thành cảm ơn các thầy cô, các anh chị đi trước, bạn bè, đồng nghiệp và người thân trong gia đình đã luôn chia sẻ, động viên tôi thực hiện và hoàn thành luận án này.

Hà Nội, ngày tháng 09 năm 2025

Dương Thuỳ Linh

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Tổng quan ung thư đại trực tràng.....	3
1.1.1. Dịch tễ.....	3
1.1.2 Cơ chế bệnh sinh.....	4
1.1.3 Chẩn đoán ung thư đại trực tràng.....	9
1.1.4 Định hướng lựa chọn phương pháp điều trị, dự đoán và tiên lượng	18
1.2. Thách thức và khó khăn trong sàng lọc phát hiện sớm UTĐTT.....	19
1.3. Methyl hóa gen <i>SEPT9</i> trong ung thư đại trực tràng.....	21
1.3.1. Cấu trúc và chức năng của gen <i>SEPT9</i>	21
1.3.2 Cơ chế bệnh sinh của gen <i>SEPT9</i> trong hình thành và phát triển các khối u ác tính.....	23
1.3.3 Cơ chế methyl hóa gen <i>SEPT9</i> trong ung thư đại trực tràng.....	25
1.4. Các phương pháp phân tích phát hiện m <i>SEPT9</i>	26
1.4.2 Phân tích methyl hóa DNA nhờ kỹ thuật làm giàu ái lực.....	28
1.4.3 Phân tích methyl hóa DNA nhờ xử lý bisulfite.....	28
1.5. Các nghiên cứu trên thế giới về giá trị dấu ấn m <i>SEPT9</i> huyết tương ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng.....	31
1.5.1 Giá trị dấu ấn m <i>SEPT9</i> huyết tương trong sàng lọc phát hiện sớm ung thư đại trực tràng.....	31
1.5.2 Giá trị dấu ấn m <i>SEPT9</i> huyết tương trong tiên lượng, theo dõi sau điều trị ung thư đại trực tràng.....	33
1.6. Tình hình nghiên cứu trong nước về các chỉ thị sinh học trong ung thư đại trực tràng.....	35
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	38

2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	38
2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn.....	38
2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ.....	38
2.1.3. Thời gian, địa điểm nghiên cứu.....	38
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	39
2.2.1. Thiết kế nghiên cứu.....	39
2.2.2. Cỡ mẫu.....	39
2.2.3. Sơ đồ nghiên cứu	40
2.2.4 Biến số và chỉ số nghiên cứu.....	41
2.3. Các bước thu thập thông tin.....	44
2.3.1 Thu thập thông tin đặc điểm lâm sàng.....	44
2.3.2. Thu thập thông tin đặc điểm cận lâm sàng.....	44
2.3.3. Thu thập thông tin điều trị và thời điểm lấy mẫu xét nghiệm.....	46
2.3.4. Thu thập thông tin theo dõi bệnh nhân đánh giá tình trạng tái phát, di căn, tử vong.....	46
2.4 Các nguyên lý và quy trình kỹ thuật trong đề tài.....	47
2.4.1 Phương tiện, hoá chất.....	47
2.4.2 Nguyên lý và quy trình kỹ thuật.....	47
2.5 Phương pháp phân tích xử lý số liệu.....	54
2.5.1 Phân tích các biến số định lượng.....	54
2.5.2 Phân tích các biến số định tính.....	55
2.5.3 Đánh giá giá trị của một phương pháp chẩn đoán.....	55
2.5.4 Phân tích thời gian sống còn và các yếu tố ảnh hưởng.....	57
2.6 Đạo đức nghiên cứu.....	57
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....	58
3.1 Một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của đối tượng nghiên cứu.....	58
3.1.1. Phân bố theo tuổi và giới tính.....	58
3.1.2. Phân bố theo vị trí ung thư đại trực tràng.....	60

3.1.3. Thời gian có triệu chứng đến khi chẩn đoán xác định.....	60
3.1.4. Đặc điểm lâm sàng của nhóm BNUTĐTT.....	61
3.1.5. Đặc điểm cận lâm sàng của nhóm BNUTĐTT.....	62
3.1.6. Đặc điểm điều trị và đánh giá sau điều trị.....	63
3.2 Xác định giá trị chẩn đoán và mối liên quan của mSEPT9 huyết tương với đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng bệnh nhân ung thư đại trực tràng bằng kỹ thuật PCR với mẫu dò khoá kéo dài chuỗi.....	67
3.2.1 Giá trị chẩn đoán của xét nghiệm mSEPT9 huyết tương trong chẩn đoán ung thư đại trực tràng.....	67
3.2.2 Xác định mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 huyết tương với đặc điểm lâm sàng, đặc điểm cận lâm sàng của nhóm BNUTĐTT.....	76
3.3 Đặc điểm độ biến động mSEPT9 trước và sau điều trị triệt căn ở nhóm BNUTĐTT giai đoạn III.....	83
3.3.1. Những thay đổi trong mSEPT9 huyết tương ở bệnh nhân UTĐTT trước và 7 ngày sau phẫu thuật.....	83
3.3.2. Mối liên quan sự biến động mSEPT9 trước và sau phẫu thuật với đặc điểm của nhóm BNUTĐTT giai đoạn III.....	84
CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN.....	95
4.1. Đặc điểm của đối tượng tham gia nghiên cứu.....	95
4.1.1 Đặc điểm chung của đối tượng tham gia nghiên cứu.....	95
4.1.2 Đặc điểm cận lâm sàng của đối tượng tham gia nghiên cứu.....	100
4.2 Xác định giá trị chẩn đoán và mối liên quan của mSEPT9 huyết tương với đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng bệnh nhân ung thư đại trực tràng bằng kỹ thuật PCR với mẫu dò khoá kéo dài chuỗi.....	107
4.2.1 Độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán dương tính, giá trị tiên đoán âm tính của dấu ấn mSEPT9 huyết tương trong chẩn đoán UTĐTT.....	107
4.2.2 Mối liên quan về đặc điểm mSEPT9 trước điều trị với các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của nhóm bệnh nhân nghiên cứu.....	113

4.3 Đánh giá độ biến động của dấu ấn mSEPT9 huyết tương trước và sau điều trị UTĐTT giai đoạn III.....	117
KẾT LUẬN.....	124
KIẾN NGHỊ.....	126
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU CỦA TÁC GIẢ ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN.....	127
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Phần Viết tắt	Phần viết đầy đủ Tiếng Anh	Phần viết đầy đủ Tiếng Việt
AJCC	American Joint Committee on Cancer	Hiệp hội Ung thư Hoa Kỳ
AUC	Area Under the Curve	Diện tích dưới đường cong
BN		Bệnh nhân
BNUTĐTT		Bệnh nhân Ung thư đại trực tràng
CIN	Chromosomal instability	Bất ổn định nhiễm sắc thể
CIMP	CpG island methylator phenotype	Methyl hóa đảo CpG
CT	Computer Tomography	Chụp cắt lớp vi tính
CEA	Carcinoembryonic Antigen	Kháng nguyên ung thư biểu mô phôi
CI	Confidence Interval	Khoảng tin cậy
cs		cộng sự
DNA	Deoxyribonucleic acid	DNA
ExBP-RT	Extendable blocking probe - Reverse transcription	kỹ thuật công nghệ phiên mã ngược với mẫu dò khóa có thể kéo dài chuỗi
FDA	Food and Drug Administration	Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ
FIT	Fecal Immunochemical Test	FIT
HR	Hazard Ratio	Tỷ số rủi ro
HDI	Human Development Index	Chỉ số phát triển con người
MSI	Microsatellite instability	Bất ổn định vi vệ tinh
MMR	Mismatch repair deficiency	
MLH1		Đột biến tương đồng 1
MSH2		Đột biến tương đồng 2
mSEPT9	Methylation gen <i>SEPT9</i>	Methyl hóa gen <i>SEPT9</i>

Phần Viết tắt	Phần viết đầy đủ Tiếng Anh	Phần viết đầy đủ Tiếng Việt
MRI	Magnetic Resonance Imaging	Chụp cộng hưởng từ
MRD	Minimal Residual Disease	bệnh còn sót lại ở mức tối thiểu
MSP	methylation-specific PCR	
NGS	New Generation Sequencing	Giải trình tự thế hệ mới
NPV	Negative Predictive Value	Giá trị tiên đoán âm
OS	Overall Survival	Thời gian sống còn toàn bộ
OR	Odds Ratio	Tỷ số chênh
PET/CT	Positron Emission Tomography	Chụp cắt lớp Positron phát xạ kết hợp chụp cắt lớp vi tính
PFS	Progression-Free Survival	Thời gian sống bệnh không tiến triển
PCR	Polymerase Chain Reaction	Phản ứng chuỗi polymerase
PPV	Positive Predictive Value	Giá trị tiên đoán dương
RT – PCR	Realtime PCR	RT – PCR
RNA	Ribonucleic acid	
ROC	Receiver Operating Characteristic	
TNM		T: tumor (khối u), M: metastasis (di căn), N: lymph node (hạch lympho)
UTĐTT		Ung thư đại trực tràng
WHO	World Health Organization	Tổ chức Y tế Thế giới
WGBS	Whole Genome Bisulfite Sequencing	Giải trình tự toàn bộ hệ gen

DANH MỤC BẢNG

Bảng	Tên bảng	Trang
-------------	-----------------	--------------

1.1.	Phân loại độ biệt hóa ung thư biểu mô tuyến đại trực tràng.....	15
1.2:	Phân loại giai đoạn bệnh ung thư đại trực tràng theo AJCC 2017.....	16
1.3	Những dấu ấn sinh học hiện nay sử dụng trong UTĐTT.....	19
3.1.	Tuổi của đối tượng nghiên cứu.....	58
3.2.	Đặc điểm về giới tính ở các nhóm nghiên cứu.....	59
3.3.	Thời gian có triệu chứng đến khi chẩn đoán xác định.....	60
3.4.	Triệu chứng cơ năng và triệu chứng thực thể.....	61
3.5.	Kích thước u theo chu vi đại trực tràng trên nội soi.....	62
3.6.	Đặc điểm nồng độ CEA huyết tương trước điều trị, phân nhóm theo giai đoạn khối u.....	63
3.7.	Các phương pháp điều trị cho nhóm bệnh nhân nghiên cứu.....	63
3.8	Đặc điểm u đại thể trên bệnh phẩm phẫu thuật.....	65
3.9.	Đặc điểm thể mô bệnh học khối u trên bệnh phẩm phẫu thuật.....	66
3.10.	Phân loại giai đoạn bệnh sau phẫu thuật theo phân loại yp TNM, p TNM (AJCC 2018).....	67
3.11.	Giá trị độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị chẩn đoán dương, giá trị chẩn đoán âm của mSEPT9.....	68
3.12.	Mức độ liên quan giữa tình trạng mSEPT9 với tình trạng UTĐTT phân biệt với người khỏe mạnh.....	70
3.13.	Mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 huyết tương với đặc điểm chung ở nhóm BNUTĐTT.....	77
3.14.	Mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 huyết tương với đặc điểm lâm sàng ở nhóm BNUTĐTT.....	78
3.15.	Mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 huyết tương với đặc điểm đại thể của khối u trên nội soi và giải phẫu bệnh ở BNUTĐTT.....	79

Bảng	Tên bảng	Trang
------	----------	-------

3.16. Mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 huyết tương với đặc điểm vi thể của khối u trên bệnh phẩm giải phẫu bệnh ở nhóm BNUTĐTT.....	80
3.17. Mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 huyết tương với đặc điểm khối u trên bệnh phẩm giải phẫu bệnh ở nhóm BNUTĐTT.....	80
3.18. Mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 huyết tương với đặc điểm giai đoạn bệnh ở nhóm BNUTĐTT.....	81
3.19. Mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 huyết tương với đặc điểm giai đoạn bệnh TNM ở nhóm BNUTĐTT.....	82
3.20. Mức độ liên quan giữa mSEPT9 trước điều trị với tình trạng UTĐTT giai đoạn sớm phân biệt với giai đoạn muộn.....	82
3.21. Mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 huyết tương với đặc điểm xét nghiệm CEA ở nhóm BNUTĐTT.....	83
3.22. Đặc điểm mSEPT9 huyết tương trước và sau phẫu thuật.....	84
3.23. Mối liên quan mSEPT9 trước và sau phẫu thuật với giai đoạn bệnh....	85
3.24. Mối liên quan mSEPT9 sau phẫu thuật với đặc điểm đại thể khối u....	86
3.25. Mối liên quan mSEPT9 sau phẫu thuật với đặc điểm vi thể khối u.....	87
3.26. Mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 sau phẫu thuật và tình trạng tiến triển sau phẫu thuật triệt căn ở BNUTĐTT giai đoạn III.....	89
3.27. Hồi quy Cox cho PFS ở BNUTĐTT giai đoạn III.....	93
3.28. Mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 sau phẫu thuật và tình trạng tử vong sau phẫu thuật triệt căn ở BNUTĐTT giai đoạn III.....	95

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Bảng	Tên bảng	Trang
3.1.	Đặc điểm phân bố các nhóm tuổi.....	59
3.2.	Vị trí ung thư đại trực tràng.....	60
3.3.	Hình ảnh dạng tổn thương khối u trên nội soi trước điều trị.....	62
3.4.	Độ nhạy mSEPT9 và CEA theo giai đoạn bệnh.....	73
3.5.	Độ nhạy mSEPT9 và CEA theo giai đoạn khối u (T).....	74
3.6.	Độ nhạy mSEPT9 và CEA theo giai đoạn hạch (N).....	75
3.7.	Độ nhạy mSEPT9 và CEA theo giai đoạn di căn xa (M).....	76

DANH MỤC HÌNH

Hình	Tên hình	Trang
1.1.	Trình tự tiến triển ung thư biểu mô tuyến đại trực tràng.....	4
1.2.	Quá trình methyl hoá các gen trong cơ chế bệnh sinh ung thư.....	7
1.3.	Tổn thương ung thư đại trực tràng trên nội soi.....	11
1.4.	Phân loại septin, miền trình tự và tạo thành oligome và polyme.....	21
1.5.	Bản đồ các đồng dạng <i>SEPT9</i>	22
2.1.	Sơ đồ thiết kế nghiên cứu.....	40
2.2.	Thiết kế môi cho semi – nested PCR.....	50
2.3.	Sơ đồ biểu diễn xét nghiệm PCR thời gian thực bán lồng nhau để phát hiện <i>mSEPT9</i> dựa trên phân tích nóng chảy DNA.....	52
2.4.	Phân tích đường cong nóng chảy DNA để phát hiện <i>mSEPT9</i>	53
3.1.	Giá trị chẩn đoán <i>mSEPT9</i> trong chẩn đoán ung thư đại trực tràng.....	68
3.2.	Giá trị chẩn đoán <i>mSEPT9</i> trước điều trị, và giá trị chẩn đoán <i>mSEPT9</i> kết hợp CEA trước điều trị trong chẩn đoán UTĐTT giai đoạn sớm và giai đoạn muộn.....	70
3.3.	Giá trị chẩn đoán của <i>mSEPT9</i> trong chẩn đoán UTĐTT so với người khoẻ mạnh theo giới tính.....	71
3.4.	Phân tích giá trị tiên đoán của tình trạng <i>mSEPT9</i> sau phẫu thuật đối với tiến triển sau phẫu thuật ở những bệnh nhân UTĐTT giai đoạn III.....	87
3.5.	Phân tích giá trị tiên đoán của kết hợp tình trạng <i>mSEPT9</i> sau phẫu thuật và trước phẫu thuật đối với tiến triển sau phẫu thuật ở BNUTĐTT giai đoạn III.....	89
3.6.	Ước lượng tiến triển sau phẫu thuật ở BNUTĐTT giai đoạn III dựa trên phân tích đường cong Kaplan – Meier của tình trạng <i>mSEPT9</i> sau phẫu thuật <i>mSEPT9</i> dương tính trước và âm tính sau PT.....	91

Hình	Tên hình	Trang
3.7.	Ước lượng tiến triển sau phẫu thuật ở BNUTĐTT giai đoạn III dựa trên phân tích đường cong Kaplan – Meier của tình trạng kết hợp mSEPT9 trước và sau điều trị phẫu thuật.....	91
3.8.	Phân tích giá trị tiên đoán của tình trạng mSEPT9 sau phẫu thuật đối với tình trạng tử vong sau phẫu thuật ở BNUTĐTT giai đoạn III.....	93

ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo Tổ chức y tế thế giới (WHO) tại thời điểm năm 2022 có gần 20 triệu ca ung thư mới và gần 10 triệu ca tử vong do ung thư. Mặc dù, nhiều tiến bộ trong chẩn đoán và điều trị, theo Globocan 2022 trên thế giới ung thư đại trực tràng (UTĐTT) vẫn đứng thứ ba về tỷ lệ mắc và đứng thứ hai về tỷ lệ tử vong trong các bệnh ung thư hiện nay, tại Việt Nam UTĐTT là ung thư phổ biến đứng thứ 4 với 16 835 ca mới mắc [1]. Đặc biệt, UTĐTT ngày càng có xu hướng trẻ hoá với sự gia tăng số bệnh nhân (BN) ở độ tuổi dưới 50 tuổi. Dự báo năm 2030, số BNUTĐTT ở người dưới 50 tuổi sẽ tăng gấp đôi.

UTĐTT được phát hiện sớm thì có thể được chữa khỏi hoàn toàn, giai đoạn bệnh tại thời điểm phát hiện có thể tiên lượng được thời gian sống thêm, thời gian sống còn toàn bộ trên 5 năm ở giai đoạn I là trên 90%, giảm xuống 70% cho giai đoạn II, 58% giai đoạn III, 15% giai đoạn IV, thậm chí giảm còn 5% [2]. Cho đến nay, tuy có rất nhiều tiến bộ trong tầm soát, chẩn đoán bệnh cũng như sự hiểu biết của người dân nhưng vẫn có khoảng 25% UTĐTT đã di căn tại thời điểm chẩn đoán và 25% - 50% BN tiến triển di căn, đặc biệt nhóm BNUTĐTT giai đoạn III là nhóm có khả năng điều trị triệt căn, nhưng lại có nguy cơ tiến triển tái phát di căn trong thời gian ngắn và tỉ lệ cao nhất do đặc điểm đã di căn hạch vùng trước đó và phụ thuộc vào đáp ứng điều trị hỗ trợ sau điều trị triệt căn [3]. Do đó, vấn đề cần có những công cụ phát hiện ở giai đoạn sớm, cũng như có khả năng theo dõi, tiên lượng là rất quan trọng và cần thiết. Nội soi đại trực tràng sinh thiết được coi là tiêu chuẩn vàng trong sàng lọc và chẩn đoán UTĐTT với độ nhạy và độ đặc hiệu cao trong phát hiện tổn thương tiền ung thư và tổn thương ung thư đến 97-98% [4]. Tuy nhiên, nội soi là xét nghiệm có xâm lấn, đòi hỏi chuẩn bị phức tạp và có thể có biến chứng nguy hiểm. Ngày nay, với sự nghiên cứu và phát hiện đa dạng các dấu ấn sinh học đã mở ra kỉ nguyên mới về các phương pháp xét nghiệm không

xâm lấn, sàng lọc sớm giảm tỉ lệ BN phải can thiệp nội soi không cần thiết, tăng tỉ lệ phát hiện sớm BNUTĐTT và có thể theo dõi, tiên lượng, thậm chí có khả năng tiên lượng đáp ứng với phương pháp điều trị, từ đó là cơ sở giảm tỉ lệ tử vong do nguyên nhân UTĐTT [5].

Hiện tại, dấu ấn sinh học đầu tiên dựa trên methyl hóa DNA trong máu có giá trị chẩn đoán đối với UTĐTT được Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (Food and Drug Administration – FDA) phê duyệt chấp thuận là xét nghiệm sàng lọc UTĐTT với dấu ấn methyl hóa gen *SEPT9* (m*SEPT9*) [6]. Xét nghiệm m*SEPT9* thế hệ thứ hai được gọi là Epi proColon 2 đã được công bố vào năm 2015 và có độ nhạy, độ đặc hiệu lần lượt là 74,8% ; 87%, trong khi xét nghiệm máu ẩn trong phân (Fecal Immunochemical Test – FIT) đối chứng có độ nhạy, độ đặc hiệu là 58% và 82% [7]. Trên thế giới, đã có nhiều nghiên cứu về giá trị chẩn đoán cũng như giá trị tiên lượng, theo dõi phát hiện tái phát di căn của xét nghiệm m*SEPT9* huyết tương ở BNUTĐTT. Tuy nhiên, cho đến thời điểm này, các nghiên cứu và hiểu biết về giá trị của m*SEPT9* trong UTĐTT cũng như quy trình kỹ thuật xét nghiệm m*SEPT9* tại Việt Nam còn rất hạn chế. Vì vậy, chúng tôi thực hiện: ***“Nghiên cứu giá trị của dấu ấn methyl hóa gen SEPT9 huyết tương trong chẩn đoán ung thư đại trực tràng”*** nhằm 2 mục tiêu:

1. *Xác định giá trị chẩn đoán và mối liên quan của mSEPT9 huyết tương với đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng bệnh nhân ung thư đại trực tràng bằng kỹ thuật PCR với mẫu dò khoá kéo dài chuỗi.*
2. *Đánh giá độ biến động của dấu ấn mSEPT9 huyết tương trước và sau phẫu thuật bệnh nhân ung thư đại trực tràng giai đoạn III.*

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan ung thư đại trực tràng

1.1.1. Dịch tễ

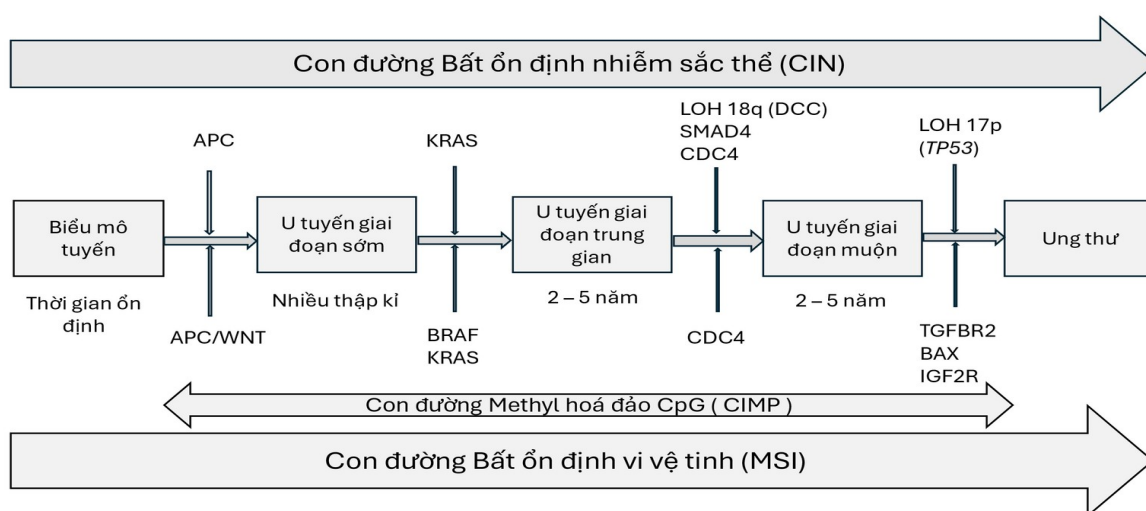
UTĐTT là một bệnh lý gây ra bởi sự hình thành các tế bào ung thư trong các mô của đại tràng và trực tràng.

Trên thế giới, tỉ lệ mắc mới UTĐTT đứng thứ ba chiếm 9,6% sau ung thư phổi và ung thư vú; tỉ lệ tử vong đứng thứ hai chiếm 9,3% chỉ sau ung thư phổi (18,7%) ở cả 2 giới. Về phân bố khu vực lưu hành UTĐTT trong vòng 5 năm, Châu Á dẫn đầu về tỉ lệ mắc mới (49,2%), gấp 2 lần so với châu Âu (22,4%) gấp 3 lần so với khu vực Bắc Mỹ (13,4%). Về tỉ lệ tử vong châu Á cũng vẫn là những quốc gia dẫn đầu chiếm 56,1%, tiếp theo là châu Âu 20,4%. Trong khi các nước Bắc Mỹ đứng thứ 3 về tỉ lệ mắc mới, nhưng về tỷ lệ tử vong lại xếp thứ 5 sau các khu vực châu Á, châu Âu, châu Phi và Mỹ La Tinh chiếm 7,2% [8]. Tại Việt Nam, theo thống kê của WHO và Viện Ung thư Quốc gia năm 2022 Việt Nam có 16835 trường hợp mắc mới UTĐTT đứng thứ 4, tỷ lệ tử vong vì UTĐTT đứng thứ 5 chiếm 7% tổng số các mặt bệnh ung thư. So với năm 2018, số ca bệnh mới mắc UTĐTT tăng lên và số ca tử vong có xu hướng giảm đi, điều đó cho thấy đã có nhiều tiến bộ trong điều trị nhưng còn hạn chế trong chẩn đoán sàng lọc, phát hiện bệnh [9]. Như vậy, UTĐTT được coi là dấu hiệu của sự phát triển kinh tế xã hội. Nhiều báo cáo gần đây ghi nhận sự gia tăng UTĐTT ở người trẻ tuổi (dưới 50 tuổi) ở nhiều quốc gia có thu nhập cao như Hoa Kỳ, Canada, Úc với tỉ lệ mắc bệnh tăng cao mỗi năm [10]. Để giảm bớt gánh nặng gia tăng của UTĐTT khởi

phát sớm, Hiệp hội Ung thư Hoa Kỳ đã hạ độ tuổi sàng lọc xuống 45 tuổi [11]

1.1.2 Cơ chế bệnh sinh

UTĐTT là kết quả của sự tiến triển tích lũy lâu dài của sự biến đổi gen và thay đổi biểu sinh tế bào. Có 3 con đường chính liên quan đến bệnh sinh UTĐTT đó là: Phổ biến nhất là con đường bất ổn định nhiễm sắc thể (Chromosomal instability - CIN) được đặc trưng bởi sự tích lũy đột biến ở các gen gây ung thư và gen ức chế ung thư, thứ hai là con đường bất ổn định vi vệ tinh (Microsatellite instability - MSI) gây ra bởi rối loạn chức năng của các gen sửa chữa DNA dẫn đến khả năng siêu biến đổi gen, thứ 3 là con đường methyl hóa đảo CpG (CpG island methylator phenotype - CIMP) được phân biệt bằng quá trình hypermethylation [12]. Như vậy với 3 con đường chính cho thấy vai trò chính của đặc điểm tích lũy các đột biến gen và methyl hóa gen trong bệnh sinh UTĐTT.



Hình 1.1. Trình tự tiến triển ung thư biểu mô tuyến đại trực tràng.

* Nguồn: theo Vogelstein (1990) [13]

1.1.2.1 Vai trò của đột biến gen trong cơ chế bệnh sinh

Đột biến gen đóng vai trò chính trong cả 2 con đường cơ chế bệnh sinh phổ biến UTĐTT. Con đường CIN là biến đổi di truyền liên quan đến đột biến gen gây ung thư và gen ức chế khối u trực tiếp kiểm soát sự sinh và chết của tế bào, chẳng hạn như *APC*, *KRAS* và *p53*. Con đường MSI liên quan đến đột biến gen sửa chữa sai lệch DNA (*MMR*).

a. Con đường bất ổn định nhiễm sắc thể (CIN)

CIN được đặc trưng bởi sự tích lũy đột biến ở các gen gây ung thư và gen ức chế ung thư. Tỷ lệ đột biến gen trung bình trong tế bào người bình thường được ước tính là $\sim 2,5 \times 10^{-8}$ đột biến/nucleotide/thế hệ. Tuy nhiên, tỷ lệ này cao hơn ở các tế bào ung thư do sự tích lũy liên tiếp của nhiều đột biến trong quá trình phân chia tế bào tạo thành gọi là 'kiểu hình đột biến'. CIN là loại mất ổn định di truyền phổ biến nhất ở UTĐTT, quan sát thấy ở 85% trường hợp ung thư biểu mô tuyến [14]. Năm 1990, Vogelstein đã mô tả trong mô hình di truyền nhiều bước của mình rằng sự tích lũy của nhiều đột biến gen dẫn đến tăng trưởng có chọn lọc đối với các tế bào biểu mô ĐTT [13]. Trong mô hình Vogelstein, các đột biến *APC* đóng vai trò là sự kiện khởi đầu trong quá trình hình thành u tuyến, sau đó là sự tích lũy nhiều đột biến. Mặc dù theo mô hình Vogelstein, ít nhất 7 đột biến riêng biệt cho sự hình thành khối u, trình tự bộ gen của UTĐTT đã tính toán được khoảng 80 gen đột biến trên mỗi khối u đại trực tràng, tuy nhiên có ít hơn 15 đột biến được coi là nguyên nhân thực sự [15]. Đầu tiên, hay đột biến 'khóa cửa' gây ra sự tăng trưởng quá mức của tế bào biểu mô bình thường, khiến chúng phát triển vượt mức bề mặt và tạo thành các vi tăng sản. Đột biến 'khóa cửa' trong UTĐTT thường là *APC*. Các vi tăng sản phát triển chậm, khi có đột biến thứ 2, ví dụ *KRAS*, mở khóa lớp thứ 2 của quá trình phát triển tế bào, làm tăng số lượng tế bào. Quá trình đột biến gây ra tiếp tục tăng sản, với các đột biến gen như *PIK3CA*, *SMAD4*, *TP53* khiến hình thành khối u ác tính với đặc tính xâm lấn và di căn. Đột biến *APC* hoặc mất alen đã được xác định ở $\sim 90\%$

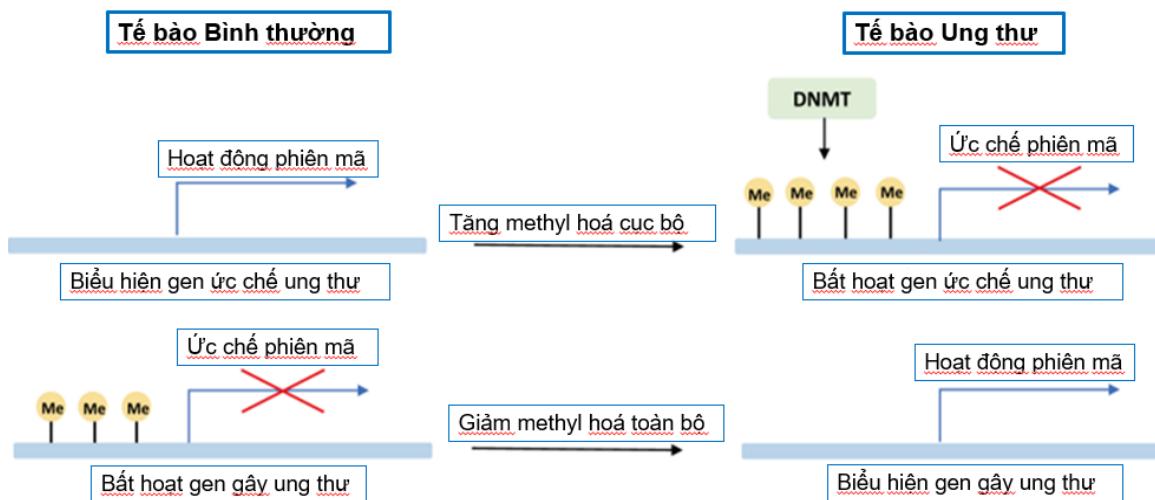
BNUTĐTT. *TP53* là một gen ức chế khối u nằm trên nhánh gần của nhiễm sắc thể 17, thường bị mất trong UTĐTT. *TP53* đã được định nghĩa là 'người bảo vệ bộ gen' vì nó mã hóa một yếu tố phiên mã điều chỉnh quá trình phiên mã của hàng trăm gen tham gia vào các quá trình khác nhau [16]. Ví dụ, khi DNA bị tổn thương, *TP53* gây ra sự ngừng chu kỳ tế bào ở pha G1 hoặc G2 hoặc kích hoạt quá trình chết theo chương trình khi tổn thương quá nghiêm trọng và không thể khắc phục được. Do đó, việc mất chức năng *TP53* góp phần truyền DNA bị hỏng sang các tế bào con. *TP53* mất chức năng đã được báo cáo trong 50–75% trường hợp UTĐTT, cao hơn nhiều so với ở u tuyến, cho thấy vai trò của nó trong quá trình chuyển từ u tuyến sang ung thư. Gen *KRAS* thuộc họ gen *RAS* liên quan đến các con đường truyền tín hiệu điều chỉnh sự tăng sinh, biệt hóa hoặc sống sót của tế bào. Đột biến gây ung thư trong gen *RAS* đã được xác định trong ~30% của tất cả các khối u ở người, trong 35–45% trường hợp UTĐTT và chủ yếu xảy ra ở codon 12 và 13 trong đó các đột biến *KRAS* chiếm ~85%, *NRAS* chiếm ~15% và *HRAS* chiếm <1% [17].

b. Con đường bất ổn định vi vệ tinh (MSI)

Con đường MSI xảy ra ở 15–20% UTĐTT [18]. Hiện tại các nhà khoa học đã chấp nhận rằng MSI có liên quan đến sự thiếu cơ chế sửa lỗi ghép cặp sai DNA sau sao chép (*MMR* - Mismatch repair deficiency), chủ yếu liên quan đến đột biến tương đồng 1 (*MLH1*) và đột biến tương đồng 2 (*MSH2*) [19]. Hệ thống sửa chữa ghép cặp sai phục vụ chức năng sửa chữa - tương tự như cơ chế kiểm tra chính tả - xác định lỗi và loại bỏ chúng khỏi DNA. Khi hệ thống sửa chữa này bị lỗi, vi vệ tinh trong DNA phát triển các đoạn lặp lại nucleotide ngắn dẫn đến các đột biến thay đổi khung đọc mở. Sự suy giảm chức năng gen *MMR* có thể xảy ra do bất hoạt đột biến hoặc do bất hoạt biểu sinh thông qua quá trình methyl hóa đảo CpG của các vị trí khởi

động gen. Mất hoặc thiếu hoạt động *MMR* dẫn đến lỗi sao chép với tỷ lệ đột biến tăng và khả năng ác tính cao hơn.

1.1.2.2 Vai trò của methyl hóa các gen trong cơ chế bệnh sinh



Hình 1.2. Quá trình methyl hoá các gen trong cơ chế bệnh sinh ung thư

* Nguồn: theo Chen C. và cs (2022) [20]

Methyl hóa là một quá trình sinh hóa quan trọng diễn ra bên trong cơ thể, có ảnh hưởng lớn đến chức năng của tế bào. Về mặt hóa học, Methyl hóa liên quan đến việc gắn một nhóm Methyl, bao gồm một nguyên tử carbon và ba nguyên tử hydro (CH_3) vào các phân tử như DNA, RNA, hormone và chất dẫn truyền thần kinh. Quá trình Methyl hóa đóng vai trò như một cơ chế điều tiết chính giúp kiểm soát và điều phối tất cả các hoạt động từ đó đảm bảo rằng mọi thứ hoạt động của cơ thể sống bình thường.

Quá trình methyl hóa DNA là một sửa đổi biểu sinh đóng vai trò quan trọng trong các quá trình tế bào bình thường, bao gồm điều hòa biểu hiện gen và ổn định bộ gen. Các kiểu methyl hóa DNA bất thường đã được quan sát thấy ở nhiều bệnh khác nhau, bao gồm cả ung thư. Trong bệnh ung thư,

những thay đổi trong quá trình methyl hóa DNA có thể dẫn đến làm bất hoạt các gen ức chế khối u hoặc kích hoạt các gen gây ung thư, góp phần vào sự phát triển của khối u. Có hai loại thay đổi methyl hóa DNA chính được quan sát thấy trong bệnh ung thư: Hypermethylation là quá trình methyl hóa đề cập đến sự gia tăng mức độ methyl hóa DNA tại các vùng cụ thể, thường là các đảo CpG, là các vùng DNA giàu nucleotide cytosine và guanine. Các đảo CpG thường được tìm thấy trong các vùng khởi động của gen và có liên quan đến quy định phiên mã gen. Quá trình methyl hóa các đảo CpG có thể dẫn đến làm bất hoạt gen, ngăn chặn sự biểu hiện của các gen ức chế khối u. Mất chức năng của gen ức chế khối u có thể thúc đẩy sự tăng trưởng và phân chia tế bào không kiểm soát được, góp phần vào sự phát triển ung thư. Hypomethylation (giảm methyl hóa) là quá trình khử methyl đề cập đến việc giảm mức độ methyl hóa DNA, dẫn đến sự mất ổn định của bộ gen và biểu hiện gen bất thường. Quá trình hypomethylation có thể xảy ra trong bệnh ung thư và liên quan đến việc kích hoạt gen gây ung thư, mất ổn định bộ gen và sắp xếp lại nhiễm sắc thể [20].

Con đường CIMP là con đường chính thứ 3 trong cơ chế bệnh sinh UTĐTT. Con đường này thể hiện vai trò chủ yếu của sự methyl hóa DNA là sự bất hoạt phiên mã bằng quá trình hypermethylation DNA tại các đảo CpG vùng khởi đầu của các gen ức chế khối u, gây ra sự bất hoạt của gen, hiện được công nhận là một cơ chế quan trọng trong quá trình sinh ung thư ở người [21]. Kiểu hình methylator đảo CpG đã được xác định trong 30–35% trường hợp u tuyến đại trực tràng, và được coi là một sự kiện sớm và là đặc điểm cho con đường hình thành khối u đại trực tràng [21]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu định lượng DNA methyl hóa của Orgino cho thấy CIMP chiếm 17% UTĐTT, tỷ lệ này ít gặp hơn so với các báo cáo trước đây và các đặc điểm lâm sàng của CIMP tương tự như các đặc điểm lâm sàng của UTĐTT liên quan đến MSI [22]. Đáng chú ý, các khối u đại trực tràng MSI hầu như

chỉ liên quan đến quá trình methyl hóa MLH1, liên quan đến CIMP dẫn đến bất hoạt gen này [23]. Ngược lại, các trường hợp MSI thường gặp ở Hội chứng Lynch là do đột biến dòng mầm ở gen liên quan đến MMR, chủ yếu bao gồm *MLH1*, *MSH2* và chiếm <5% tổng số UTĐTT. Trạng thái CIMP của UTĐTT được đánh giá bằng một nhóm các dấu hiệu methyl hoá phân loại UTĐTT có hoặc không có methyl hoá dựa trên một số ngưỡng nhất định.

Như vậy, di truyền và biểu sinh không phải là những con đường độc lập trong cơ chế bệnh sinh UTĐTT mà là sự kết hợp trong tiến triển bệnh lý UTĐTT. Một ví dụ về tác động tổng hợp của di truyền và biểu sinh trong quá trình phát triển UTĐTT là sự hiện diện của các đột biến *BRAF* cũng như MSI trong nhiều khối u CIMP. Shen L. và cs đã phân tích các thay đổi di truyền và biểu sinh trong 97 mẫu UTĐTT và chứng minh rằng các khối u CIMP⁺- high có liên quan đến tình trạng MSI (80%) và đột biến *BRAF* (53%), các khối u CIMP⁺- low có liên quan đến đột biến *KRAS* (92%); và các khối u CIMP⁻ thường có tỷ lệ đột biến *p53* cao (71%) [24].

1.1.3 Chẩn đoán ung thư đại trực tràng

1.1.3.1 Chẩn đoán xác định

Chẩn đoán xác định UTĐTT dựa vào các triệu chứng lâm sàng, các xét nghiệm cận lâm sàng, tiêu chuẩn vàng là giải phẫu bệnh khối u hoặc khối bệnh phẩm u qua nội soi sinh thiết [25].

Triệu chứng cơ năng: BNUTĐTT có hai triệu chứng chính là đại tiện phân lẫn máu và rối loạn đại tiện. Rối loạn đại tiện là dấu hiệu sớm, báo động ung thư nhưng hay bị bỏ qua. Sớm nhất có thể chỉ là những thay đổi thói quen đại tiện, thay đổi giờ giấc đi ngoài, táo lỏng thất thường. Đại tiện phân lẫn máu là máu đỏ tươi dính bao quanh phân, hoặc máu chảy ra ngoài trước khi phân ra do chảy máu đại trực tràng. Do không có tính chất đặc trưng nên dễ nhầm với chảy máu trong bệnh trĩ, ly, viêm đại tràng... Đau bụng là **một trong những triệu chứng sớm liên quan đến kích thích khối u. Ung thư đại tràng phải**

thường đau âm ỉ, khu trú ở bên phải, khi đến muộn thường có triệu chứng bán tắc ruột. Ung thư đại tràng trái thường theo kiểu thâm nhiễm, xơ vòng khi phát triển làm cho đại tràng chít hẹp nên đau bụng thường quặn từng cơn có khi đau dữ dội, ung thư ở trực tràng hay có đau âm ỉ lan xuống hạ vị.

Triệu chứng toàn thân: *BN thấy mệt mỏi, cảm giác chán ăn, sút cân. Nếu bệnh ở giai đoạn tiến triển có thể có dấu hiệu da xanh, thiếu máu hay sốt, di căn xa lên hạch thượng đòn trái.*

Triệu chứng thực thể : *Thường chỉ tìm thấy dấu hiệu khi ung thư đã ở giai đoạn tiến triển như sờ thấy khối u trên thành bụng, di căn gan, cổ trướng hay dấu hiệu tắc ruột khi u gây chít hẹp hoàn toàn lòng đại trực tràng.*

1.1.3.2 Xét nghiệm cận lâm sàng UTĐTT

a. Nội soi đại trực tràng

Nội soi khung đại tràng ống mềm

Soi đại tràng ống mềm quan sát tổn thương trên bề mặt niêm mạc, đồng thời có thể sinh thiết chẩn đoán, hoặc điều trị cắt polyp trong khi soi. Hình ảnh UTĐTT qua nội soi là thể sùi, loét, thâm nhiễm cứng. Các tổn thương này có thể xen lẫn nhau. Trên nội soi đại trực tràng hình ảnh tổn thương ung thư đại trực tràng được chia làm 6 loại theo phân loại Paris 2002

- Type 0: Tổn thương dạng ung thư dạng nhú lồi, phẳng;
- Type 1: Tổn thương ung thư dạng sùi;
- Type 2: Tổn thương ung thư dạng loét
- Type 3: Tổn thương ung thư dạng loét và sùi kết hợp;
- Type 4: Tổn thương ung thư dạng thâm nhiễm;
- Type 5: Tổn thương ung thư dạng không thể phân loại được.

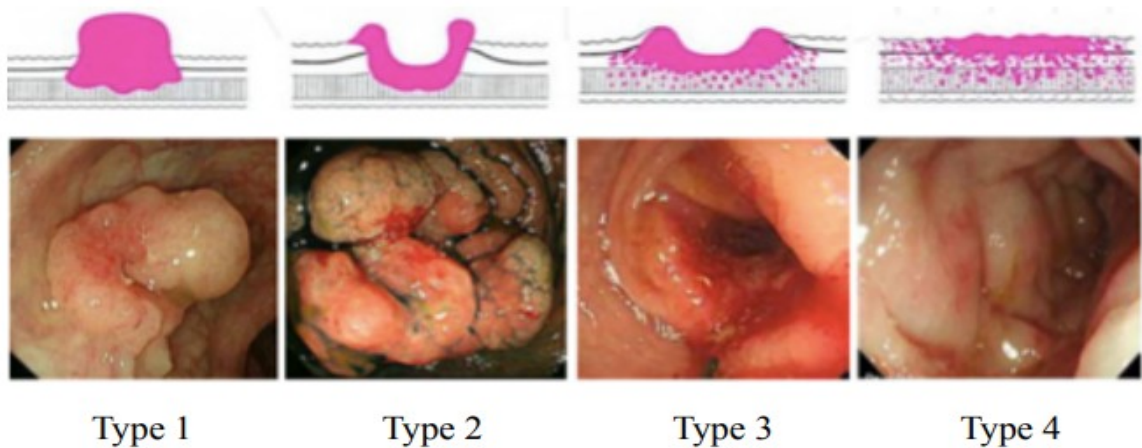
Trong đó:

+ Tổn thương ung thư dạng sùi: Khối u sùi vào lòng trực tràng, nhiều múi, bề mặt thường xù xì, nhám nhở giống san hô, có thể chảy máu ở những vùng hoại tử.

+ Tổn thương ung thư dạng loét: Tổn thương là ổ loét đáy sâu hoại tử ở giữa, bờ gồ cao ranh giới rõ với niêm mạc lành xung quanh.

+ Tổn thương ung thư dạng thâm nhiễm: Ít gặp, tổn thương thâm nhiễm cứng quanh chu vi, mất nhu động, thường gây chít hẹp lòng đại trực tràng.

Hình ảnh tổn thương ung thư qua nội soi đại trực tràng đa số là dạng sùi, các hình thái u dạng loét và thâm nhiễm thì ít hơn.



Hình 1.3. Tổn thương ung thư đại trực tràng trên nội soi

* Nguồn: Hiroyuki K. và cs (2012) [26]

Siêu âm nội soi

Đây là phương pháp chẩn đoán rất có giá trị trong ung thư trực tràng, tuy nhiên trong ung thư đại tràng nó ít được ứng dụng. Phương pháp này cho phép đánh giá mức độ xâm lấn u, tổ chức xung quanh cho độ nhạy, độ đặc hiệu cao. Độ chính xác của siêu âm nội soi trong phân loại ung thư đại trực tràng theo giai đoạn chung, T1, T2, T3 và T4a lần lượt là 73,04%, 62,32%, 67,46%, 71,26% và 83,52% theo nghiên cứu của Chaoquin han và cộng sự khi siêu âm nội soi cho 638 bệnh nhân và thấy vai trò của siêu âm nội soi khi phân biệt giai đoạn u T3 với T4a [27].

b. Chẩn đoán hình ảnh

Chụp XQ bụng không chuẩn bị

Chỉ định trong cấp cứu chẩn đoán tắc ruột hoặc thủng u. Hình ảnh tắc ruột thể hiện qua các hình mức nước, mức hơi, hoặc khi có thủng ruột thì trên phim sẽ mờ toàn bộ ổ bụng, có hình ảnh liềm hơi dưới hoành.

Chụp khung đại tràng đối quang kép

Là một trong những phương pháp quan trọng để chẩn đoán ung thư đại tràng, đặc biệt trong trường hợp ung thư thể thâm nhiễm gây chít hẹp, phương pháp chẩn đoán nội soi thất bại.

Chụp cắt lớp vi tính (Computer Tomography - CT)

Đây là phương pháp hiện đại, cho phép xác định khối u, mức xâm lấn của u, tình trạng di căn hạch vùng, di căn xa, các tạng ở trong ổ bụng, nguy cơ xảy ra các tai biến như thủng, tắc ruột. Độ nhạy trong phát hiện hạch vùng có giá trị cao hơn trong ung thư trực tràng so với đại tràng; Độ nhạy và độ đặc hiệu của CT để phát hiện khối u T3-T4 lần lượt là 80% và 76% với giá trị dự báo dương tính (PPV) là 92%. Độ nhạy và độ đặc hiệu của CT trong phát hiện N1-N2 lần lượt là 62% và 70% với PPV là 60% (95% CI: 0,59, 0,60) [28]. Tuy nhiên, CT cũng gặp khó khăn với những ung thư trực tràng kích thước nhỏ và khả năng phát hiện hạch thấp hơn so với siêu âm nội trực tràng và chụp cộng hưởng từ.

Chụp cộng hưởng từ (MRI – Magnetic Resonance Imaging)

Chụp cộng hưởng từ là phương pháp hiện đại cho kết quả tốt hơn chụp cắt lớp vi tính, đặc biệt trong việc đánh giá tình trạng di căn gan, di căn hạch vùng. Trong một phân tích gộp năm 2022 cho biết hiệu suất của MRI để chẩn đoán ung thư đại trực tràng là chính xác, với độ nhạy, độ đặc hiệu, tỷ lệ khả năng dương tính và tỷ lệ khả năng âm tính gộp lần lượt là 0,88, 0,92, 30,36 và 0,44 [29].

Chụp cắt lớp Positron phát xạ kết hợp chụp cắt lớp vi tính (Positron Emission Tomography Computed Tomography - PET/CT)

Phương pháp chẩn đoán hình ảnh, thăm dò chức năng cơ quan ở trạng thái chuyển hóa, do vậy có độ nhạy cao hơn so với các phương pháp chẩn đoán hình ảnh khác. Vai trò của PET/CT trong chẩn đoán di căn hạch, di căn xa và theo dõi tái phát cũng ưu thế hơn các phương pháp khác. Với đường kính trực tràng ngưỡng của hạch bạch huyết khu vực là 7 mm, độ nhạy và độ đặc hiệu của di căn hạch bạch huyết khu vực lần lượt là 75,2% và 82,6% [30].

c. Giải phẫu bệnh

Chẩn đoán giải phẫu bệnh là tiêu chuẩn vàng để chẩn đoán xác định UTĐTT. Bệnh lý giải phẫu không chỉ giúp cho chẩn đoán xác định mà còn cho biết thể mô bệnh học, độ biệt hóa để giúp điều trị, đánh giá tiên lượng bệnh. Phân tích bệnh phẩm sau mổ cho phép đánh giá đúng giai đoạn bệnh để quyết định phác đồ điều trị bổ trợ. Theo WHO năm 2019, phân loại mô bệnh học của ung thư biểu mô đại tràng như sau [31], [32].

Đại thể: Hình thể u bao gồm: Thể sùi (có cuống hoặc không có cuống), thể loét, thể loét sùi và thể thâm nhiễm. Thể loét sùi chiếm khoảng 2/3 các trường hợp. Thể thâm nhiễm ít gặp, thường gây chít hẹp lòng đại tràng.

Vi thể: Các tế bào ung thư là các tế bào bị biến dạng, sẫm màu hơn, kích thước thay đổi. Nhân tế bào tăng sắc, nhiều phân bào và có những phân bào bất thường. Nhiều hạt nhân, hạt không đều. Thay đổi hình thái, số lượng của nhiễm sắc thể. Bào tương ưa bazơ. Các tế bào ung thư xâm lấn màng đáy, mô đệm, xâm lấn vào thành đại tràng, lan tràn xâm lấn vào hạch bạch huyết, đôi khi vào mạch máu, thần kinh.

<i>Phân loại mô bệnh học</i>	<i>Mã ICD-O</i>
- Ung thư biểu mô tuyến NOS	8140/3
+ Ung thư biểu mô tuyến răng cưa	8213/3
+ Ung thư biểu mô tuyến dạng u tuyến	8262/3
+ Ung thư biểu mô tuyến dạng vi nhú	8265/3
+ Ung thư biểu mô tuyến nhầy	8480/3
+ Ung thư biểu mô dạng keo	8490/3
+ Ung thư biểu mô tế bào nhẵn	8490/3
+ Ung thư biểu mô tuyến thể tử	8510/3
+ Ung thư biểu mô tuyến vảy	8560/3
+ Ung thư biểu mô dạng không biệt hóa	8020/3
+ Ung thư biểu mô với thành phần sarcom	8033/3

- Ung thư thần kinh nội tiết	8246/3
+ Ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào lớn	8013/3
+ Ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào nhỏ	8041/3
+ Dạng hỗn hợp	8154/3
- U thần kinh nội tiết	8240/3

Trong đó:

Ung thư biểu mô tuyến (adenocarcinoma NOS): Là thể mô bệnh học chủ yếu của UTĐTT, chiếm khoảng 90 - 95% các thể bệnh.

Ung thư biểu mô nhày (mucinous carcinoma): chiếm 11%-17% UTĐTT, khối u thường ở đại tràng sigma, hoặc trực tràng, có xu hướng phát hiện muộn, đáp ứng kém với hoá trị.

Ung thư biểu mô tế bào nhẫn (signet ring cell carcinoma): chiếm 1-2% UTĐTT, đây là loại ác tính cao, khi phát hiện thường ở giai đoạn muộn.

Một số thể hiếm gặp khác:

Ung thư biểu mô thể tủy (medullary carcinoma)

Ung thư biểu mô tuyến răng cưa (serrated adenocarcinoma)

Ung thư biểu mô tuyến thể mặt sàng (cribriform comedo-type adenocarcinoma)

Ung thư biểu mô tuyến thể vi nhú (micropapillary adenocarcinoma)

Ung thư biểu mô tuyến vảy (adenosquamous carcinoma)

Ung thư biểu mô thể tế bào gai (spindle cell carcinoma)

Ung thư biểu mô thể không biệt hóa (undifferentiated carcinoma)

Độ biệt hóa tế bào

Ung thư biểu mô tuyến đại – trực tràng được phân thành độ biệt hóa tốt, vừa, kém và không biệt hóa trên cơ sở tỉ lệ phần trăm của cấu trúc tuyến. Ung thư biểu mô không biệt hóa (độ 4) là thuật ngữ dùng để chỉ các khối u biểu mô ác tính không cho thấy có sự hình thành tuyến, chế tiết nhày hoặc thần

kinh nội tiết, vảy hay sarcomatoid biệt hóa. Phân loại độ biệt hóa chỉ áp dụng đối với ung thư biểu mô tuyến, không đặc hiệu.

Bảng 1.1. Phân loại độ biệt hóa ung thư biểu mô tuyến đại trực tràng

Tiêu chí	Phân độ biệt hóa	Grade	Độ
> 95% cấu trúc tuyến	Tốt	1	Thấp
50% - 95% cấu trúc tuyến	Vừa	2	Thấp
<50% cấu trúc tuyến	Kém	3	Cao

* Nguồn: theo Matthew F. và cs (2012)[33]

d. Xét nghiệm dấu ấn sinh học

Xét nghiệm CEA

CEA (Carcino – Embryonic Antigen) là kháng nguyên ung thư biểu mô phôi, là một glycoprotein chứa khoảng 60% carbohydrat và thấy trên màng tế bào của nhiều mô khác nhau. Năm 1966, Gold và Freedman, lần đầu tìm thấy CEA ở bệnh nhân UTĐTT và cho rằng CEA có mối liên quan đến ung thư biểu mô ĐTT, nhưng tăng không đặc hiệu trong UTĐTT. CEA huyết tương còn tăng cao trên các bệnh ung thư đường tiêu hóa khác như ung thư dạ dày, ung thư tụy. Những nghiên cứu xét nghiệm CEA trong huyết thanh người cho thấy nồng độ CEA huyết thanh 5ng/ml là giới hạn cao nhất ở người bình thường. CEA là một dấu ấn sinh học huyết thanh được sử dụng rộng rãi để phát hiện UTĐTT với độ nhạy từ 40,9% đến 51,8% và độ đặc hiệu từ 85,2% đến 95% để phát hiện UTĐTT [34]. Tuy nhiên, CEA nhạy cảm hơn với UTĐTT giai đoạn cuối so với UTĐTT giai đoạn đầu, có khoảng 70% BN UTĐTT có mức CEA cao, nhưng ở những BN ung thư giai đoạn sớm chỉ có dưới một nửa là có CEA dương tính [35]; do đó, CEA chủ yếu được sử dụng để đánh giá hiệu quả điều trị và theo dõi sự tái phát của ung thư, thay vì là dấu hiệu phát hiện sớm UTĐTT.

Xét nghiệm CA 19 – 9

CA 19-9 (Carbohydrat Antigen 19-9) là một dấu ấn kháng nguyên carbohydrate thường được sử dụng trong ung thư tụy, nhưng cũng có thể tăng trong UTĐTT và một số đường tiêu hoá khác. Độ nhạy và độ đặc hiệu của CA 19-9 thấp trong chẩn đoán sớm UTĐTT nên không được khuyến cáo dùng đơn lẻ để tầm soát, cần kết hợp với CEA để cải thiện khả năng đánh giá tiên lượng và theo dõi tái phát sau điều trị. Nồng độ CA 19-9 tăng cao thường liên quan đến giai đoạn muộn, di căn xa và tiên lượng xấu. Tuy nhiên, khoảng 5-10% dân số không sản xuất CA 19-9 do thiếu enzyme fucosyltransferase dẫn đến tình trạng âm tính giả, đồng thời chỉ số này cũng có thể tăng trong các bệnh lý lành tính như viêm ruột, viêm gan, tắc mật...

1.1.3.3 Chẩn đoán giai đoạn

Phân loại giai đoạn theo TNM của AJCC bản 8 phát hành năm 2017

Bảng 1.2: Phân loại giai đoạn bệnh ung thư đại trực tràng theo AJCC 2017

Nhóm giai đoạn	T	N	M
Giai đoạn 0	T _{is}	N ₀	M ₀
Giai đoạn I	T ₁	N ₀	M ₀
	T ₂	N ₀	M ₀
Giai đoạn IIA	T ₃	N ₀	M ₀
Giai đoạn IIB	T _{4a}	N ₀	M ₀
Giai đoạn IIC	T _{4b}	N ₀	M ₀
Giai đoạn IIIA	T ₁₋₂	N _{1/1c}	M ₀
	T ₁	N _{2a}	M ₀
Giai đoạn IIIB	T _{3-4a}	N _{1/1c}	M ₀
	T ₂₋₃	N _{2a}	M ₀
	T ₁₋₂	N _{2b}	M ₀
Giai đoạn IIIC	T _{4a}	N _{2a}	M ₀
	T _{3-4a}	N _{2b}	M ₀
	T _{4b}	N ₁₋₂	M ₀
Giai đoạn IVA	Bất kỳ T	Bất kỳ	M _{1a}

Giai đoạn IVB	Bất kỳ T	Bất kỳ	M _{1b}
Giai đoạn IVC	Bất kỳ T	Bất kỳ	M _{1c}

* Nguồn: theo AJCC (2017) [36].

Trong đó:

T: U nguyên phát (không thay đổi so với UICC và AJCC 2010)

Tx: không thể đánh giá được u nguyên phát.

T0 : không có biểu hiện u nguyên phát.

Tis : ung thư biểu mô tại chỗ.

T1 : u xâm lấn lớp dưới niêm mạc.

T2 : u xâm lấn lớp cơ.

T3 : u xâm lấn qua lớp cơ đến lớp dưới thanh mạc hoặc vùng mô quanh đại trực tràng không có phúc mạc bao phủ.

T4a : u xâm lấn qua thanh mạc

T4b : u xâm lấn trực tiếp hoặc dính vào các cơ quan hoặc cấu trúc xung quanh.

N : hạch bạch huyết vùng.

Nx : không thể đánh giá được di căn hạch vùng.

N0 : không có di căn hạch vùng.

N1 : di căn 1 - 3 hạch vùng.

N1a: di căn 1 hạch vùng.

N1b: di căn 2 - 3 hạch vùng.

N1c: nhân vệ tinh bề mặt thanh mạc hoặc mạc treo.

N2: di căn nhiều hơn 4 hạch vùng.

N2a: di căn 4 - 6 hạch vùng.

N2b: di căn từ 7 hạch vùng trở lên.

M: di căn (thay đổi so với UICC 2010)

Mx: không đánh giá di căn xa

M₀: không có di căn xa

M₁: di căn xa

M_{1a}: di căn khu trú tại 1 cơ quan không phải di căn phúc mạc (gan, phổi, buồng trứng, hạch ngoài hạch vùng)

M_{1b}: di căn nhiều hơn 1 cơ quan

M_{1c}: di căn phúc mạc có kèm hoặc không kèm di căn tạng

1.1.4 Định hướng lựa chọn phương pháp điều trị, dự đoán và tiên lượng

Kéo dài trong nhiều thập kỉ qua, chiến lược điều trị BNUTĐTT được quyết định dựa vào chẩn đoán giai đoạn TNM và vị trí khối u để quyết định BN còn ở giai đoạn phẫu thuật, hay giai đoạn cần hóa xạ trị tân bổ trợ, điều trị bổ trợ sau phẫu thuật để đạt được mục tiêu cải thiện thời gian sống bệnh không tiến triển (Progression Free Survival – PFS), thời gian sống còn toàn bộ (Overall Survival – OS) tốt hơn [37]. Theo dòng lịch sử của các hướng dẫn điều trị hiện nay, phần lớn BN giai đoạn II sau phẫu thuật triệt căn không cần điều trị hóa trị bổ trợ, nhưng thực tế theo các nghiên cứu 15% BN trong nhóm này có tái phát, tiến triển di căn và tử vong [38]. Như vậy, BN giai đoạn II có nên hóa trị bổ trợ và chỉ định hóa trị có còn đơn thuần dựa trên các dữ liệu lâm sàng để phân định thành các nhóm nguy cơ [39]. Nhóm BN giai đoạn III có chỉ định hóa trị bổ trợ sau phẫu thuật là thường quy [40], tuy nhiên các bằng chứng khoa học cho thấy đáp ứng với điều trị hóa trị bổ trợ không như nhau, có nhóm BN không thấy lợi ích của hóa trị bổ trợ mà phải trải qua nhiều tác dụng phụ, kéo dài thời gian điều trị cũng như chi phí điều trị, hay các nghiên cứu chỉ ra lợi ích không thua kém của hóa trị 3 tháng so với hóa trị tiêu chuẩn 6 tháng cho nhóm BNUTĐTT giai đoạn III nhóm nguy cơ thấp [41], [42]. Điều đó chứng tỏ chiến lược điều trị dựa trên các yếu tố phân tầng lâm sàng còn nhiều hạn chế về hiệu quả điều trị cho BN. Do đó, những tiến bộ không ngừng trong những năm qua cho thấy tiềm năng cải thiện hiệu quả của các phương pháp điều trị khi kết hợp với hệ thống phân tầng BN dựa trên sinh học khối u, các đặc điểm di truyền và biểu sinh của khối u.

Bảng 1.3 Những dấu ấn sinh học hiện nay sử dụng trong UTĐTT

Dấu ấn	Tỷ lệ	Giá trị tiên lượng	Giá trị dự đoán	
			Không di căn	Di căn
Đột biến <i>KRAS/NRAS</i>	45%	Tiên lượng xấu (còn tranh cãi ở GĐ II)	Không có giá trị trong dự đoán điều trị	✗ Liệu pháp kháng EGFR
Đột biến <i>BRAF</i>	7 – 10%	Tiên lượng xấu đặc biệt là GĐ di căn	Hiện nay chưa thấy giá trị trong dự đoán điều trị	✗ Liệu pháp kháng EGFR ✓ Kết hợp: Anti-BRAF
MSI high	Các giai đoạn: 15% GĐ II/III: 15% GĐ IV: 4,5%	Tăng OS ở giai đoạn II	✗ 5-FU (GĐ II) ✓ FOLFOX (GĐ III)	✓ Liệu pháp miễn dịch
Khuếch đại <i>HER2</i>	5.5%	Chưa xác định	Chưa xác định	✓ Kháng Her2 ✗ Liệu pháp kháng EGFR
Vị trí khối u	Khác nhau giữa các giai đoạn	Khối u bên đại tràng Phải tiên lượng xấu	Chưa xác định	✓ Liệu pháp miễn dịch ✓ Nhạy với hoá trị ✗ Liệu pháp kháng EGFR

✓: có lợi ích ; ✗ Không có lợi ích

* Nguồn: theo Siebenhüner A. và cs (2020) [43]

1.2 Thách thức và khó khăn trong sàng lọc phát hiện sớm UTĐTT

UTĐTT là một trong những bệnh ung thư có khả năng chữa khỏi cao nhất nếu được chẩn đoán ở giai đoạn sớm và điều trị kịp thời, do đó vai trò các phương pháp sàng lọc phát hiện sớm UTĐTT luôn được đặt lên hàng đầu trong chiến lược kiểm soát bệnh ở các quốc gia nhằm mục tiêu phát hiện sớm có thể cải thiện tỷ lệ sống sót và giảm tỷ lệ tử vong của UTĐTT.

Các phương pháp sàng lọc UTĐTT chủ yếu được chấp nhận hiện nay bao gồm xét nghiệm máu ẩn trong phân, xét nghiệm DNA phân, nội soi ĐTT và một số phương pháp chẩn đoán hình ảnh khác (CT, siêu âm...).

Hầu hết các chương trình sàng lọc trên toàn thế giới đều dựa vào xét nghiệm tìm máu ẩn trong phân. Xét nghiệm máu ẩn trong phân giúp kiểm tra lượng máu nhỏ trong phân mà không thể nhìn thấy bằng mắt Có 2 loại FOBT là gFOBT (guaiac FOBT) và FIT. Đây là một công cụ sàng lọc không xâm

lần được sử dụng rộng rãi cho UTĐTT. gFOBT hàng năm giúp giảm tỷ lệ tử vong do UTĐTT đi 33% sau 13 năm theo dõi và 32% sau 30 năm theo dõi [44]. Mặc dù, xét nghiệm này rất đơn giản và có chi phí thấp hơn các xét nghiệm khác nhưng nó có độ nhạy còn hạn chế (33% - 75%) và tỷ lệ kết quả dương tính giả còn cao [45]. Nội soi đại tràng thường được làm bước tiếp theo đối với xét nghiệm sàng lọc ban đầu dương tính trong hầu hết các chương trình sàng lọc. Sử dụng dữ liệu SEER-Medicare ($n = 10292$), Baxter và cs báo cáo giảm tỷ lệ tử vong UTĐTT trái (OR 0,40; 95% CI 0,37–0,43) và phải (OR 0,58; 95% CI 0,52–0,64) với nội soi đại tràng [46]. Nghiên cứu polyp Quốc gia ($n = 1418$) đã báo cáo tỷ lệ tử vong UTĐTT giảm 53% khi sàng lọc nội soi [47]. Nhược điểm của nội soi đại tràng là bản chất xâm lấn, nguy cơ biến chứng (chẳng hạn như thủng và chảy máu), nhu cầu chuẩn bị ruột và gánh nặng về nguồn lực và chi phí liên quan, dẫn đến việc tuân thủ nội soi thấp hơn so với FIT. Phương pháp phát hiện bất thường DNA trong phân đã được nhiều nghiên cứu tiến hành và đánh giá với các đích DNA khác nhau [48]. Trong đó nghiên cứu của Imperiale và cs năm 2014 cho thấy phát hiện đồng thời đột biến gen *KRAS*, methyl hóa bất thường gen *NDRG4* và *BMP3* trong phân kết hợp với FIT cho độ nhạy phát hiện UTĐTT cao nhất (92.3%) [49]. Xét nghiệm này đã được FDA chấp thuận trong sàng lọc UTĐTT với kit thương mại Cologuard®; Exact Science Corporation, Madison, WI, USA [48]. Mặc dù có độ nhạy cao hơn đáng kể so với FIT (73.8%) nhưng FIT-DNA có độ đặc hiệu thấp hơn FIT (86,6% đối với FIT-DNA và 94,9% đối với FIT) [49]. Điều này có nghĩa FIT-DNA có tỉ lệ kết quả dương tính giả cao hơn. Ngoài ra do kết hợp nhiều marker nên giá xét nghiệm cao.

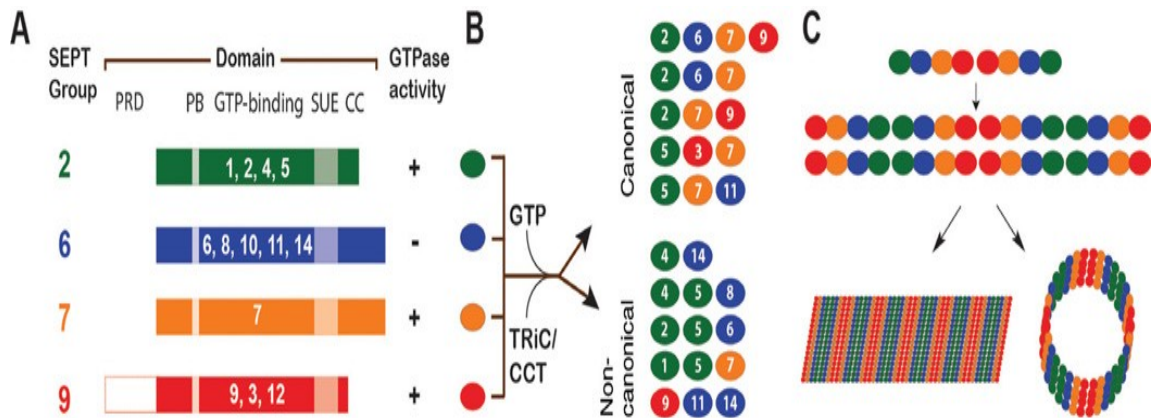
Từ những hạn chế trên của các phương pháp phát hiện và chẩn đoán UTĐTT hiện nay đặt ra yêu cầu cần có một phương pháp sàng lọc mới có độ nhạy, độ đặc hiệu cao hơn và ứng dụng lâm sàng thuận tiện hơn. Ngày nay, có nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng các chỉ thị phân tử cho UTĐTT có thể phát hiện

trong máu ngoại vi, mở ra tiềm năng ứng dụng trong sàng lọc và chẩn đoán UTĐTT với độ nhạy, độ đặc hiệu cao hơn, ít gây xâm lấn hơn. Năm 2016, xét nghiệm mSEPT9 trong máu ngoại vi đã được FDA phê duyệt trong sàng lọc UTĐTT với bộ kit thương mại Epi proColon® 2.0 [50]. Tuy nhiên, hiệu quả sàng lọc phát hiện sớm UTĐTT của dấu ấn này vẫn đang được nghiên cứu và đánh giá bước đầu trên các thử nghiệm lâm sàng nên chưa có số liệu thống kê cho thấy xét nghiệm này giúp giảm tỉ lệ tử vong do UTĐTT.

1.3. Methyl hóa gen *SEPT9* trong ung thư đại trực tràng

1.3.1. Cấu trúc và chức năng của gen *SEPT9*

Gen *Septin* là một họ gồm 13 gen mã hóa hơn 30 đồng phân protein chia làm 4 nhóm : *SEPT2* (*SEPT1*, *SEPT2*, *SEPT4*, *SEPT5*) ; *SEPT6* (*SEPT6*, *SEPT8*, *SEPT10*, *SEPT11*, *SEPT14*); *SEPT7*; *SEPT9* (*SEPT9*, *SEPT3*, *SEPT12*). Gen *Septin* là thành phần quan trọng trong cấu trúc phân tử và tế bào, để hình thành lên hệ thống các mô và các cơ quan trong cơ thể con người [51]



Hình 1.4. Phân loại septin, miền trình tự và tạo thành oligome và polyme

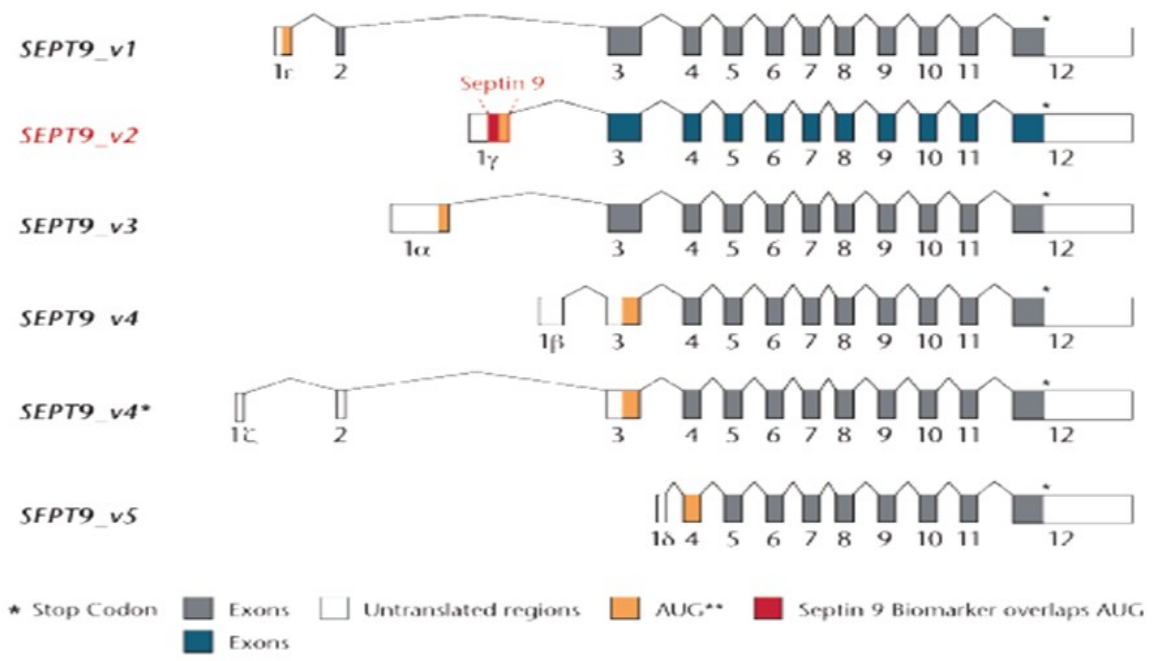
* Nguồn: theo Lee D. và cs (2013)[51]

Vai trò của gen *Septin* bao gồm:

- Là các protein liên kết với GTP (GTP binding proteins) tích hợp tạo thành các đoạn oligomer bậc cao và các polyme dạng sợi kết nối với màng tế bào và tạo thành khung của tế bào

- *Septin* liên quan đến nhiều quá trình hoạt động khác nhau của tế bào đặc biệt là tác động chính đến pha nguyên phân của tế bào: quá trình phân chia tế bào chất trong pha nguyên phân (cytokinesis), pha phân chia nhân tế bào trong pha nguyên phân (karyokinesis), quá trình xuất bào hay là quá trình vận chuyển tích cực qua màng tế bào (exocytosis), duy trì hình dạng tế bào. Các nghiên cứu cũng phát hiện ra rằng các gen *Septin* có vai trò quan trọng trong điều chỉnh sự ổn định của các quá trình liên quan đến hoạt động của các vi ống (microtubules) và các vi sợi (actin) trong hoạt động tế bào [52].

Gen *SEPT9* nằm trên nhiễm sắc thể 17q25.3 và có mặt khắp nơi trong tế bào người với 18 bản phiên mã. *SEPT9* ổn định polyme và thúc đẩy sự tổng hợp của các tiểu đơn vị, đồng thời đóng vai trò chính trong quá trình phân tách cuối cùng của các tế bào con trong quá trình phân chia tế bào. Do đó, khi gen *SEPT9* bị xóa hoặc biểu hiện bất thường, quá trình phân chia tế bào bị ảnh hưởng nghiêm trọng. Gen *SEPT9* biểu hiện bất thường ở nhiều khối u ác tính.



Hình 1.5. Bản đồ các đồng dạng *SEPT9*

* Nguồn: theo Scott M. và cs (2005) [53]

Tóth và cs đã báo cáo rằng biểu hiện mRNA của *SEPT9* giảm trong quá trình tiến triển của u tuyến đại trực tràng thành UTĐTT và biểu hiện protein SEPT9 trong UTĐTT thấp hơn đáng kể so với biểu hiện ở các tế bào biểu mô bình thường [54]. Các đồng dạng *SEPT9* biểu hiện đa dạng ở các loại khối u ác tính khác nhau. Sự biểu hiện của các đồng dạng *SEPT9* v2, v4, v4* và v5 trong các tế bào biểu mô ung thư cao hơn so với các tế bào bình thường [55]. Đồng dạng *SEPT9* v1 và v4 cho thấy biểu hiện ung thư biểu mô buồng trứng cao hơn so với các khối u lành tính và ở khối u giáp biên. Sự biểu hiện của các bản phiên mã v1 trong các mẫu bình thường cao hơn so với trong các tế bào ung thư, trong khi đó, sự biểu hiện quá mức của các bản phiên mã *SEPT9* v2, v4, v4* và v5 được phát hiện mức cao hơn trong các tế bào biểu mô UTĐTT so với các tế bào bình thường [54].

1.3.2 Cơ chế bệnh sinh của gen SEPT9 trong hình thành và phát triển các khối u ác tính

Cơ chế bệnh sinh của gen *SEPT9* trong hình thành và phát triển các khối u ác tính theo 5 con đường chính. Con đường thứ nhất là con đường dẫn truyền HIF-1 (Hypoxia inducible factor-1 signaling pathway) trong đó yếu tố cảm ứng thiếu oxy-1 là yếu tố phiên mã điều chỉnh các tế bào khối u trong môi trường thiếu oxy và bao gồm các tiểu đơn vị HIF-1-alpha và HIF-1-beta. Biểu hiện của HIF-1-alpha có liên quan đến sự xâm lấn, di căn, kháng thuốc và tiên lượng của khối u. Amir S. và cs đã báo cáo rằng thành viên gia đình *SEPT* và HIF-1-alpha có thể tương tác với nhau. Sự biểu hiện quá mức của *SEPT9* có thể ức chế sự suy thoái của HIF-1-alpha, dẫn đến việc tăng cường hoạt động phiên mã của HIF-1 [56]. Điều này sẽ lần lượt làm tăng biểu hiện của các gen, chẳng hạn như yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu, và cuối cùng thúc đẩy sự di căn và xâm lấn của khối u thúc đẩy sự hình thành mạch của mô khối u, tạo cơ sở cho sự tăng sinh và xâm nhập của khối u. Con đường dẫn truyền thứ 2 là con đường tín hiệu Jun N-terminal kinase (JNK) là protein

truyền tín hiệu của protein kinase được hoạt hóa bằng nguyên phân, rất quan trọng đối với sự phát triển, phân chia, biến đổi của tế bào ung thư và điều hòa chu kỳ tế bào. *SEPT9* v1 có thể duy trì hoạt động của JNK bằng cách ngăn chặn sự suy thoái của JNK. Việc duy trì hoạt động của JNK có thể ức chế quá trình chết theo chương trình của tế bào và thúc đẩy sự tăng sinh tế bào [57].

Con đường thứ 3 là con đường dẫn truyền tín hiệu Rho (Rho signaling pathway). Protein Rho là một protein nhỏ có hoạt tính GTPase. Nó có thể điều chỉnh sự biểu hiện của các phân tử effector xuôi dòng, do đó ảnh hưởng đến sự hình thành khung tế bào, làm trung gian cho sự kết dính của tế bào và ma trận tế bào, đồng thời ảnh hưởng đến sự di căn và xâm lấn của các tế bào khối u. Rhetokin là tác nhân của Rho. Nó có thể ngăn chặn sự hình thành các sợi *SEPT9*, do đó ảnh hưởng đến các hoạt động sinh lý bình thường, chẳng hạn như phân chia tế bào. Sự thay đổi về hình dạng của protein SEPT do rhetokin gây ra tương tự như sự thay đổi được thấy trong quá trình kích hoạt Rho. Do đó, rhetokin có thể là nút kết nối protein SEPT và con đường truyền tín hiệu Rho [58].

Con đường thứ 4 là quá trình nguyên phân (Mitosis). Trong quá trình nguyên phân, các sợi được hình thành do sự trùng hợp của protein SEPT9 trong kỳ trung gian được phân tán trong tế bào chất ở kỳ đầu và sau đó tập hợp lại trong rãnh phân cắt ở kỳ sau. Biểu hiện *SEPT9* cao thúc đẩy sự mất ổn định di truyền, gây ra các khuyết tật thoi phân bào, cản trở sự phân chia tế bào chất và dẫn đến rối loạn phân ly nhiễm sắc thể. Nếu biểu hiện gen *SEPT9* bị điều hòa quá mức hoặc không có trong các tế bào đang phân bào tích cực, thì quá trình phân chia tế bào bị suy yếu và không thể hoàn thành và trục chính không thể được gắn chính xác, dẫn đến thể đa bội và dị bội.

Con đường thứ 5 là methyl hóa DNA *SEPT9*, quá trình methyl hóa DNA là một trong những sửa đổi biểu sinh quan trọng. Nó đề cập đến việc chuyển một nhóm methyl sang bazơ bởi DNA methyltransferase, với S-adenosylmethionine là chất cho methyl. Ở động vật có vú, nhóm methyl được

chuyển đến nguyên tử carbon thứ 5 của cytosine trong cytosine-guanine dinucleotide (CpG) để tạo thành 5-methylcytosine [59]. Các đảo CpG là nơi chính của quá trình methyl hóa DNA, có liên quan chặt chẽ đến sự xuất hiện và phát triển của các khối u. Nhiều quá trình methyl hóa gen bất thường có liên quan chặt chẽ đến cơ chế bệnh sinh, tiên lượng và đáp ứng hóa trị của bệnh ung thư. Các biểu hiện chính của những bất thường này là mức độ methyl hóa DNA tổng số thấp ở các vùng không khởi động và mức độ methyl hóa cao ở các vùng thúc đẩy gen [60]. Quá trình khử methyl (hypomethylation) có liên quan đến kích hoạt phiên mã, dẫn đến tăng biểu hiện gen gây ung thư, mất dấu ấn gen và tăng sự mất ổn định nhiễm sắc thể. Ngược lại, hypermethylation có liên quan đến sự bất hoạt biểu hiện gen và sự mất ổn định của bộ gen; giảm biểu hiện gen ức chế khối u và gen sửa chữa DNA; và ảnh hưởng đến các chức năng bình thường của tế bào, chẳng hạn như quá trình chết theo chương trình, sửa chữa DNA và điều hòa chu kỳ tế bào. *SEPT9* là một gen ức chế khối u và nó đã được chứng minh là bị methyl hóa trong nhiều loại khối u. Methyl hóa DNA là một trong những dấu hiệu biểu sinh được nghiên cứu kỹ lưỡng nhất ở sinh vật nhân chuẩn, với các nghiên cứu tập trung vào quá trình hypomethylation của toàn bộ bộ gen và hypermethylation của các gen sửa chữa cụ thể và gen ức chế khối u [61]. Ở động vật có xương sống, khoảng một nửa số gen khởi động có đảo CpG và quá trình methyl hóa bất thường xảy ra ở những vùng này. Sự methyl hóa bất thường của gen *SEPT9* gây ra biểu hiện gen bất thường và giảm hoạt động sao chép gen, dẫn đến chức năng sinh lý bất thường và cuối cùng là sự phát triển của ung thư.

1.3.3 Cơ chế methyl hóa gen SEPT9 trong ung thư đại trực tràng

Quá trình methyl hóa cao các locus CpG của gen *SEPT9* sẽ ngăn chặn sự biểu hiện gen và làm mất chức năng chống ung thư. Quá trình methyl hóa

DNA này ức chế biểu hiện gen theo hai cách và thúc đẩy quá trình hình thành khối u. Một mặt, quá trình methyl hóa DNA làm thay đổi cấu trúc, không có lợi cho việc liên kết các yếu tố phiên mã và cuối cùng là ức chế biểu hiện gen [62]. Mặt khác, các phân tử DNA đã methyl hóa liên kết các protein miền liên kết CpG đã methyl hóa. Vì các protein miền liên kết CpG đã methyl hóa này tiếp tục liên kết với các protein khác (chẳng hạn như histone deacetylase), cuối cùng tạo thành một chất nhiễm sắc bất thường nhỏ gọn và không hoạt động, ức chế sự biểu hiện gen.

Tự thực bào (autophagy), một cơ chế điều hòa tế bào, ngăn chặn sự biến đổi ác tính của tế bào bằng cách giảm oxy hóa, loại bỏ các protein gây ung thư và duy trì sự ổn định của bộ gen, do đó phát huy khả năng chống ung thư. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng quá trình tự thực bào của tế bào ức chế sự xuất hiện của UTĐTT. Tổ hợp protein SEPT tham gia vào quá trình tự thực bào của tế bào [63]. Quá trình methyl hóa gen *SEPT9* ức chế sự biểu hiện của protein SEPT9, làm giảm chức năng tự thực bào của tế bào và do đó, thúc đẩy sự xuất hiện và phát triển của UTĐTT. Ví dụ, trong UTĐTT có bất ổn định vi vệ tinh, đột biến chuyển khung chống lại chức năng chống khối u trong việc tạo ra quá trình tự thực và sửa chữa DNA, từ đó thúc đẩy quá trình hình thành khối u, biến đổi biểu mô-trung mô và di căn [64].

Như vậy, *SEPT9* đóng vai trò quan trọng trong kiểm soát chu kỳ tế bào, sự methyl hoá CpG vùng khởi động của gen này làm mất chức năng ức chế khối u. Vì vậy, xét nghiệm m*SEPT9* có thể phát hiện khả năng UTĐTT ngay cả khi tổn thương chưa biểu hiện triệu chứng lâm sàng cũng như phát hiện trên các xét nghiệm cận lâm sàng.

1.4. Các phương pháp phân tích phát hiện m*SEPT9*

Trong những năm gần đây, ba phương pháp tiếp cận chính cho xét nghiệm methyl hóa DNA đơn gen đã được phát triển dựa trên:

Xử lý bisulfite (bisulfite treatment): Thay đổi trình tự DNA ở các vị trí Cytosine không bị methyl hóa bằng bisulfite.

Xử lý enzyme hạn chế nhạy cảm (sensitive restriction enzyme treatment): Sử dụng enzyme cắt giới hạn nhạy cảm hoặc không nhạy cảm với methyl hóa

Kỹ thuật làm giàu ái lực (affinity enrichment technique): Miễn dịch kết tủa DNA methyl hóa (Methylated DNA immunoprecipitation- MeDIP) bằng cách sử dụng kháng thể anti-methylcytidine hoặc protein bám DNA methyl hóa (methylated DNA binding protein – MBD).

Bằng cách kết hợp một trong những nguyên tắc này với các kỹ thuật khác, một loạt các phương pháp tiếp cận nhằm phân tích methyl hóa trên một trình tự CpG đặc hiệu đến một lượng lớn trình tự của hệ gen và phù hợp với các nhu cầu nghiên cứu khác nhau đã được phát triển. Trong đó, các phương pháp phân tích methyl hóa DNA dựa trên nguyên tắc thay đổi trình tự DNA ở các vị trí Cytosine không bị methyl hóa bằng bisulfite được sử dụng rộng rãi nhất, đặc biệt là trong phân tích methyl hóa trình tự gen đặc hiệu.

1.4.1 Phân tích methyl hóa DNA nhờ enzyme cắt giới hạn

Phân tích methyl hóa DNA nhờ enzyme cắt giới hạn phụ thuộc vào loại enzyme được sử dụng. Có 2 loại enzyme được sử dụng trong các nghiên cứu methyl hóa : enzyme cắt giới hạn nhạy cảm với methyl hóa và enzyme cắt giới hạn không nhạy cảm với methyl hóa [65]. Hoạt tính của các enzyme nhạy cảm hoặc không nhạy cảm với methyl hóa bị ảnh hưởng bởi sự hiện diện của nhóm methyl trên cytosine tại vị trí CpG trong trình tự cắt giới hạn. Các enzyme cắt giới hạn nhạy cảm methyl hóa như *HpaII*, *SmaI*, *McrBC*, *Hin6I* và *Acil*... nhận biết và cắt đặc hiệu tại các vị trí cắt giới hạn không bị methyl hóa hoặc có methyl hóa. Trong khi, các enzyme cắt giới hạn không nhạy cảm methyl hóa như *ApeKI*, *MspI*, và *TaqI*... nhận biết và cắt các vị trí cắt giới hạn bất kể trình trạng methyl hóa [66]. Sau đó, sản phẩm cắt sẽ được phát hiện

bằng kỹ thuật lai Southern blot, điện di, PCR hoặc realtime PCR. Các phân tích methyl hóa DNA đặc hiệu locus đầu tiên vào cuối những năm 1970 và đầu những năm 1980 dựa vào enzyme cắt giới hạn nhạy cảm methyl hóa kết hợp điện di trên gel và lai Southern blot. Phương pháp này vẫn được ứng dụng trong một số nghiên cứu yêu cầu phân tích thông tin methyl hóa trên đoạn DNA kích thước lớn, các trình tự lặp hoặc mối liên kết giữa một đảo CpG và một đa hình di truyền. Methylation-sensitive restriction enzyme-PCR (MSRE-PCR) là một kỹ thuật nhạy và vẫn còn được sử dụng đến ngày nay. Tuy nhiên, các phương pháp này dễ dẫn đến kết quả dương tính giả do hiện tượng cắt không hoàn toàn và việc nghiên cứu có thể bị hạn chế do đảo CpG cần nghiên cứu không chứa trình tự nhận biết của enzyme cắt giới hạn.

1.4.2 Phân tích methyl hóa DNA nhờ kỹ thuật làm giàu ái lực

Miễn dịch kết tủa DNA methyl hóa bằng cách sử dụng kháng thể đặc hiệu Cytosine methyl hóa hoặc protein bám DNA methyl hóa đã được chứng minh là một công cụ mạnh mẽ cho việc phân tích methyl hóa DNA của cả hệ gen. Sau khi được tinh sạch nhờ phản ứng lai miễn dịch với ái lực cao giữa DNA methyl hóa và kháng thể mang domain bám đặc hiệu Cytosine methyl hóa (CpG methyl binding domains – MBDs), DNA methyl hóa của toàn bộ hệ gen có thể được phân tích nhờ phản ứng lai microarray (ví dụ: CpG island array hoặc promoter microarray) (MeDIP-chip) hoặc giải trình tự thế hệ mới. Các kỹ thuật này đã được sử dụng rộng rãi để khám phá tình trạng methyl hóa trên các tế bào thực vật, chuột và người. Mặc dù, các phương pháp này cho phép đánh giá nhanh và hiệu quả tình trạng methyl hóa của toàn bộ hệ gen nhưng chúng không cung cấp thông tin về tình trạng methyl hóa của các đảo CpG đặc hiệu từng gen và cần phải có các công cụ phân tích tin sinh hay tinh chỉnh dữ liệu đối với mật độ CpG biến đổi tại các vùng khác nhau của hệ gen.

1.4.3 Phân tích methyl hóa DNA nhờ xử lý bisulfite

Phát hiện ra sự chuyển đổi DNA của sodium bisulphite đã tạo ra một cuộc cách mạng trong nghiên cứu về methyl hóa DNA vì nó phản ứng một cách có chọn lọc với các cytosine không methyl hóa và chuyển hóa chúng thành uracil trong khi cytosine methyl hóa không bị chuyển đổi. Do thông tin di truyền ngoại gen của DNA được chuyển thành thông tin trình tự trên DNA nên DNA sau khi được biến đổi bằng bisulfite có thể được phát hiện bằng nhiều kỹ thuật như PCR, giải trình tự, các kỹ thuật lai, sử dụng enzyme cắt giới hạn. Đây được coi là “tiêu chuẩn vàng” trong phân tích methyl hóa DNA do tính đặc hiệu cao, đơn giản, dễ thực hiện và tính linh động trong việc kết hợp với các phương pháp khác. Các phân tích sau bisulphite có thể được chia thành 2 loại : phát hiện không chọn lọc để phân tích định lượng methyl hóa và phát hiện chọn lọc DNA có methyl hoá hoặc DNA không methyl hoá.

Các phương pháp phát hiện không chọn lọc để phân tích định lượng methyl hóa, tiêu biểu như giải trình tự toàn bộ hệ gen sau khi bisulfite (Whole Genome Bisulfite Sequencing - WGBS) được thực hiện trên nền tảng giải trình tự thế hệ mới (New Generation Sequencing - NGS). WGBS đánh giá sự methyl hóa đảo CpG bằng cách chuyển các cytosine không bị methyl hóa thành uracil thông qua xử lý bisulfite, tiếp theo so sánh trình tự với hệ gen tham chiếu để xác định sự methyl hóa ở mức độ đơn CpG [67]. WGBS phân tích số lượng mẫu lớn và khối lượng kết quả cuối cùng lớn, khó sử dụng, đòi hỏi chuyên môn được đào tạo sâu để phân tích. Do đó, đến nay chỉ có một số ít nghiên cứu sử dụng công nghệ này để phân tích methyl hóa DNA đặc hiệu từng gen trong ung thư. Một phương pháp khác đơn giản hơn giúp định lượng mức độ methyl hóa DNA dựa trên phân tích khác biệt nhiệt độ nóng chảy của sản phẩm PCR khuếch đại từ phản ứng Realtime PCR (RT – PCR) khuếch đại đồng thời DNA bị methyl hóa và DNA không bị methyl hóa là MS-HRM (Methylation-sensitive high-resolution melting) [68]. Mặc dù, MS-HRM giúp phát hiện nhanh DNA bị methyl hóa và có thể đạt độ nhạy 0.1% - 1% nhưng

phương pháp yêu cầu cao trong tối ưu điều kiện phản ứng và khó áp dụng để phát hiện đồng thời nhiều đích DNA bị methyl hóa khác nhau.

Bên cạnh các kỹ thuật phát hiện methyl hóa một cách không chọn lọc giúp phân tích toàn bộ hệ gen, các kỹ thuật đặc hiệu locus giúp phát hiện có chọn lọc DNA bị methyl hóa hay DNA không bị methyl hóa cũng được quan tâm bởi phân tích đơn gen giúp giảm giá thành và xác định được trình tự đích phân tích. Phần lớn các dữ liệu mới hiện nay phân tích methyl hóa DNA dựa trên việc biến đổi DNA với bisulfite, sau đó khuếch đại DNA cần phân tích với các cặp mồi đặc hiệu. Nổi bật trong đó là phương pháp methylation-specific PCR (MSP). Đây là phương pháp được sử dụng rộng rãi nhất hiện nay trong phân tích methyl hóa DNA đặc hiệu từng gen. Phương pháp này sử dụng cặp mồi liên kết đặc hiệu với DNA bị methyl hóa hoặc DNA không bị methyl hóa nhờ vào sự khác biệt trong trình tự DNA methyl hóa và DNA không methyl hóa được tạo ra sau khi biến đổi DNA bằng bisulfite, do đó khuếch đại chọn lọc đoạn DNA bị methyl hóa hoặc DNA không bị methyl hóa cần phân tích. Tuy nhiên, kết quả dương tính giả hoặc âm tính giả vẫn có thể xảy ra khi sử dụng phương pháp này. Do đó, để nâng cao độ đặc hiệu, một biến thể khác của MSP là MethyLight đã được phát triển. Bên cạnh việc sử dụng mồi đặc hiệu trình tự đích MethyLight sử dụng thêm Taq-Man probe cũng có trình tự bổ sung đặc hiệu với DNA methyl hóa cần phân tích để phát hiện tình trạng methyl hóa DNA. Nhờ vậy giảm hiện tượng dương tính giả hoặc âm tính giả xảy ra. Để phân tích DNA methyl hóa trong các mẫu bệnh phẩm khó, với tỉ lệ DNA methyl hóa thấp (như mẫu máu) đòi hỏi phải nâng cao độ nhạy của các công nghệ phát hiện methyl hóa DNA. Phương pháp HeavyMethyl sử dụng mẫu dò khoá không kéo dài chuỗi để ngăn chặn khuếch đại DNA đích không mong muốn đã ra đời. Mẫu dò khóa này có trình tự bổ sung với DNA đích không mong muốn và có vị trí bám chồng lớp với vị trí gắn mồi nhờ đó giảm thiểu hiện tượng khuếch đại chéo và tăng cường khả

năng khuếch đại đặc hiệu DNA đích. Nghiên cứu của tác giả Cottrell S.E. và cs chỉ ra rằng độ nhạy phát hiện methyl hóa DNA của HeavyMethyl có thể lên tới 0.025% [69]. Tuy nhiên, mẫu dò khóa không kéo dài chuỗi đòi hỏi phải thay thế các nucleotide tự nhiên bằng các biến thể nucleotide thích hợp, dẫn đến tăng giá thành của các xét nghiệm phân tích methyl hóa DNA khi sử dụng phương pháp này.

Hiện nay, phương pháp phát hiện *mSEPT9* lưu hành tự do trong máu ngoại vi của BNUTĐTT sử dụng bộ Epi proColon test với kỹ thuật bisulphis DNA và công nghệ RT – PCR.

1.5. Các nghiên cứu trên thế giới về giá trị dấu ấn *mSEPT9* huyết tương ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng

1.5.1 Giá trị dấu ấn mSEPT9 huyết tương trong sàng lọc phát hiện sớm ung thư đại trực tràng

Năm 2008, nghiên cứu đầu tiên về *mSEPT9* trong máu ngoại vi của BNUTĐTT và người khỏe mạnh đã được thực hiện bởi Lofton D. và cs, sau khi sàng lọc được 56 gen có sự methyl hóa khác biệt rõ rệt giữa mô UTĐTT và mô lành tính nhờ enzyme cắt giới hạn, Lofton D. và cs đã kiểm tra và chọn ra được 3 chỉ thị sinh học tiềm năng gồm : *TMEFF2*, *NGFR* và *SEPT9* để phân tích tình trạng methyl hóa DNA trong huyết tương của 133 BNUTĐTT và 179 người khỏe mạnh [70]. Kết quả cho thấy *mSEPT9* được phát hiện trong 69% BNUTĐTT trong đó 30% BN ở giai đoạn 1 (n = 23) ; 56% BN ở giai đoạn 2 (n = 32); 45% BN ở giai đoạn 3 (n = 47) và 68% BN ở giai đoạn 4 (n = 31). Trong khi đó, sự methyl hóa gen *TMEFF2* và *NGFR* được phát hiện thấy trong BNUTĐTT lần lượt là 65% và 51%. Trên nhóm người khỏe mạnh, kết quả cho thấy *SEPT9* và *NGFR* có độ đặc hiệu tương tự nhau lần lượt là 86% và 84%, *TMEFF2* có độ đặc hiệu thấp nhất (69%). Như vậy, *mSEPT9* cho độ nhạy và độ đặc hiệu cao nhất trong phát hiện, chẩn đoán UTĐTT.

Trên cơ sở đó, nghiên cứu của Kinga T. và cs về ảnh hưởng của *mSEPT9* đến biểu hiện của mRNA và protein SEPT9 trong UTĐTT đã được tiến hành nhằm đưa ra bằng chứng hỗ trợ cho quan điểm *SEPT9* đóng vai trò như một gen ức chế khối u và sự methyl hóa bất thường của nó được coi là một dấu hiệu trong quá trình sinh UTĐTT [54]. Kinga T. nhận thấy rằng trong mô sinh thiết đại trực tràng, các tế bào biểu mô được vi phẫu bằng laser biểu hiện của mRNA *SEPT9* giảm trong quá trình tiến triển của BNUTĐTT từ u tuyến đến ung thư biểu mô, và protein SEPT9 giảm biểu hiện rõ rệt trong UTĐTT so với người khỏe mạnh. Đồng thời nghiên cứu cũng cho thấy mức độ biểu hiện của protein SEPT9 có tương quan thuận với mức độ biểu hiện của mRNA *SEPT9*. Khi demethyl hóa promoter gen *SEPT9* trong dòng tế bào nuôi cấy HT29, họ nhận thấy biểu hiện tăng lên của mRNA và protein SEPT9. Do đó, tương quan giữa tăng cường *mSEPT9* và mất biểu hiện của mRNA gen *SEPT9* trong UTĐTT gợi ý rằng sự giảm biểu hiện gen *SEPT9* có thể dẫn đến tiến triển bệnh lý từ lành tính đến ác tính. Đồng thời, sự biểu hiện bất thường của gen *SEPT9* trong BNUTĐTT so với người khỏe mạnh gợi ý một cách tiếp cận mới trong sàng lọc phát hiện sớm UTĐTT.

Sau khi xác nhận *mSEPT9* trong máu ngoại vi là một chỉ thị ung thư tiềm năng cho phát hiện UTĐTT, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện để khẳng định xét nghiệm *mSEPT9* là một xét nghiệm chính xác, nhanh và ít xâm lấn nhất trong phát hiện UTĐTT. Các nghiên cứu này đều cho kết quả khả quan với độ nhạy và độ đặc hiệu dao động trong khoảng 68% - 95,6% và 82% - 98,9%, tương ứng. Một tổng quan có hệ thống phân tích tổng hợp của Jiayun N. và cs (2017) đã chọn và phân tích 25 nghiên cứu trước đó về vai trò của *mSEPT9* trong máu ngoại vi trong UTĐTT. Các nghiên cứu được chọn từ năm 2008 đến năm 2016 thực hiện trên 7 quốc gia bao gồm Mỹ, Trung Quốc, Đức, Hungary, Nga, Hàn Quốc và Đan Mạch. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng độ nhạy và độ đặc hiệu chung của xét nghiệm lần lượt là 71% và 92%, tỉ lệ

dương tính của *mSEPT9* cao hơn ở UTĐTT giai đoạn tiến triển (45% ở giai đoạn I, 70% ở giai đoạn II, 76% ở giai đoạn III, 79% ở giai đoạn IV) [71]. Và độ nhạy phát hiện đối với người Châu Á cao hơn các quốc gia khác. Tháng 4 năm 2016, FDA đã chấp nhận xét nghiệm phân tích methyl hóa vùng promoter gen *SEPT9* như một xét nghiệm máu đầu tiên cho sàng lọc UTĐTT với bộ kit thương mại Epi proColon®, Epigenomics.

Những năm gần đây càng có nhiều nghiên cứu đánh giá về vai trò của *mSEPT9* trong sàng lọc, định hướng chẩn đoán UTĐTT. Trong nghiên cứu của Lu P. và cs (2022) cho thấy vai trò *mSEPT9* huyết tương trong sàng lọc và theo dõi tái phát đối với UTĐTT rất hứa hẹn [72]. Nghiên cứu 616 BNUTĐTT và 122 người khoẻ mạnh, kết quả nghiên cứu cho thấy *mSEPT9* đạt được độ nhạy và độ đặc hiệu tổng thể là 72,94% và 81,97%, tương ứng, với giá trị diện tích dưới đường cong (AUC) là 0,826, cao hơn so với CEA (độ nhạy: 43,96%; độ đặc hiệu: 96,72%; AUC: 0,789) và CA19-9 (độ nhạy: 14,99%; độ đặc hiệu: 96,61%; AUC: 0,590). Sự kết hợp của *mSEPT9*, CEA và CA19-9 cải thiện hơn nữa độ nhạy, độ đặc hiệu và giá trị AUC với độ nhạy 78,43%, độ đặc hiệu 86,07%, AUC 0,878. Nghiên cứu này cũng nhận thấy tỷ lệ dương tính *mSEPT9* có liên quan đáng kể với giai đoạn TNM, giai đoạn T, giai đoạn N, kích thước khối u, xâm lấn mạch máu và xâm lấn thần kinh ở những BNUTĐTT.

1.5.2 Giá trị dấu ấn mSEPT9 huyết tương trong tiên lượng, theo dõi sau điều trị ung thư đại trực tràng

Trong nghiên cứu Sun J. và cs (2019) cũng nhận thấy độ nhạy và độ đặc hiệu của *mSEPT9* trong chẩn đoán và theo dõi tái phát cao hơn so với CEA, CA19-9 và CA724 [73]. Việc phát hiện kết hợp *mSEPT9* và *CECT* đã nâng cao độ nhạy để theo dõi tái phát.

Trong nghiên cứu Liu W. và cs (2021) trên nhóm BNUTĐTT giai đoạn IV di căn gan trải qua phẫu thuật có khả năng chữa khỏi đại diện cho một

phân nhóm BN có tiên lượng tương đối tốt [74]. Trong nghiên cứu này, tác giả nhằm mục đích đánh giá vai trò của mSEPT9 để theo dõi đáp ứng với điều trị và dự đoán tiên lượng. Nghiên cứu đã tuyển chọn 51 BNUTĐTT giai đoạn IV di căn gan, bao gồm 20 BN được phẫu thuật đồng thời và 31 BN được phẫu thuật theo nhiều giai đoạn. BN được đo nồng độ mSEPT9 và CEA trong máu trước khi phẫu thuật và sau đó là bảy ngày sau phẫu thuật. Kết quả: mSEPT9 và CEA được phát hiện trước mổ với tỷ lệ 92,2% (47/51) và 70,6% (36/51). Sau phẫu thuật đồng thời và theo giai đoạn, mức độ mSEPT9 đã giảm đáng kể lần lượt là 923 lần ($p < 0,001$) và 11 lần ($p < 0,001$). Mức độ CEA cũng giảm đáng kể 17 lần ($p < 0,001$) và 1,7 lần ($p < 0,01$) sau khi phẫu thuật đồng thời và theo giai đoạn phẫu thuật, tương ứng. Mức giảm phần trăm trung bình của các mức mSEPT9 sau khi đồng thời phẫu thuật (12,3%) thấp hơn đáng kể so với phẫu thuật theo giai đoạn (33,8%) ($p < 0,001$) trong khi tỷ lệ phần trăm giảm trung bình nồng độ CEA sau phẫu thuật đồng thời (35,5%) thấp hơn đáng kể so với phẫu thuật theo giai đoạn (64,6%) ($p < 0,05$). Nồng độ mSEPT9 trong máu tương quan định lượng với gánh nặng khối u. Phân tích sống còn cho thấy BN có kết quả xét nghiệm âm tính với mSEPT9 trước và sau phẫu thuật có tỷ lệ sống tốt hơn những người có mSEPT9 dương tính, do đó gợi ý rằng mSEPT9 có thể hoạt động như một chỉ số tiên lượng sau phẫu thuật.

Trong nghiên cứu của Yuan Z. và cs (2022) đã đánh giá khả năng lưu hành mSEPT9 để xác định sự tái phát và để nghiên cứu vai trò ý nghĩa lâm sàng của mSEPT9 trong các quyết định về chế độ hóa trị bổ trợ [75]. Nghiên cứu này thu nhận 426 BNUTĐTT giai đoạn II-III đã được phẫu thuật cắt bỏ triệt để. Thời gian theo dõi trung bình là 15,8 tháng (trong khoảng 8,1- 43,4 tháng). Tiêu chí đánh giá chính là tỷ lệ sống sót không tái phát (RFS). Kết quả cho thấy: Ở những BNUTĐTT giai đoạn II-III, sau phẫu thuật (trong vòng 1 tháng sau phẫu thuật) dương tính với mSEPT9 có liên quan đáng kể với RFS

kém hơn ($HR=6,21$, $p < 0,001$) và *mSEPT9* vẫn là yếu tố dự báo độc lập mạnh nhất trong nghiên cứu đa biến Cox phân tích hồi quy ($HR=5,83$, $p < 0,001$), vượt trội đáng kể so với CEA, CA19-9 và CA24-2. Trong quá trình theo dõi bệnh, kết quả dương tính với *mSEPT9* xảy ra trước khi phát hiện tái phát trên chẩn đoán hình ảnh trung bình là 5 tháng. Bệnh nhân dương tính với *mSEPT9* sau phẫu thuật đạt được RFS tốt hơn từ CAPEOX so với FOLFOX ($HR=3,97$, $p = 0,017$), trong khi đối với bệnh nhân âm tính với *mSEPT9*, CAPEOX và FOLFOX dẫn đến RFS tương tự ($HR=1,70$, $p = 0,322$). Hơn nữa, 3 tháng CAPEOX hiệu quả hơn 3 và 6 tháng FOLFOX ($HR = 4,40$, $p = 0,065$; $HR = 1,56$, $p = 0,073$, tương ứng). Kết quả trên cho thấy rằng phát hiện *mSEPT9* sau khi cắt bỏ triệt để có thể xác định bệnh còn sót lại ở mức tối thiểu (MRD) và có thể dự đoán nguy cơ tái phát cao ở những BNUTĐTT giai đoạn II-III. Hơn nữa, nghiên cứu cho thấy vai trò phát hiện *mSEPT9* có thể được sử dụng để hướng dẫn lựa chọn phác đồ hóa trị liệu hỗ trợ để cải thiện RFS.

1.6. Tình hình nghiên cứu trong nước về các chỉ thị sinh học trong ung thư đại trực tràng

Tại Việt Nam, nhiều nghiên cứu về UTĐTT đã được tiến hành với mục đích tìm ra chỉ thị sinh học đặc hiệu cho việc chẩn đoán và điều trị. Trong đó nghiên cứu về mối tương quan giữa đột biến gen và tiên lượng, điều trị UTĐTT được báo cáo nhiều nhất. Trái lại, rất ít nghiên cứu được thực hiện tìm ra chỉ thị sinh học đặc hiệu và có độ nhạy cao trong sàng lọc, phát hiện sớm UTĐTT.

Năm 2011, Phạm Thu Huyền và Trịnh Hồng Thái công bố kết quả nghiên cứu phân tích tình trạng methyl hóa promoter gen *CXCL12* ở BN UTĐTT. Bằng phương pháp MSP, kết quả cho thấy methyl hóa promoter gen *CXCL12* có thể là một chỉ thị sinh học tiềm năng cho chẩn đoán UTĐTT do tỉ lệ methyl hóa gen *CXCL12* khá cao, chiếm 80% trong số 20 mẫu mô của BNUTĐTT trong đó tỉ lệ methyl hóa trên mô u là 76,5% cao hơn hẳn so với

mô lân cận u 30,8%. Sự khác biệt về tỉ lệ methyl tại vị trí khối u và vị trí lân cận là có ý nghĩa thống kê [76]. Tuy nhiên, nghiên cứu chưa đánh giá được tỉ lệ methyl hóa *CXCL12* trên nhóm người khỏe mạnh và cỡ mẫu còn hạn chế.

Từ 2013 đến 2017, Nguyễn Kiến Dụ và cs đã có một số công bố kết quả nghiên cứu về phát hiện đột biến gen *KRAS* và mối liên quan điều trị đích của BNUTĐTT. Bằng phương pháp giải trình tự trực tiếp và Scorpions ARMS (Scorpions Amplification Refractory Mutation System), nghiên cứu đã phát hiện được tỷ lệ đột biến gen *KRAS* ở BNUTĐTT là 30,4% (44/145) trong đó có đột biến gen *KRAS* tại codon 12 dạng G12D chiếm tỷ lệ cao nhất là 45,4% (20/44), đứng thứ hai là đột biến gen *KRAS* tại codon 13 dạng G13D là 25,0% (11/44), đột biến tại codon 12 dạng G12A có tỷ lệ thấp nhất là 2,3% (1/44), không có BN đột biến dạng G12R. Nghiên cứu bước đầu đánh giá hiệu quả điều trị đích trên BNUTĐTT không có đột biến gen *KRAS* cho thấy Cetuximab góp phần cải thiện hiệu quả đáp ứng điều trị ở BNUTĐTT giai đoạn muộn [77].

Năm 2014, tác giả Nguyễn Thị Kim Liên và cs nghiên cứu gen *KRAS* đã xác định có đột biến M67V, V103D và M111K trong mẫu máu của BNUTĐTT người Việt Nam. Kết quả nghiên cứu cấu trúc 3D của phân tử protein *KRAS* cho thấy đột biến M67V và V103D đã làm thay đổi hình dạng không gian của protein *KRAS*. Do đó, bên cạnh các đột biến đã được xác định rõ sự ảnh hưởng đối với hiệu quả điều trị như đột biến tại codon 12, 13 trong nghiên cứu của tác giả Nguyễn Kiến Dụ, thì những đột biến tại các điểm trên vùng Switch I, II hay vùng domain G đều có thể ảnh hưởng ít nhiều đến hoạt tính của protein *KRAS* và đó cũng có thể là những đột biến ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị ở BNUTĐTT [78].

Năm 2023, Trần Thanh Hà và cs đã sử dụng mẫu RNA thay thế cho mẫu DNA để phân tích đột biến gen *KRAS* ở mức độ RNA độ nhạy cao với kỹ thuật công nghệ phiên mã ngược với mẫu dò khóa có thể kéo dài chuỗi (Extendable blocking probe - Reverse transcription, viết tắt là “ExBP-RT”)

được Tho H.H. và cs (2015) đã công bố, cho kết quả tỷ lệ đột biến gen *KRAS* ở mức độ RNA là 9/84 mẫu bệnh phẩm polyp đại trực tràng (10,7%) [79]. Tỷ lệ đột biến gen *KRAS* có xu hướng cao hơn ở polyp có thành phần nhung mao so với polyp u tuyến ống (33,3% so với 9,2%) và polyp loạn sản độ cao so với polyp loạn sản độ thấp (23,1% so với 8,6%), tuy nhiên khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê. Đột biến gen *KRAS* làm tăng nguy cơ UTĐTT lên 3,33 lần (95%CI: 1,32 - 8,4, $p < 0,01$) ở nhóm polyp kích thước $> 10\text{mm}$; lên 3,15 lần (95%CI: 1,20 - 8,24, $p = 0,02$) ở nhóm polyp u tuyến đại trực tràng kích thước $> 10\text{mm}$ và lên 4,24 lần (95%CI: 1,40 - 12,82, $p = 0,02$) ở nhóm polyp u tuyến đại trực tràng kích thước $> 10\text{mm}$ loạn sản độ thấp [80].

Như vậy, gen *SEPT9* đóng vai trò quan trọng trong kiểm soát chu kỳ tế bào, sự methyl hoá CpG promoter của gen này làm mất chức năng ức chế khối u. Vì vậy, m*SEPT9* có thể phát hiện khả năng UTĐTT ngay cả khi tổn thương chưa biểu hiện thành các triệu chứng lâm sàng cũng như chưa thể phát hiện trên cận lâm sàng như nội soi. Tuy nhiên, tại Việt Nam còn hạn chế các nghiên cứu về hiện tượng methyl hóa DNA có vai trò trong chẩn đoán cũng như theo dõi, tiên lượng sau điều trị trong UTĐTT.

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu gồm 152 BNUTĐTT điều trị nội trú tại Bệnh viện Quân Y 103, Bệnh viện K cơ sở Tân Triều từ 1/2021 đến 12/2024. 92 người đi khám sức khỏe định kỳ và xét nghiệm tại Phòng Công nghệ Gen và Di truyền, Viện Nghiên cứu y dược học Quân sự, Học viện Quân Y.

2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn

- Nhóm chứng: Người đi khám sức khỏe định kỳ đánh giá tổng thể không mắc bệnh lý cấp tính hoặc mạn tính; Nội soi đại trực tràng đánh giá không có polyp, không có khối u, không có tình trạng viêm đại trực tràng; Được xét nghiệm mSEPT9 trước nội soi đại trực tràng; Không có tiền sử gia đình mắc bệnh lý ung thư; Tự nguyện tham gia vào nghiên cứu.
- Nhóm bệnh: Người bệnh được chẩn đoán xác định, chẩn đoán giai đoạn UTĐTT và điều trị theo phác đồ của Bộ Y tế năm 2020. BN được xét nghiệm mSEPT9 và CEA đầy đủ trước điều trị; Nhóm BNUTĐTT giai đoạn III được làm xét nghiệm mSEPT9 sau phẫu thuật triệt căn 7 ngày; Người bệnh tự nguyện tham gia nghiên cứu.

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- + Đồng mắc bệnh lý ung thư khác hoặc các bệnh lý nguy cơ tử vong gần.
- + Người bệnh đã từng điều trị hoá chất, xạ trị, hoặc phẫu thuật trước khi xét nghiệm mSEPT9.
- + Nhóm BNUTĐTT giai đoạn III sau phẫu thuật triệt căn diễn biến nặng phải điều trị hồi sức tích cực quá 7 ngày.
- + Người bệnh không đồng ý tham gia nghiên cứu, hồ sơ không đủ dữ liệu

2.1.3. Thời gian, địa điểm nghiên cứu

- Thời gian: Nghiên cứu được tiến hành từ 1/2021 đến 12/2024
- Địa điểm nghiên cứu:
 - + Trung tâm Ung bướu, Bệnh viện Quân Y 103; Khoa Ngoại bụng 1 – Bệnh viện K Tân Triều.
 - + Phòng Công nghệ Gen và Di truyền, Viện Nghiên cứu y dược học Quân sự, Học viện Quân Y

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu tiến cứu theo dõi dọc, mô tả có phân tích.

2.2.2. Cỡ mẫu

Cỡ mẫu được tính theo công thức:

$$n = \frac{z_{1-\alpha/2}^2 p(1-p)}{d^2}$$

Trong đó:

n: cỡ mẫu

α : mức ý nghĩa thống kê, chọn $\alpha = 0,05$ (ứng với độ tin cậy là 95%)

Z: giá trị thu được từ bảng tương ứng với giá trị $\alpha = 0,05$ (1,96)

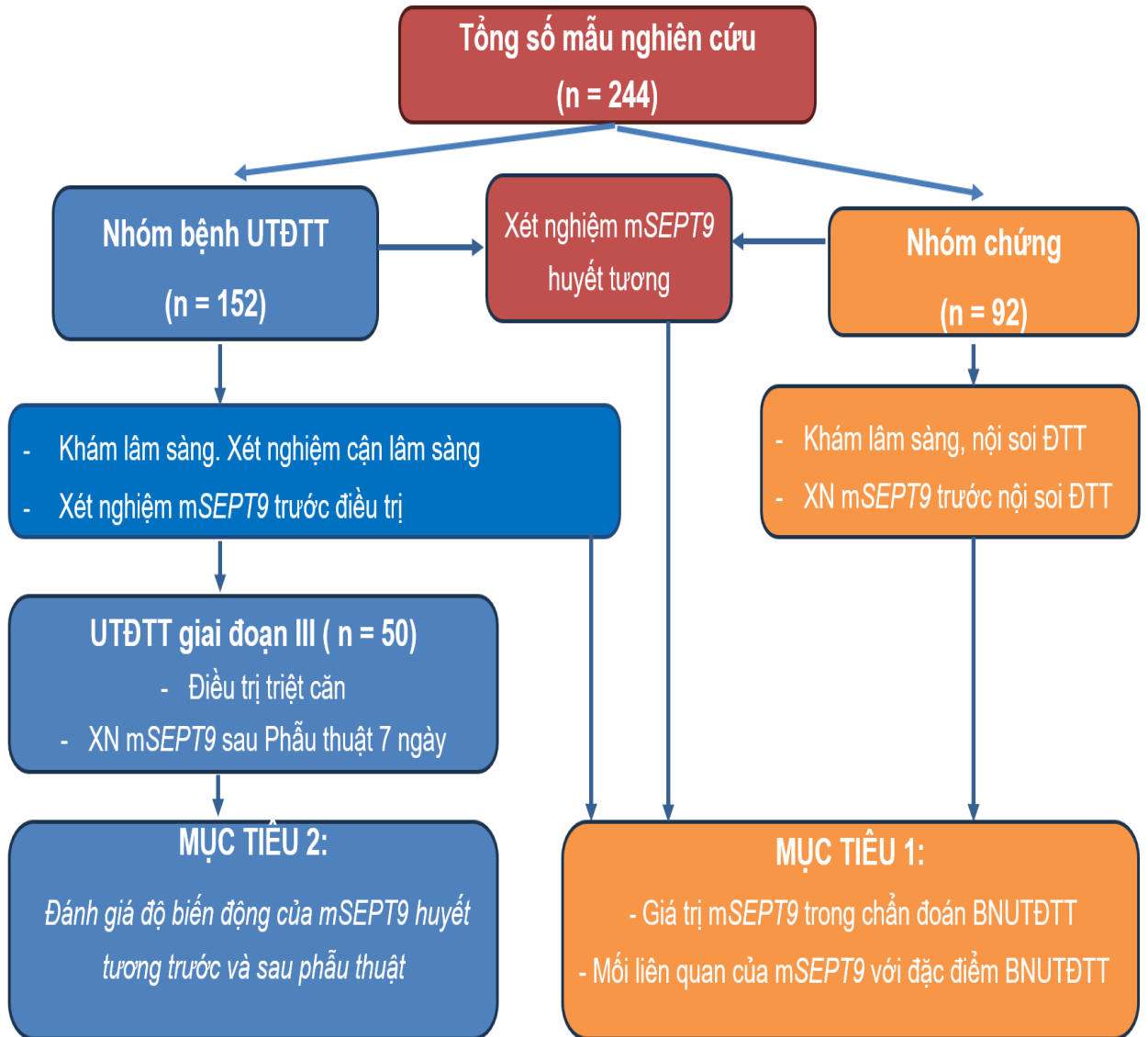
p: tỉ lệ mSEPT9 dương tính ở BNUTĐTT trong các nghiên cứu trước đó từ 65 – 95,6%.

Chúng tôi lấy $p = 0,908$ theo Loomans – Kropp (2022) [81]

d: khoảng sai lệch mong muốn, do nhà nghiên cứu lựa chọn sao cho kết quả nghiên cứu biến thiên không quá lớn. Chúng tôi chọn $d = 0,05$

Áp dụng công thức trên chúng tôi tính được cỡ mẫu lý thuyết tối thiểu là $n = 128$ bệnh nhân. Nghiên cứu của chúng tôi có cỡ mẫu là 152 BNUTĐTT.

2.2.3. Sơ đồ nghiên cứu



Hình 2.1. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu

2.2.4 Biến số và chỉ số nghiên cứu

Các biến số trong nghiên cứu cần thu thập:

Biến số	Loại biến	Định nghĩa	Phương pháp thu thập
Tuổi	Liên tục	Tuổi tính bằng năm	Tra cứu hồ sơ bệnh án
Giới tính	Định danh	Nam, nữ	Tra cứu hồ sơ bệnh án
Thời gian phát hiện bệnh	Liên tục	Tính bằng tháng từ khi có triệu chứng đến khi chẩn đoán xác định	Tra cứu hồ sơ bệnh án
Tiền sử bệnh mạn tính	Định danh	- Có - Không	Tra cứu hồ sơ bệnh án
Đau bụng	Định danh	- Có - Không	Tra cứu hồ sơ bệnh án
Phân nhày máu	Định danh	- Có - Không	Tra cứu hồ sơ bệnh án
Rối loạn tiêu hoá	Định danh	- Không - Táo bón - Phân lỏng - Mót rặn - Phân dẹt - Táo lỏng xen kẽ	Tra cứu hồ sơ bệnh án
Gầy sút cân	Định danh	- Có - Không	Tra cứu hồ sơ bệnh án
Bán / Tắc ruột	Định danh	- Không - Bán tắc ruột - Tắc ruột	Tra cứu hồ sơ bệnh án
Vị trí khối u	Định danh	- Đại tràng phải - Đại tràng trái	Dựa vào kết quả nội soi ĐTT, CT, MRI tiểu

		- Trục tràng	khung
Kích thước u trên nội soi	Định danh	- < 1/4 chu vi - >1/4-1/2 chu vi - >1/2-3/4 chu vi - > 3/4 chu vi	Dựa vào kết quả nội soi ĐTT, CT, MRI tiêu khung
Đại thể u trên nội soi	Định danh	- Loét - Sùi - Loét sùi - Thâm nhiễm	Dựa vào kết quả nội soi ĐTT, CT, MRI tiêu khung
CEA	Định danh	- Âm tính ($\leq 5\text{ng/ml}$) - Dương tính ($> 5\text{ ng/ml}$)	Tra cứu hồ sơ bệnh án
Đại thể u trên bệnh phẩm phẫu thuật	Liên tục	Chiều dài, đường kính khối u tính bằng centimet, đo bằng thước đo.	Tra cứu hồ sơ bệnh án Biên bản giải phẫu bệnh
Mô bệnh học khối u	Định danh	- UTBM tuyến - UTBM chế nhầy - UTBM tế bào nhẵn - UTBM tuyến có thành phần nhầy/nhẵn - UTBM thể tuỷ	Tra cứu hồ sơ bệnh án Biên bản giải phẫu bệnh
Độ biệt hoá khối u	Định danh	- Độ cao - Độ vừa - Độ thấp	Tra cứu hồ sơ bệnh án Biên bản giải phẫu bệnh
Đặc điểm vi thể u trên GPB	Định danh	- U xâm nhập mạch - U xâm nhập thần kinh - U xâm nhập tạng	Tra cứu hồ sơ bệnh án Biên bản giải phẫu bệnh
Tình trạng vi	Định danh	- MSS	Tra cứu hồ sơ bệnh án

vệ tinh khối u		- MSI - H	Xét nghiệm HMMD
Giai đoạn khối u	Định danh	- T1 - T2 - T3 - T4	Tra cứu hồ sơ bệnh án Biên bản giải phẫu bệnh
Giai đoạn hạch	Định danh	- N0 - N1 - N2	Tra cứu hồ sơ bệnh án Biên bản giải phẫu bệnh
Giai đoạn di căn xa	Định danh	- M0 - M1	Tra cứu hồ sơ bệnh án Biên bản giải phẫu bệnh
Giai đoạn bệnh theo TNM	Định danh	- Giai đoạn I - Giai đoạn II - Giai đoạn III - Giai đoạn IV	Tra cứu hồ sơ bệnh án Biên bản giải phẫu bệnh
mSEPT9 trước điều trị	Định danh	- Dương tính - Âm tính	Kết quả xét nghiệm PCR
mSEPT9 sau điều trị	Định danh	- Dương tính - Âm tính	Kết quả xét nghiệm PCR
Thời gian sống bệnh không tiến triển (PFS)	Liên tục	Tính bằng tháng: từ lúc BN chẩn đoán xác định đến lúc đánh giá có bệnh tiến triển	Tra cứu hồ sơ bệnh án Xác định thời điểm bệnh tiến triển tại chỗ, tại vùng hoặc di căn xa
Thời gian sống thêm toàn bộ (OS)	Liên tục	Tính bằng tháng: từ lúc BN chẩn đoán xác định đến lúc BN tử vong hoặc dừng nghiên cứu (12/2024)	Tra cứu hồ sơ bệnh án Xác định thời điểm tử vong

2.3. Các bước thu thập thông tin

2.3.1 Thu thập thông tin đặc điểm lâm sàng

Tất cả các BN đều được nghiên cứu sinh trực tiếp hỏi bệnh, khám lâm sàng và thu thập thông tin theo mẫu bệnh án nghiên cứu bao gồm:

- + Tuổi: tính đến khi bệnh nhân được lấy mẫu trước khi bắt đầu điều trị
- + Giới tính: nam/nữ
- + Lý do vào viện: các triệu chứng khiến bệnh nhân phải đi khám bệnh.
- + Thời gian phát hiện bệnh: được tính từ khi có triệu chứng đầu tiên đến khi vào viện, chẩn đoán xác định bệnh. Thời gian tính theo tháng chia làm 3 nhóm: dưới 1 tháng, từ 1-3 tháng và trên 3 tháng.
- + Các triệu chứng, hội chứng lâm sàng khám khi vào viện: triệu chứng toàn thân (gầy sút cân), triệu chứng cơ năng (rối loạn tiêu hoá, phân nhầy máu, đau bụng, bán tắc ruột).
 - Đau bụng: mức độ đau bụng thay đổi tùy theo cá nhân có thể đau nhẹ, lâm râm, quặn từng cơn, có thể đau liên tục, co thắt, đau nhiều từng cơn khiến người bệnh phải vào viện trong tình trạng cấp cứu.
 - Phân lỏng: tình trạng phân nhão, lỏng hay nhiều nước.
 - Phân táo: tình trạng phân khô, thành cục nhỏ, khó đại tiện.
 - Phân có máu: tình trạng phân có lẫn máu hoặc nhầy máu.
 - Phân dẹt: tình trạng phân không thành khuôn mà dẹt nhỏ như phân dê do tình trạng chèn ép của khối u chiếm một phần lòng đại trực tràng
 - Sụt cân: tình trạng mất đi từ 5 đến 10% trọng lượng cơ thể trong 1-12 tháng, hoặc mất đi 2,25 kg trong vòng ba tháng.

2.3.2. Thu thập thông tin đặc điểm cận lâm sàng

+ Vị trí khối u xác định dựa vào biên bản phẫu thuật, người bệnh không phẫu thuật dựa vào kết quả nội soi, chụp cắt lớp vi tính, chụp cộng hưởng từ.

Vị trí u chia theo 03 vị trí:

- Đại tràng phải: từ manh tràng đến giữa đại tràng ngang.
 - Đại tràng trái: từ giữa đại tràng ngang đến hết đại tràng sigma.
 - Trực tràng: từ rìa hậu môn đến điểm tiếp giáp với đại tràng sigma.
- + Đặc điểm u trên nội soi: Sử dụng máy nội soi trực tràng ống cứng và máy nội soi đại tràng ống mềm video hãng Olympus có hệ thống nhuộm màu NBI.
- Đánh giá các chỉ số:

- Kích thước u so với chu vi đại trực tràng chia làm 04 loại:
 - Kích thước khối u dưới $1/4$ chu vi đại trực tràng.
 - Kích thước khối u từ $1/4$ đến dưới $1/2$ chu vi đại trực tràng
 - Kích thước khối u từ $1/2$ đến dưới $3/4$ chu vi đại trực tràng
 - Kích thước khối u từ $3/4$ chu vi đại trực tràng trở lên
- Dạng tổn thương khối u trên nội soi chia 6 loại theo phân loại Pari 2002
 - Type 0: Tổn thương dạng ung thư dạng nhú lồi, phẳng.
 - Type 1: Tổn thương ung thư dạng sùi.
 - Type 2: Tổn thương ung thư dạng loét
 - Type 3: Tổn thương ung thư dạng loét và sùi kết hợp
 - Type 4: Tổn thương ung thư dạng thâm nhiễm
 - Type 5: Tổn thương ung thư dạng không thể phân loại được

+ Đặc điểm u nguyên phát và tổn thương thứ phát dựa vào:

Chẩn đoán hình ảnh trước điều trị: cắt lớp vi tính lồng ngực, chụp cắt lớp vi tính ổ bụng, MRI tiểu khung, xạ hình xương, PET/CT nếu có.

Dựa vào biên bản mô tả quá trình phẫu thuật đánh giá kích thước u, mức độ xâm lấn u, các cơ quan di căn

Dựa vào mô tả hình ảnh đại thể, hình ảnh vi thể trên giải phẫu bệnh

Đánh giá di căn đến các cơ quan: gan, phổi, tụy, thận, buồng trứng, não, xương, phúc mạc.

- + Xét nghiệm CEA: Định lượng CEA được thực hiện bằng kỹ thuật Miễn dịch enzym (ELISA) và Miễn dịch điện hóa phát quang. Xét nghiệm được tiến hành thường quy tại các bệnh viện. Ngưỡng bình thường 0 – 5 ng/ml.
- + Mô bệnh học: phân loại mô bệnh học khối u qua nội soi sinh thiết theo phân loại của WHO 2019.
- + Đánh giá giai đoạn bệnh tại thời điểm chẩn đoán ban đầu: theo hệ thống phân loại TNM của AJCC phiên bản 8 năm 2017.
- + Kết quả xét nghiệm mSEPT9 : xác định dương tính, âm tính dựa vào kết quả PCR phân tích đường cong nóng chảy sản phẩm PCR lặp lại 3 lần.

2.3.3. Thu thập thông tin điều trị và thời điểm lấy mẫu xét nghiệm

- Thông tin điều trị: Các phương pháp điều trị được ghi chép, theo dõi dựa vào hồ sơ bệnh án điều trị của BN.
- Thời điểm lấy mẫu máu xét nghiệm mSEPT9
- + Nhóm chứng: lấy mẫu máu xét nghiệm mSEPT9 trước khi nội soi đại trực tràng kiểm tra.
- + Tất cả các BN được lấy mẫu máu xét nghiệm mSEPT9 trước điều trị
- + Nhóm BNUTĐTT giai đoạn III có chỉ định phẫu thuật triệt căn: lấy mẫu máu xn gen mSEPT9 sau phẫu thuật triệt căn 7 ngày.

2.3.4. Thu thập thông tin theo dõi bệnh nhân đánh giá tình trạng tái phát, di căn, tử vong

- Đánh giá kết quả giải phẫu bệnh khối u, hạch, sau phẫu thuật theo phân loại của WHO 2019.
- Đánh giá chẩn đoán giai đoạn sau phẫu thuật
- Theo dõi tình trạng BN dựa vào hồ sơ bệnh án điều trị cho bệnh nhân tại bệnh viện từ khi BN được chẩn đoán xác định cho đến hết đợt điều trị triệt căn, điều trị bổ trợ và theo dõi định kỳ 3 tháng/lần trong 2 năm đầu tiên, 6 tháng/lần trong những năm tiếp theo, xác định thời điểm BN xuất hiện tiến triển tái phát, di căn hay tử vong.

+ Đánh giá thời gian sống bệnh không tiến triển (PFS) được tính theo tháng từ thời điểm chẩn đoán xác định đến khi bệnh tiến triển tái phát tại chỗ, tại vùng và di căn xa.

+ Đánh giá thời gian sống toàn bộ (OS) tính theo tháng bắt đầu từ lúc chẩn đoán xác định cho đến khi người bệnh tử vong hoặc kết thúc nghiên cứu (12/2024).

2.4 Các nguyên lý và quy trình kỹ thuật trong đề tài

Trong đề tài thực hiện xét nghiệm xác định mức độ mSEPT9 ở máu ngoại vi với kỹ thuật Semi – nested PCR sử dụng mẫu dò khóa có khả năng kéo dài.

2.4.1 Phương tiện, hoá chất

Máy ly tâm

Máy vortex

Đầu côn, pipet, Epp 1.5 ml

Bộ kit QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit của hãng Qiagen, Helden, Đức

Bộ QIAvac 24 Plus, QIAvac connecting System and Vacuum Pump của hãng Qiagen, Helden, Đức

Máy Realtime PCR Rotor-Gene Q (Qiagen, Hilden, Đức)

Ethanol 96-100%

2.4.2 Nguyên lý và quy trình kỹ thuật

2.4.2.1 Phương pháp thu thập, bảo quản và tách chiết mẫu

- Quy trình kỹ thuật lấy mẫu máu tĩnh mạch ngoại vi :

+ Chuẩn bị: Bơm tiêm vô trùng loại 10ml; Tube đựng máu loại 5ml chứa chất chống đông EDTA-K2; Bút dạ và giấy có mã/ barcode.

+ Lấy máu tĩnh mạch, khoảng 8-10 ml.

+ Tháo bỏ kim, chuyển máu vào tube đựng một cách nhẹ nhàng tránh gây vỡ hồng cầu. Lăn nhẹ tube đựng máu nhằm đạt hiệu quả chống đông.

- + Ghi chú các thông tin cần thiết, gồm: Tên, năm sinh, ngày giờ lấy mẫu.
- + Trong vòng 6h sau khi lấy, mẫu máu được vận chuyển đến labo. Ly tâm mẫu với tốc độ 5000 vòng/phút trong 10 phút. Tách huyết tương và chuyển vào 02 tube Eppendorf 1,5 ml đã gắn sẵn mã số quản lý mẫu.
- + Mẫu huyết tương được lưu trữ trong điều kiện nhiệt độ -80°C . Phần tế bào máu bảo quản trong ngân hàng ở nhiệt độ -80°C cho mục đích khác.
- + Hoàn thiện sổ quản lý mẫu bệnh phẩm phòng thí nghiệm theo quy định.
- *Quy trình tách chiết DNA từ huyết tương*: DNA huyết tương được tách chiết bằng bộ kit QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit, sử dụng quy trình tách máu và dịch cơ thể theo khuyến cáo của nhà sản xuất. Thể tích huyết tương được sử dụng để tách chiết DNA là 3 mL và thể tích DNA tách chiết thu được cuối cùng là 50 μL .
- + Chuẩn bị:
 - Nếu sử dụng kit lần đầu: Bổ sung Ethanol 96-100% vào các dung dịch rửa theo hướng dẫn ghi trên mỗi lọ.
 - Hòa Carrier đông khô bằng 310 μL AVE Buffer. Vortex cho đến khi dịch trong suốt đồng nhất.
 - Chuẩn bị hỗn hợp Buffer AVL và Carrier RNA theo công thức của 1 mẫu là 0,56 mL Buffer AVL và 5,6 μL carrier RNA.
- + Quy trình thực hiện:
 - Hút 560 μL hỗn hợp Buffer AVL và carrier RNA- AVE vào tube 1,5 mL. Nếu thể tích mẫu lớn hơn 140 μL , tăng lượng Buffer AVL - carrier RNA theo tỉ lệ (ví dụ 280 μL mẫu yêu cầu 1120 μL Buffer AVL-carrier RNA) và sử dụng tube có thể tích lớn hơn.
 - Cho thêm 140 μL thể tích mẫu (huyết tương, huyết thanh, dịch nuôi cấy, dịch cơ thể, nước tiểu, vv) và hỗn hợp Buffer AVL - carrier RNA. Vortex 15 giây để trộn đều
 - Ủ mẫu ở nhiệt độ phòng 10 phút.

- Ly tâm nhanh để đưa dịch dính trên nắp xuống dưới, tránh mẫu dính trên nắp.
- Thêm 560 μL ethanol 96-100% và vortex khoảng 15 giây. Sau khi vortex, ly tâm nhanh để đưa dịch dính trên nắp xuống dưới, tránh mẫu dính trên nắp ống.
- Cẩn thận chuyển 650 μL mẫu từ bước 5 tới cột lọc - ống thu. Ly tâm 14000 rpm/1 phút. Bỏ ống thu và giữ cột lọc, chuyển cột lọc lên tube ống thu mới.
- Lặp lại bước trên một lần nữa.
- Thêm 500 μL AW1 Buffer vào cột lọc. Ly tâm 14000 rpm/1 phút. Đổ bỏ dịch lọc, lắp cột trở lại ống thu.
- Thêm 500 μL AW2 Buffer vào cột lọc. Ly tâm 14000 rpm/3 phút.
- Cho cột lọc lên trên tube 1,5 mL (không cung cấp trong bộ kit) và loại bỏ ống thu (cùng dịch). Ly tâm khô 1 phút, 14000 rpm. Loại bỏ tube 1,5 mL.
- Chuyển cột lọc lên trên tube 1,5 mL (không cung cấp trong bộ kit). Cho thêm 50 μL AVE buffer. Ủ ở nhiệt độ phòng khoảng 3 phút. Ly tâm 14000 rpm/1 phút để thu sản phẩm DNA. Bỏ cột lọc và lưu mẫu ở tủ -80°C cho đến khi tiến hành bước phân tích tiếp theo nhằm hạn chế tối đa hiện tượng đứt gãy acid nucleic.

2.4.2.2 Phương pháp Bisulphite sản phẩm DNA sau tách chiết

Chuyển đổi DNA bằng sodium bisulfite được coi là tiêu chuẩn vàng trong phân tích methyl hóa DNA. Sodium bisulfite chuyển các Cytosine không methyl hóa trên DNA thành Uracil và trở thành thymine trong phản ứng PCR, trong khi Cytosine methyl hóa không bị chuyển đổi. Do đó, thông tin di truyền ngoại gen được chuyển thành thông tin trình tự và có thể được phát hiện bằng nhiều kỹ thuật phân tử. Phản ứng bisulfite bao gồm 5 bước: Biến tính DNA thành sợi đơn; Phản ứng bisulfite hóa chuyển Cytosine thành Cytosine sulphonate; Phản ứng deamin hóa chuyển Cytosine sulphonate thành Uracil

sulphonate và phản ứng loại bỏ nhóm sulphonate bằng kiềm để tạo ra Uracil. Quy trình thực hiện phản ứng chuyển đổi DNA bằng sodium bisulfite được thực hiện theo hướng dẫn của bộ kit EZ DNA Methylation-Gold™ Kit (Zymo research), áp dụng trực tiếp trên DNA tách chiết từ huyết tương.

2.4.2.3 Phương pháp semi - nested PCR phát hiện dấu ấn methyl hóa DNA gen SEPT9 dựa trên công nghệ mới với mẫu dò khóa có khả năng kéo dài (Extendable blocking probe - ExBP)

a. Thiết kế môi, mẫu dò khóa cho phản ứng realtime PCR phát hiện dấu ấn methyl hóa DNA của công nghệ mới với ExBP

Primers	Sequence	Amplification Round	Final Concentration
SEPT9_Fo	<u>CGACGTAAAACGACGGCCAGT- CAACCCAACACCCACCT</u>	First round	0,1 µM
SEPT9_Ro	<u>CACACAGGAAACAGCTATGACCATG- GATTCGTTGTTATTAGTTATTATGT</u>		0,1 µM
SEPT9/Fi	<u>TGGATTTTGTGGTTAATGT- AATAATCCCATCCAATA</u>	Second round	0,1 µM
SEPT9_Ri	CACACAGGAAACAGCTATGACCATG		0,2 µM
Probe primer	AATCCGAAATAATCCCATCCAATA	Quantification of total SEPT9 levels	0,1 µM

Hình 2.2. Thiết kế môi cho semi – nested PCR

Trình tự môi và probe được thiết kế bằng phần mềm Primer Express Software (Perkin-Elmer Corp., Foster city, CA).

Khuếch đại vòng 1: Ở vòng này, hỗn hợp phản ứng bao gồm 1× HTOne MaX qPCR green master mix (HT Biotec, Hồ Chí Minh, Việt Nam) và đoạn môi như chi tiết trong Hình 2.2. Ở đầu 5', những đoạn môi này bao gồm các trình tự được thiết kế nhân tạo (được gạch chân) để tăng cường khuếch đại các chuỗi giàu AT. Đồng thời, ở đầu 3' được thiết kế đặc biệt để gắn vào các trình tự không chứa CpG của gen *SEPT9*, tạo điều kiện thuận lợi cho sự đồng

khuếch đại của cả trình tự DNA đã methyl hóa và không methyl hóa. Khuếch đại được bắt đầu trong Máy Applied Biosystems 9800 FAST Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) với bước biến tính ở 95°C trong 15 phút, sau đó là chín chu kỳ biến tính ở 94°C trong 15 giây, ủ ở 50°C trong 60 giây và kéo dài ở 72°C trong 30 giây. Tiếp theo là 13 chu kỳ bổ sung với quá trình ủ và kéo dài ở 68°C trong 60 giây. Các sản phẩm khuếch đại sau đó được pha loãng 20 lần và 5 µl dung dịch này được sử dụng cho vòng khuếch đại thứ hai.

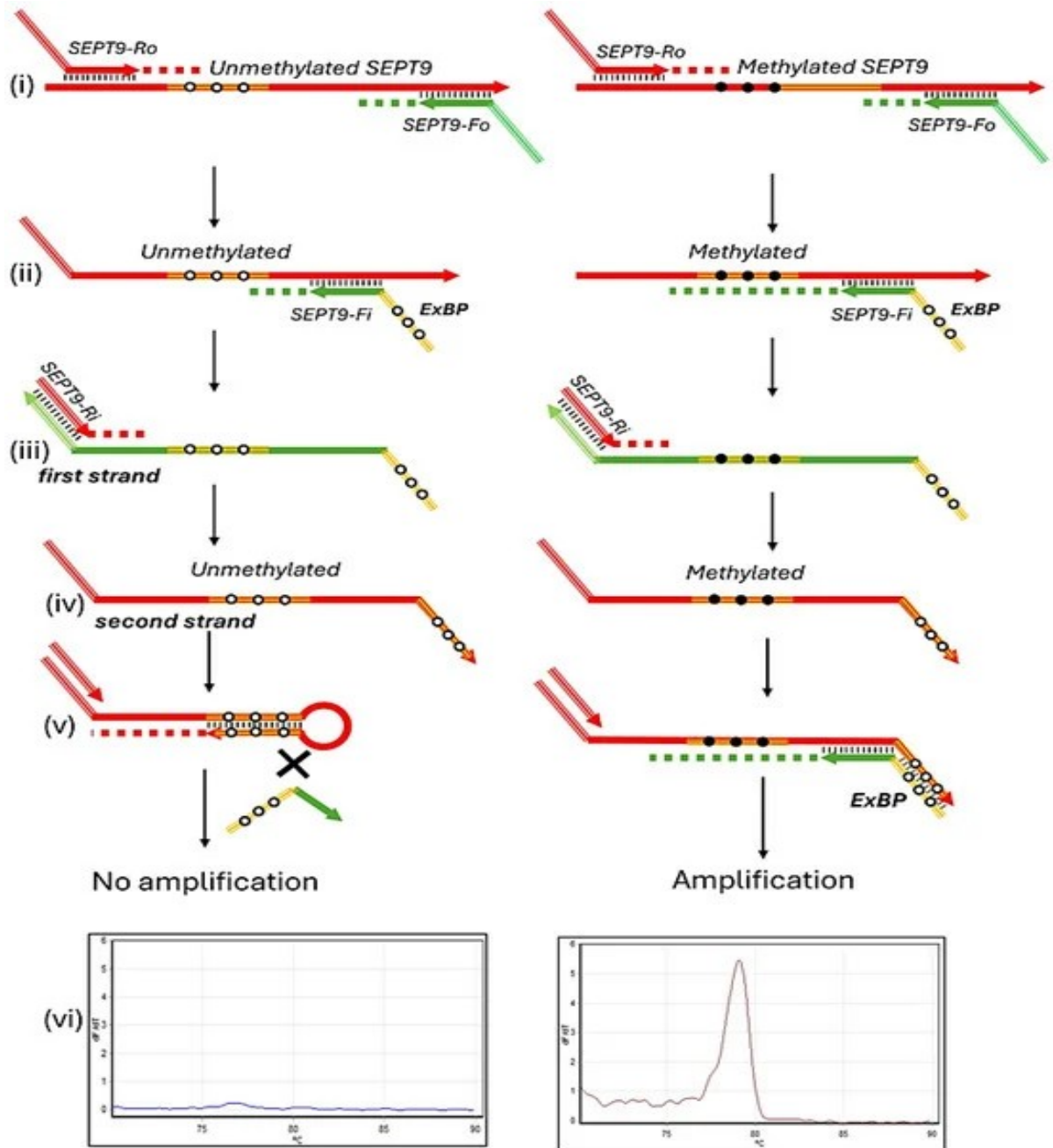
Khuếch đại vòng 2: Hỗn hợp phản ứng cho vòng 2 gồm 1× HTOne MaX qPCR Green hỗn hợp và đoạn mồi như chi tiết trong Hình 2.3. Các đoạn mồi là *SEPT9*/Fi với trình tự ExBP được gạch chân để làm giàu có chọn lọc cho DNA đã methyl hóa và *SEPT9*_Ri. Đoạn mồi ngược *SEPT9*_Ri được sử dụng ở vòng thứ hai giống hệt với đoạn mồi ngược trình tự ở vị trí 5' của đoạn mồi *SEPT9*_Ro được sử dụng ở vòng đầu tiên, do đó duy trì được tính chất nửa lồng nhau của PCR. Vòng này được thực hiện bằng máy Realtime PCR Rotor-Gene Q (Qiagen, Hilden, Đức) với sự biến tính ban đầu ở 95°C trong 15 phút, sau đó là một chu kỳ ở 94°C trong 15 giây, 56°C trong 30 giây và 72°C trong 30 giây, sau đó 45 chu kỳ ở 94°C trong 15 giây và 74°C trong 30 giây.

Hình 2.3 minh họa quy trình xét nghiệm PCR thời gian thực, được thiết kế để có độ đặc hiệu và độ nhạy cao trong việc phát hiện m*SEPT9*.

Trong Hình 2.3 (i), vòng khuếch đại PCR đầu tiên được thể hiện trong đó các đoạn mồi xuôi và ngược, *SEPT9*_Fo và *SEPT9*_Ro, khuếch đại cả trình tự đã methyl hóa và chưa methyl hóa từ DNA chuyển đổi bisulfite. Các đoạn mồi này được thiết kế đặc biệt để nhắm mục tiêu vào các vùng không có vị trí CpG, cho phép chúng liên kết phổ biến với DNA. Tiếp theo đến các Bảng (ii) đến (vi), vòng PCR thứ hai được trình bày chi tiết.

Hình 2.3 (ii) giới thiệu các đầu dò chặn có thể mở rộng (ExBP) ở đầu 5' của đoạn mồi xuôi, được thiết kế để gắn vào các vùng không có CpG, do đó

cho phép môi của nó vào cả trình tự đã methyl hóa và chưa methyl hóa. Quá trình tổng hợp 'chuỗi đầu tiên', được khởi tạo bởi đoạn môi xuôi kết hợp với ExBP, được mô tả trong hình 2.4 (iii, iv). Đoạn môi ngược, *SEPT9* _Ri, được sử dụng trong vòng PCR thứ hai giống hệt với trình tự ở đầu 5' của *SEPT9* _Ro từ vòng đầu tiên, duy trì bản chất bán lồng nhau của PCR. Đoạn môi này khởi tạo phân mở rộng trên chuỗi đầu tiên để tạo thành 'chuỗi thứ hai', như được thể hiện trong hình 2.3 (iii, iv).



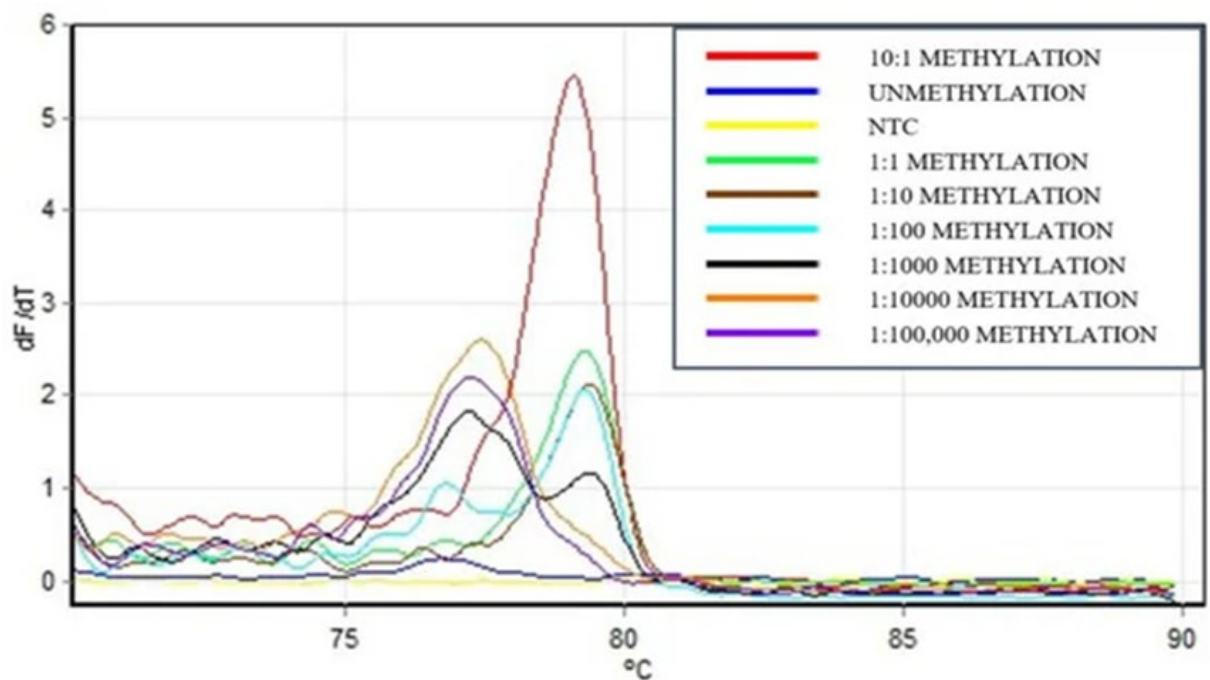
Hình 2.3. Sơ đồ biểu diễn xét nghiệm PCR thời gian thực bán lồng nhau để phát hiện mSEPT9 dựa trên phân tích nóng chảy DNA

Trong Hình 2.3 (v) làm nổi bật sự hình thành cấu trúc kép ổn định ở đầu 3' của 'chuỗi thứ hai'—nếu có nguồn gốc từ DNA chưa methyl hóa. Cấu trúc này ức chế chuỗi hoạt động như một khuôn mẫu trong các chu kỳ PCR tiếp theo, do đó tăng cường khuếch đại chọn lọc các trình tự đã methyl hóa.

Cuối cùng, trong Hình 2.3 (vi) mô tả giai đoạn sau khuếch đại, trong đó phân tích đường cong nóng chảy DNA được thực hiện để xác định các đỉnh nhiệt độ nóng chảy của các sản phẩm PCR, xác minh tính đặc hiệu của quá trình khuếch đại và trạng thái methyl hóa của DNA.

b. Phương pháp Semi - nested PCR và cách xác định kết quả xét nghiệm mSEPT9 dựa vào phân tích đường cong nóng chảy DNA

Phản ứng PCR được tiến hành trên hệ thống máy Rotor-Gene Q với thể tích phản ứng là 20 μL và 5 μL DNA sau khi xử lý bisulfite được sử dụng làm khuôn. Dữ liệu realtime PCR được thu thập bởi hệ thống Rotor-Gene Q và lưu trong máy tính sau đó sẽ được phân tích bằng phần mềm Rotor-Gene Q Software (hãng Qiagen).



Hình 2.4. Phân tích đường cong nóng chảy DNA để phát hiện mSEPT9

Hình 2.4 cho thấy đường cong nóng chảy tiêu biểu được trình bày cho một loạt các mẫu chuẩn, mỗi mẫu chứa một nồng độ không đổi của DNA SEPT9 chưa methyl hóa (10^5 bản sao/ μL) và các nồng độ khác nhau của DNA đã methyl hóa, dẫn đến tỷ lệ methyl hóa/không methyl hóa từ 10:1 xuống đến 1:100.000, cùng với các đối chứng đã methyl hóa hoàn toàn (100%) và chưa

methyl hóa (0%). Đỉnh nhiệt độ nóng chảy đặc trưng đối với SEPT9 đã methyl hóa, dao động từ 78,0 đến 78,7 độ C (được tô sáng màu xám), được quan sát thấy trong mẫu đã methyl hóa hoàn toàn và tất cả các mẫu có đột biến với tỷ lệ từ 1:10.000 trở lên. Ngược lại, đỉnh nóng chảy cụ thể này không có trong đối chứng chưa methyl hóa và các mẫu có tỷ lệ methyl hóa/không methyl hóa nhỏ hơn 1:10.000.

Trong giai đoạn khuếch đại sau của xét nghiệm PCR thời gian thực bán lồng nhau, như được trình bày chi tiết trong Hình 2.3, một phân tích đường cong nóng chảy DNA được tiến hành. Phân tích này rất quan trọng vì nó xác định các đỉnh nhiệt độ nóng chảy của các sản phẩm PCR, với đỉnh đặc trưng cho các trình tự *SEPT9* đã methyl hóa xảy ra ở 78,0–78,7 độ C. Phép đo chính xác này không chỉ xác minh tính đặc hiệu của quá trình khuếch đại mà còn xác nhận trạng thái methyl hóa của DNA, đảm bảo xét nghiệm phản ánh chính xác tình trạng methyl hóa của mẫu [82]. Mỗi mẫu được xét nghiệm ba lần và một mẫu được coi là dương tính với m*SEPT9* nếu ít nhất một trong ba lần lặp lại cho kết quả dương tính, bằng chứng là đỉnh nhiệt độ nóng chảy đặc trưng trong phân tích đường cong nóng chảy DNA.

2.5 Phương pháp phân tích xử lý số liệu

- Nhập liệu và xử lý số liệu nghiên cứu bằng phần mềm SPSS 20.0.
- $p < 0,05$ thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê

2.5.1 Phân tích các biến số định lượng

- Các giá trị trung bình được biểu diễn dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn, nếu số liệu không đạt phân phối chuẩn thì trình bày thêm trung vị.
- Kiểm định phân bố chuẩn bằng Skewness – Kurtosis test
- + Khi số liệu phân bố chuẩn: so sánh tìm sự khác biệt của 2 nhóm độc lập bằng T – test
- + Khi số liệu phân bố không chuẩn:

- So sánh tìm sự khác biệt cho số định lượng của 2 nhóm ghép cặp bằng Wilcoxon signed – rank ghép cặp
- So sánh tìm sự khác biệt cho số định lượng của 2 nhóm độc lập bằng Mann – Whitney test
- So sánh tìm sự khác biệt cho số liệu định lượng của trên 2 nhóm bằng Kruskal Wallis test

2.5.2 Phân tích các biến số định tính

- Biến số định tính được trình bày dưới dạng tần số, tỷ lệ %.
- Mối liên quan giữa các biến số định tính được khảo sát bằng phép kiểm chi bình phương. Trong trường hợp số liệu không đáp ứng điều kiện sử dụng phép kiểm định chi bình phương (tần số kỳ vọng nhỏ hơn 5), chúng tôi sử dụng phép kiểm định Fisher's exact test. Giá trị $p \leq 0,05$ được xem là có ý nghĩa thống kê.
- So sánh ghép cặp 2 nhóm biến định tính so sánh sự khác biệt trước và sau điều trị sử dụng phép kiểm định Mc Nemar test.

2.5.3 Đánh giá giá trị của một phương pháp chẩn đoán

- Vẽ đường cong ROC (Receiver Operating Characteristic)

Khi chạy chương trình SPSS, đường cong ROC được vẽ và AUC được tính tự động. Đường cong ROC là một đồ thị, mỗi điểm trên đường cong là tọa độ tương ứng với tần suất dương tính thật (độ nhạy) trên trục tung và tần suất dương tính giả (độ đặc hiệu) trên trục hoành.

Diện tích dưới đường cong (AUC – Area Under the Curve) là toàn bộ diện tích phía dưới được giới hạn phía trên bằng đường cong ROC. AUC đại diện cho độ chính xác của phương pháp chẩn đoán, AUC = 1 là phương pháp chẩn đoán rất tốt và bằng 0,5 là phương pháp đó không có giá trị. Phương pháp chẩn đoán có ý nghĩa khi AUC > 0,6. Mức ý nghĩa của chỉ số AUC như sau:

- AUC = 0,90 – 1,00: Rất tốt
- AUC = 0,80 – 0,90: Tốt

- $AUC = 0,70 - 0,80$: Khá tốt
- $AUC = 0,60 - 0,70$: Ít có giá trị
- $AUC = 0,50 - 0,60$: Không có giá trị

- Đánh giá giá trị của phương pháp chẩn đoán bằng các thông số: Dựa vào kết quả mẫu nhóm chứng và nhóm bệnh tính độ nhạy (Se – Sensitivity), độ đặc hiệu (Sp – Specificity), giá trị tiên đoán dương (PPV – Positive Predictive Value), giá trị tiên đoán âm (NPV – Negative Predictive Value) của xét nghiệm mSEPT9 trong huyết tương với độ tin cậy 95% bằng cách tính như sau:

Bảng 2.1. Cách tính Se, Sp, PPV, NPV

Đối tượng NC	Bệnh	Không bệnh	Tổng số
Kết quả			
Dương tính	a	b	a + b
Âm tính	c	d	c + d
Tổng số	a + c	b + d	a + b + c + d

a: dương tính thật; b: dương tính giả; c: âm tính giả; d: âm tính thật.

* Tính toán các giá trị chẩn đoán dựa theo công thức sau:

- $Se = a/(a+c)$ (số dương tính trong nhóm có bệnh)
- $Sp = d/(d+b)$ (số âm tính trong nhóm không bệnh)
- $PPV = a/(a+b)$ (số bị bệnh trong nhóm được chẩn đoán dương tính)
- $NPV = d/(d+c)$ (số không bị bệnh trong nhóm được chẩn đoán âm tính)

tính)

2.5.4 Phân tích thời gian sống còn và các yếu tố ảnh hưởng

- Phân tích thời gian sống còn dựa vào thời gian sống bệnh không tiến triển và thời gian sống còn toàn bộ.

+ Ảnh hưởng của các yếu tố đối với PFS và OS được phân tích bằng đường cong Kaplan–Meier và kiểm định Wilcoxon.

+ Tỷ lệ nguy cơ (Hazard Ratio - HR) và khoảng tin cậy 95% đối với các ca có tiến triển hoặc tử vong được ước tính bằng phân tích hồi quy Cox. Các mô hình điều chỉnh đa biến bao gồm các yếu tố tiên lượng tiềm năng được xác định trước, chẳng hạn như tuổi khi chẩn đoán, giới tính, vị trí khối u và giai đoạn TNM. Giá trị p hai phía $< 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê.

- Xây dựng mô hình phân tích đa biến hồi quy Cox để phân tích mối quan hệ giữa các biến nghiên cứu và thời gian sống bệnh không tiến triển, hoặc thời gian sống còn toàn bộ.

2.6 Đạo đức nghiên cứu

- Nghiên cứu đã được thông qua Hội đồng đạo đức của Bệnh viện Quân Y 103 (Quyết định số 98/CNChT – HĐĐĐ ngày 23 tháng 07 năm 2020) và được chấp thuận nghiên cứu tại Bệnh viện K cơ sở Tân Triều và tại Bệnh viện Quân Y 103.

- Nghiên cứu không gây khó khăn cho bệnh nhân, không ảnh hưởng tới chỉ định điều trị hay kết quả điều trị. Tất cả các thông tin của bệnh nhân hoàn toàn được giữ kín và chỉ phục vụ cho nghiên cứu chứ không nhằm một mục đích nào khác.

- Số liệu thu thập đầy đủ, khách quan, trung thực, kết quả đảm bảo tính khoa học, tin cậy, chính xác.

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được tiến hành trên 152 BNUTĐTT, 92 người khỏe mạnh, toàn bộ đối tượng nghiên cứu đều được xét nghiệm mSEPT9 huyết tương trước điều trị, nhóm 50 BNUTĐTT giai đoạn III được xét nghiệm mSEPT9 huyết tương sau phẫu thuật triệt căn 7 ngày và được theo dõi trong thời gian nghiên cứu từ 1/2021 – 12/2024 tại Bệnh viện Quân Y 103, Bệnh viện K cơ sở Tân Triều, Phòng Công nghệ Gen và Di truyền, Viện Nghiên cứu y dược học Quân sự, Học viện Quân Y. Kết quả thu được như sau:

3.1 Một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của đối tượng nghiên cứu

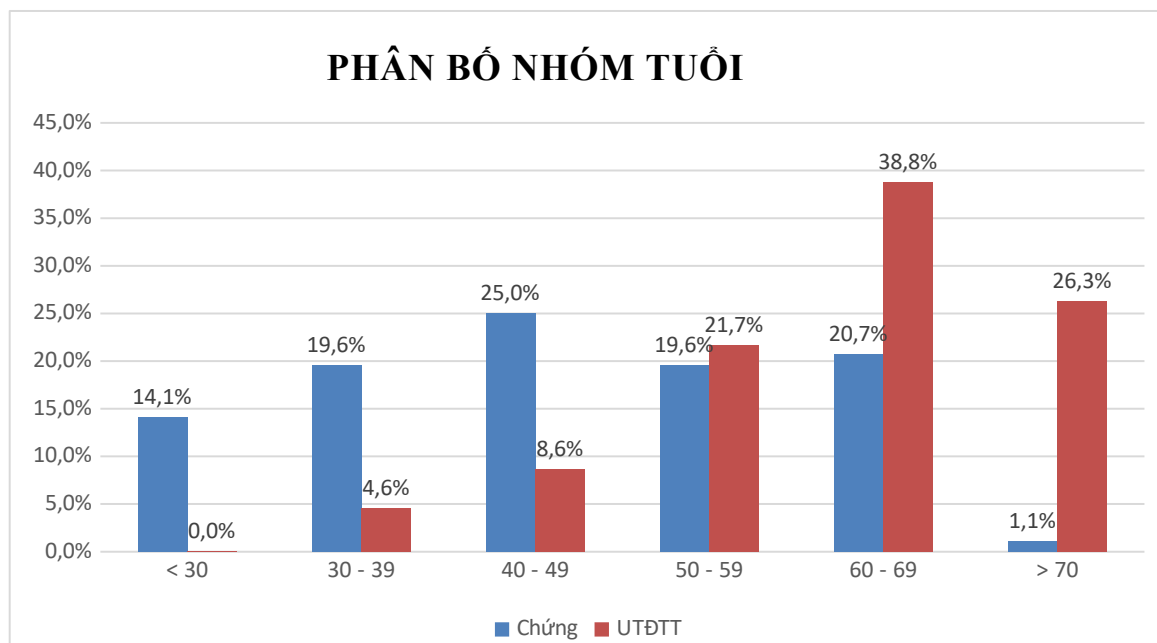
3.1.1. Phân bố theo tuổi và giới tính

Bảng 3.1. Tuổi của đối tượng nghiên cứu

Nhóm nghiên cứu	Giai đoạn	n	Trung vị	Q1 – Q3	<i>p</i>
Nhóm UTĐTT	1	30	65,00	57,75 – 72	0,765
	2	39	63,00	58,00 – 72,00	
	3	50	63,00	56,00 - 71,50	
	4	33	63,00	55,00 – 66,50	
	Chung	152	63,00	57, 00 – 70,75	0,605
Nhóm chứng		92	44,50	34,25 – 58,50	
Chung		244	59,0	46,00 – 66,75	

Kiểm định Kruskal Wallis

Theo kết quả trên, tuổi trung vị của toàn bộ các đối tượng nghiên cứu là 59,0 tuổi. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tuổi giữa các giai đoạn khác nhau trong nhóm BNUTĐTT, cũng không nhận thấy sự khác biệt giữa nhóm UTĐTT và nhóm chứng ($p > 0,05$).



Nhóm NC	< 30	30 - 39	40 - 49	50 - 59	60 - 69	>70
Chứng	14,1%	19,6%	25%	19,6%	20,7%	1,1%
UTĐTT	0,0 %	4,6%	8,6%	21,7%	38,8%	26,3%

Biểu đồ 3.1. Đặc điểm phân bố các nhóm tuổi

Theo kết quả bảng trên cho thấy, với BNUTĐTT, nhóm BN từ 60 - 69 tuổi chiếm tỉ lệ cao nhất (38,8%); sau đó là nhóm BN ≥ 70 tuổi, chiếm đến 26,3%. Trong khi đó, ở nhóm đối chứng, nhóm người từ 40-49 tuổi chiếm tỉ lệ cao nhất 25%, sau đó là nhóm từ 60 - 69 tuổi (20,7%). Không có sự khác biệt giữa nhóm UTĐTT và nhóm chứng khi chia theo các phân nhóm theo nhóm tuổi ($p > 0,05$)

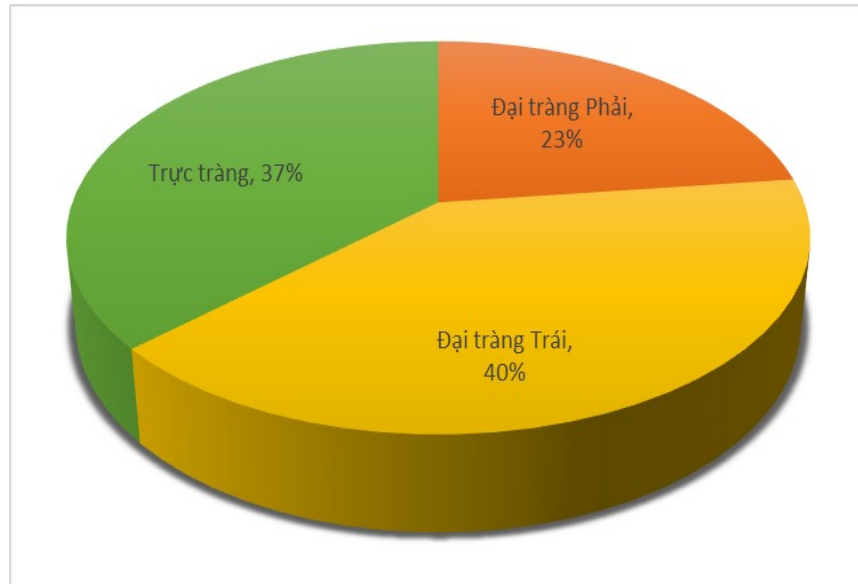
Bảng 3.2. Đặc điểm về giới tính ở các nhóm nghiên cứu

Nhóm nghiên cứu	n	Nam n (%)	Nữ n (%)	p
Nhóm UTĐTT	152	78 (51,3)	74 (48,7)	0,176
Nhóm chứng	92	45 (48,9)	47 (51,1)	
Tổng	244	123(50,4)	121(49,6)	

Kiểm định Chi - Square

Theo kết quả bảng trên cho thấy, trong nhóm BNUTĐTT, có 78/152 nam giới (chiếm 51,3%). Không có sự khác biệt về tỉ lệ giới tính giữa các nhóm BNUTĐTT và nhóm đối chứng ($p = 0,176 > 0,05$).

3.1.2. Phân bố theo vị trí ung thư đại trực tràng



Biểu đồ 3.2. Vị trí ung thư đại trực tràng

Ung thư đại tràng trái có tỷ lệ cao nhất là 40,0% (61/152), ung thư trực tràng đứng thứ hai là 37% (56/152), ung thư đại tràng phải thấp nhất là 23% (35/152).

3.1.3. Thời gian có triệu chứng đến khi chẩn đoán xác định

Bảng 3.3. Thời gian có triệu chứng đến khi chẩn đoán xác định

Thời gian (tháng)	Đại tràng phải	Đại tràng trái	Trực tràng	Chung	<i>p</i>
Trung vị	1	1	1	1	0,68
Q1 – Q3	1-3	1-2	1-3	1-3	

Kiểm định Kruskal – Wallis

Thời gian có triệu chứng đến khi chẩn đoán xác định trung bình là 2 tháng; sự khác biệt về thời gian có triệu chứng đến khi chẩn đoán xác

định giữa ung thư đại tràng phải, đại tràng trái và trực tràng không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$)

3.1.4. Đặc điểm lâm sàng của nhóm BNUTĐTT

Bảng 3.4. Triệu chứng cơ năng và triệu chứng thực thể

Triệu chứng lâm sàng		Vị trí khối u n (%)			Tổng n (%)	p
		Đại tràng phải	Đại tràng trái	Trực tràng		
Tiền sử BMT	Không	23 (25,27)	33 (36,26)	35 (38,46)	91 (59,87)	0,47*
	Có	12 (19,67)	28 (45,90)	21 (34,43)	61 (40,13)	
Đau bụng	Không	2 (6,25)	8 (25,00)	22 (68,75)	32 (21,05)	0,0001**
	Có	33 (27,50)	53 (44,17)	34 (28,33)	120 (78,95)	
Phân nhầy máu	Không	28 (41,79)	30 (44,78)	9 (13,43)	67 (44,08)	< 0,0001*
	Có	7 (8,24)	31 (36,47)	47 (55,29)	85 (55,92)	
Rối loạn tiêu hóa	Không	5 (35,71)	4 (28,57)	5 (35,71)	14 (9,21)	0,001**
	Táo bón	6 (13,33)	12 (26,67)	27 (60,00)	45 (29,61)	
	Phân lỏng	13 (36,11)	18 (50,00)	5 (13,89)	36 (23,68)	
	Mót rặn	0 (0,00)	0 (0,00)	3 (100,00)	3 (1,97)	
	Phân dẹt	0 (0,00)	4 (66,67)	2 (33,33)	6 (3,95)	
	Táo lỏng xen kẽ	11 (22,92)	23 (47,92)	14 (29,17)	48 (31,58)	
Gầy sút cân	Không	16 (25,81)	26 (41,94)	20 (32,26)	62 (40,79)	0,32*
	Có	19 (21,11)	35 (38,89)	36 (40,00)	90 (59,21)	
Bán / tắc ruột	Không	25 (21,74)	42 (36,52)	48 (41,74)	115 (75,66)	0,09**
	Bán tắc ruột	9 (25,00)	19 (52,78)	8 (22,22)	36 (23,68)	
	Tắc ruột	1 (2,86)	0 (0,00)	0 (0,00)	1 (0,65)	

* Kiểm định Chi-square** Kiểm định Fisher exact

Dấu hiệu đau bụng phổ biến nhất là 78,95% (120/152); tỷ lệ đau bụng ở ung thư đại tràng trái là 44,17% (53/120) cao hơn đại tràng phải 27,5% (33/120) và trực tràng là 28,33% (34/120), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$). Phân có máu đứng thứ hai là 55,92% (85/120), phân có máu ở ung thư trực tràng là 55,29% (47/85) cao hơn đại tràng trái là 36,47% (31/85) và đại tràng phải là 8,24% (7/85), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Sự khác biệt về tỷ lệ BN có triệu chứng phân lỏng, thiếu máu, sụt cân và phân táo

giữa ung thư đại tràng phải, đại tràng trái và trực tràng không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

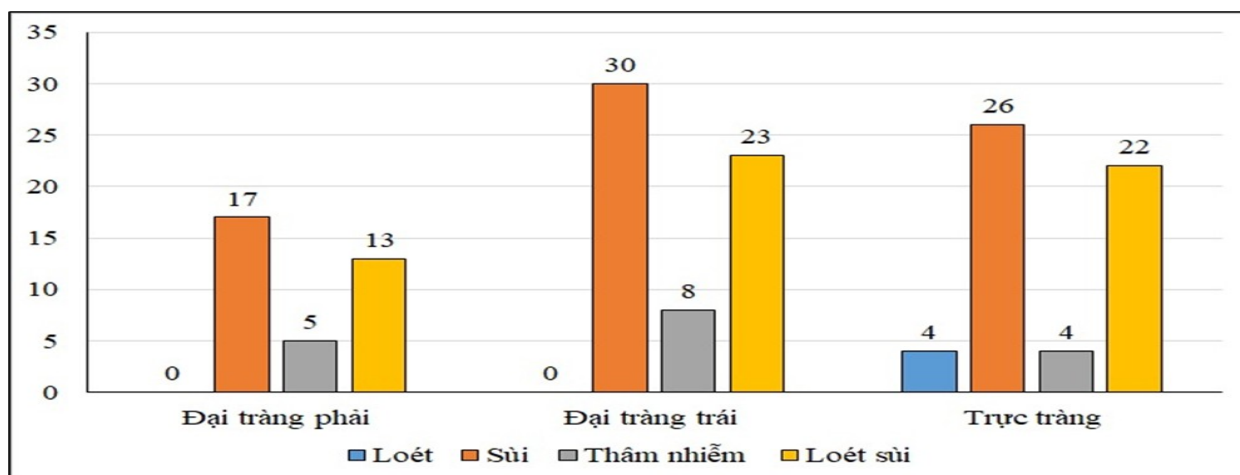
3.1.5. Đặc điểm cận lâm sàng của nhóm BNUTĐTT

Bảng 3.5. Kích thước u theo chu vi đại trực tràng trên nội soi

Kích thước u trên nội soi	Vị trí khối u n (%)			Tổng (n=152)	p
	Đại tràng phải	Đại tràng trái	Trực tràng		
$\leq 1/4$ chu vi	2 (22,22)	3 (33,33)	4 (44,45)	9 (5,92)	0,37
$>1/4 - 1/2$ chu vi	4 (16,00)	8 (32,00)	13 (52,00)	25 (16,45)	
$>1/2 - 3/4$ chu vi	11 (19,30)	23 (40,35)	23 (40,35)	57 (37,50)	
$>3/4$ chu vi	18 (29,51)	27 (44,26)	16 (26,23)	61 (40,13)	
Tổng	35 (23,03)	61 (40,13)	56 (36,84)	152 (100,00)	

Kiểm định Fisher exact

Theo kết quả bảng trên cho thấy, nhóm BN có kích thước khối u chiếm $>3/4$ chu vi đại trực tràng chiếm tỉ lệ lớn nhất 40,13% (61/152). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về kích thước khối u ở các vị trí khác nhau như đại tràng trái, đại tràng phải và trực tràng ($p > 0,05$).



Biểu đồ 3.3. Hình ảnh dạng tổn thương khối u trên nội soi trước điều trị

Theo biểu đồ trên cho thấy, dạng tổn thương chủ yếu là dạng “Sùi” (73/152, chiếm 48,03%); cao nhất tại vị trí đại tràng trái (30/72 bệnh nhân, chiếm 41,1 %). Trong khi đó, dạng tổn thương “Loét” chiếm tỉ lệ thấp nhất (4/152, chiếm 2,63 %), chỉ có ở vị trí trực tràng. Sự khác biệt về tỷ lệ dạng

tổn thương giữa ung thư đại tràng phải, đại tràng trái và trực tràng không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.6. Đặc điểm nồng độ CEA huyết tương trước điều trị, phân nhóm theo giai đoạn khối u

Giai đoạn UTĐTT	n	Nồng độ CEA (ng/ml)			Nhóm CEA (n%)	
		Min	Trung vị	Max	CEA ≤ 5	CEA > 5
I	30	0,52	1,89	23,4	27(90)	3(10)
II	39	0,94	3,39	104,43	24(61,5)	15(38,5)
III	50	1,00	4,08	49,97	31(62)	19(38)
IV	33	1,29	43,37	1500	8(24,2)	25(75,8)
		$p^* = 0,0001$			$p^{**} = 0,000$	

* Kiểm định Kruskal – Wallis

Kiểm định Chi-square**

Theo kết quả bảng trên cho thấy, nồng độ CEA huyết tương cao nhất ở nhóm bệnh nhân giai đoạn 4. Trung vị nồng độ CEA bệnh nhân ung thư giai đoạn 4 là 43,37 ng/ml, thấp nhất ở giai đoạn sớm là giai đoạn 1 với 1,89 ng/ml và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,0001$).

3.1.6 Đặc điểm điều trị và đánh giá sau điều trị

Bảng 3.7. Các phương pháp điều trị cho nhóm bệnh nhân nghiên cứu

Phương pháp điều trị	Vị trí khối u n (%)			Tổng	p
	Đại tràng phải	Đại tràng trái	Trực tràng		
Phẫu thuật triệt căn	30 (85,7)	59 (96,7)	31 (55,4)	120(78,9)	< 0,0001
Tân bổ trợ - Phẫu thuật	0 (0)	1 (1,6)	22 (39,3)	23 (15,1)	
Phẫu thuật triệu chứng	5 (14,3)	1 (1,6)	9 (5,9)	9 (5,9)	
Tổng	35 (100)	61(100)	56(100)	152(100)	

Kiểm định Fisher's Exact Test

Theo bảng trên cho thấy, phẫu thuật triệt căn là phương pháp điều trị chủ yếu, 120/152 BNUTĐTT (chiếm 78,9%), tiếp sau tân bổ trợ – phẫu thuật (15,1%). Trong đó, nhóm BN có vị trí u tại đại tràng trái có tỉ lệ phẫu thuật triệt căn cao nhất, 59/152 BN (chiếm 38,81 %). Sự khác biệt giữa phương

pháp điều trị theo vị trí khối u cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,0001$.

Bảng 3.8 Đặc điểm u đại thể trên bệnh phẩm phẫu thuật

Chiều dài u	Đại tràng phải n (%)	Đại tràng trái n (%)	Trực tràng n (%)	Tổng (n=152)	p
< 5cm	14 (40)	37(60,7)	42(75)	93(61,2)	0,004*
≥ 5 cm	21(60)	24(39,3)	14(25)	59(38,8)	
Min	1	1	0,7	0,7	0,000 1**
Max	10	15	8	15	
Median	5,5	4,5	3	4	
Đường kính u					p
< 4 cm	16(45,7)	35(57,4)	44(78,6)	95(62,5)	0,004*
≥ 4 cm	19(54,3)	26(42,6)	12(21,4)	57(37,5)	
Min	1	1	0,4	0,4	0,000 1**
Max	7	8	6	8	
Median	4	3,5	2,65	3	

* Kiểm định Chi-square **Kiểm định Kruskal – Wallis

Từ bảng trên thấy đặc điểm về chiều dài và đường kính khối u của đại tràng phải có xu hướng kích thước lớn hơn khối u bên đại tràng trái và trực tràng. Sự khác biệt về kích thước khối u về chiều dài với điểm cắt là 5cm, đường kính là 4 cm, giữa các phân nhóm về vị trí khối u có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Bảng 3.9. Đặc điểm thể mô bệnh học khối u trên bệnh phẩm phẫu thuật

Thể mô bệnh học	Đại tràng phải n (%)	Đại tràng trái n (%)	Trực tràng n (%)	Tổng n (%)	<i>p</i>
UTBM tuyến	24(68,6)	50(82)	52(92,9)	126(82,9)	0,013
UTBMT chế nhày	4(11,4)	5(8,2)	0(0)	9(5,9)	
UTBM tế bào nhẵn	0(0)	0(0)	1(1,8)	1(0,7)	
UTBM tuyến có thành phần chế nhày/nhẵn	6(17,1)	6(9,8)	3(5,4)	15(9,9)	
UTBM thể tuỷ	1(2,9)	0(0)	0(0)	1(0,7)	
Độ biệt hoá					<i>p</i>
Độ cao	0(0)	1(1,6)	4(7,1)	5(3,3)	0,016
Độ vừa	27(77,1)	51(83,6)	50(89,3)	128(84,2)	
Độ thấp	8(22,9)	9(14,8)	2(3,6)	19(12,5)	

Kiểm định Fisher's Exact

Nhóm bệnh nhân nghiên cứu có đặc điểm giải phẫu bệnh là ung thư biểu mô tuyến chiếm đa số (82,9%) , ung thư thể tuỷ chỉ có 1 bệnh nhân duy nhất là ung thư đại tràng phải chiếm tỉ lệ 0,7%, còn lại là ung thư biểu mô tuyến chế nhày, nhẵn. Độ mô học độ vừa có tỷ lệ phổ biến nhất chiếm 84,2%, chỉ có 19 BN có độ biệt hoá kém chiếm 12,5%. Sự khác biệt về thể giải phẫu bệnh và độ mô học giữa các phân nhóm theo vị trí khối u có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Bảng 3.10. Phân loại giai đoạn bệnh sau phẫu thuật theo phân loại yp TNM, p TNM (AJCC 2018)

Giai đoạn TNM	Đại tràng phải n (%)	Đại tràng trái n (%)	Trực tràng n (%)	Tổng n (%)	<i>p</i>
Khối u (T)					
T1	1(2,9)	6(9,8)	4(7,1)	11(7,2)	0,002
T2	4(11,4)	9(14,8)	18(32,1)	31(20,4)	
T3	10(28,6)	18(29,5)	24(42,9)	52(34,2)	
T4	20(57,1)	28(45,9)	10(17,9)	58(38,2)	
Hạch (N)					
N0	19(54,3)	25(41,0)	29(51,8)	73(48,0)	0,643
N1	9(25,7)	23(37,7)	18(32,1)	50(32,9)	
N2	7(20,0)	13(21,3)	9(16,1)	29(19,1)	
Di căn xa (M)					
M0	25(71,4)	46(75,4)	48(85,7)	119(78,3)	0,214
M1	10(28,6)	15(24,6)	8(14,3)	33(21,7)	
Giai đoạn bệnh					
I	5(14,3)	9(14,8)	16(28,6)	30(19,7)	0,188
II	12(34,3)	15(24,6)	12(21,4)	39(25,7)	
III	8(22,9)	22(36,1)	20(35,7)	50(32,9)	
IV	10(28,6)	15(24,6)	8(14,3)	33(21,7)	

Kiểm định Chi-square

Nhóm BN phân bố khá đều ở cả 4 giai đoạn bệnh, trong đó giai đoạn III chiếm tỷ lệ cao nhất 32,9%; giai đoạn khối u T1 chỉ chiếm 7,2% trong khi giai đoạn T4 chiếm 38,2%; giai đoạn hạch có 48% giai đoạn N0, 32,9% giai đoạn N1 và chiếm tỉ lệ thấp hơn là giai đoạn N2 chiếm 19,1%. Có 21,7% di căn xa tương ứng 21,7% bệnh nhân giai đoạn 4. Sự phân bố về giai đoạn khối u có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê theo vị trí khối u với $p = 0,002$.

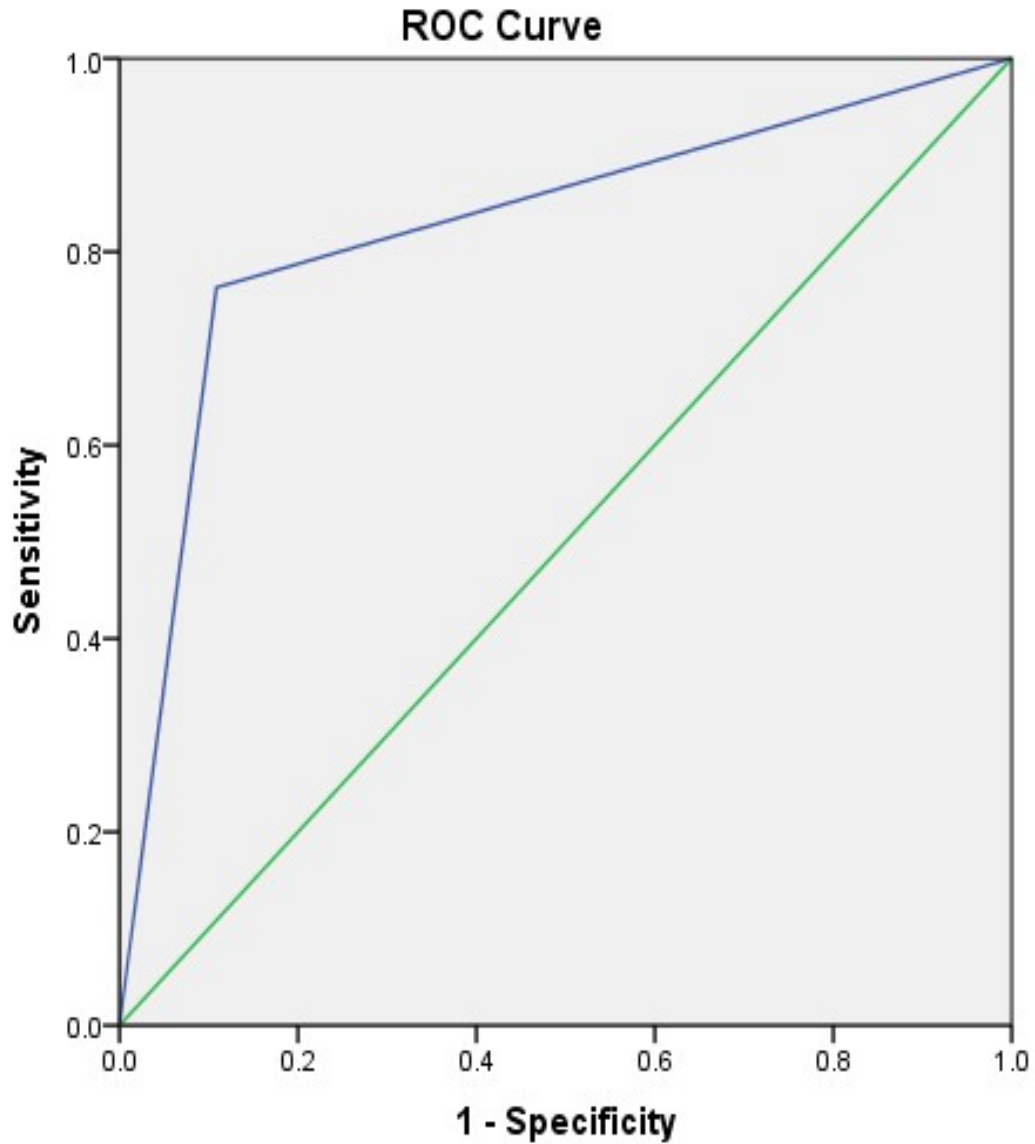
3.2 Xác định giá trị chẩn đoán và mối liên quan của mSEPT9 huyết tương với đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng bệnh nhân ung thư đại trực tràng bằng kỹ thuật PCR với mẫu dò khoá kéo dài chuỗi

3.2.1 Giá trị chẩn đoán của xét nghiệm mSEPT9 huyết tương trong chẩn đoán ung thư đại trực tràng

Bảng 3.11. Giá trị độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị chẩn đoán dương, giá trị chẩn đoán âm của mSEPT9

mSEPT9 huyết tương	Nhóm		Tổng
	UTĐTT	Không UTĐTT	
Âm tính	36	82	118
Dương tính	116	10	126
Tổng	152	92	244
Giá trị xét nghiệm			CI (95%)
Độ nhạy (%)	76,31		68,75-82,82
Độ đặc hiệu (%)	89,13		80,91-94,66
PPV (%)	92,06		86,52-95,44
NPV (%)	69,49		62,92-75,35

Kết quả phân tích xét nghiệm đạt được độ nhạy 76,3% khoảng tin cậy 95%: 68,75-82,82, độ đặc hiệu 89,1% với khoảng tin cậy 95%: 80,91-94,66. Giá trị tiên đoán dương tính (PPV) đạt 92,06% với CI: 86,52-95,44; giá trị tiên đoán âm tính (NPV) đạt 69,49% với CI: 62,92-75,35. Giá trị tiên đoán dương tính (PPV) cao gợi ý khả năng khi xét nghiệm dương tính có nguy cơ mắc bệnh cao.



Hình 3.1. Giá trị chẩn đoán mSEPT9 trong chẩn đoán ung thư đại trực tràng

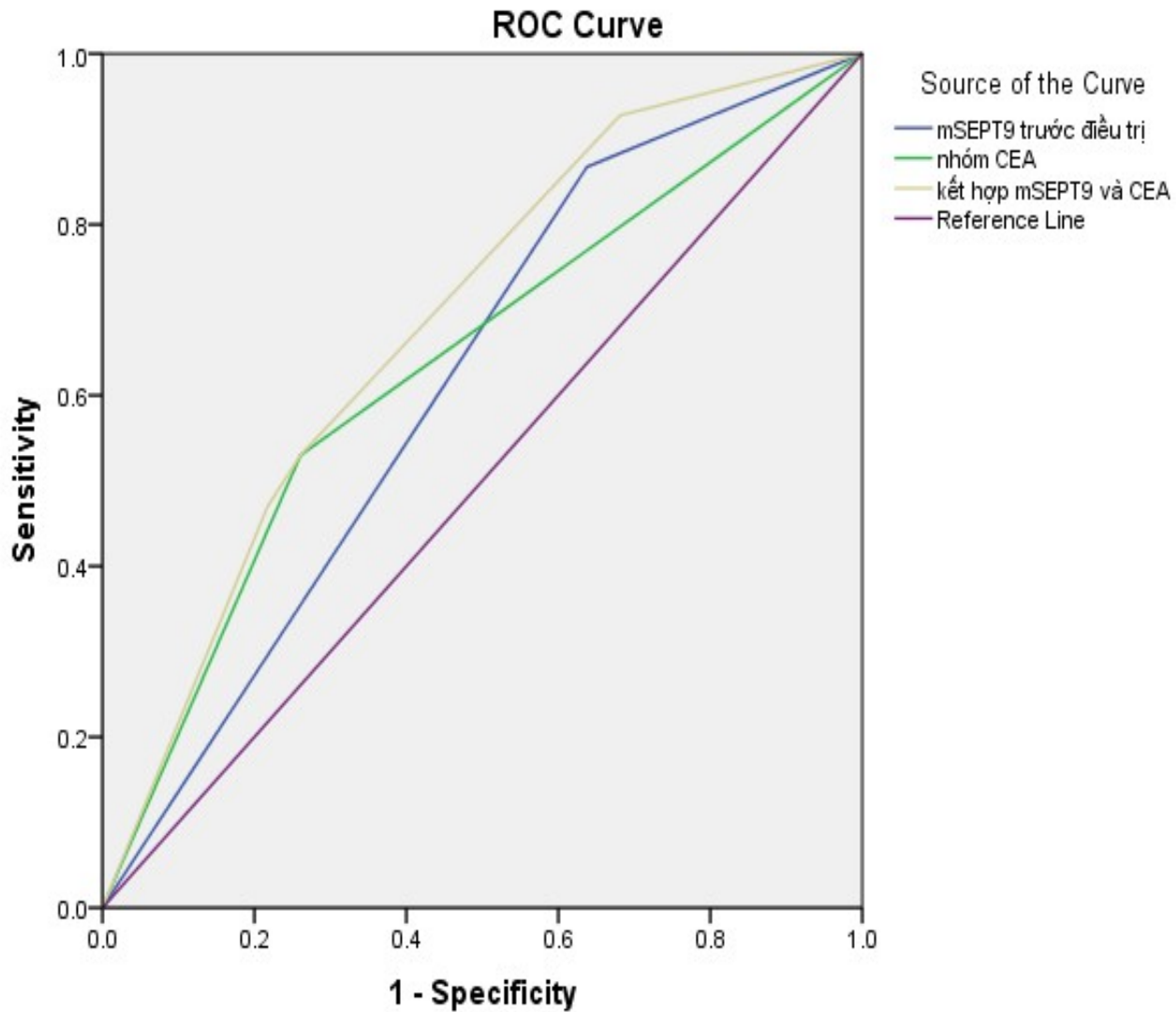
Kết quả phân tích đường cong ROC cho thấy, mSEPT9 có giá trị chẩn đoán UTĐTT, phân biệt với nhóm người khoẻ mạnh ở mức độ tốt với diện tích dưới đường cong AUC đạt 0,827 với $p < 0,0001$, khoảng tin cậy 95% (77,3% - 88,2%).

Bảng 3.12. Mức độ liên quan giữa tình trạng mSEPT9 với tình trạng UTĐTT phân biệt với người khỏe mạnh

Nhóm đối tượng		Nhóm		Tổng
		UTĐTT n (%)	Không UTĐTT n (%)	
mSEPT9	Dương tính	116 (92,1)	10 (7,9)	126 (100)
	Âm tính	36 (30,5)	82 (69,5)	116 (100)
OR		26,42		
<i>p</i>		0,0001		
CI 95%		12,41-56,24		

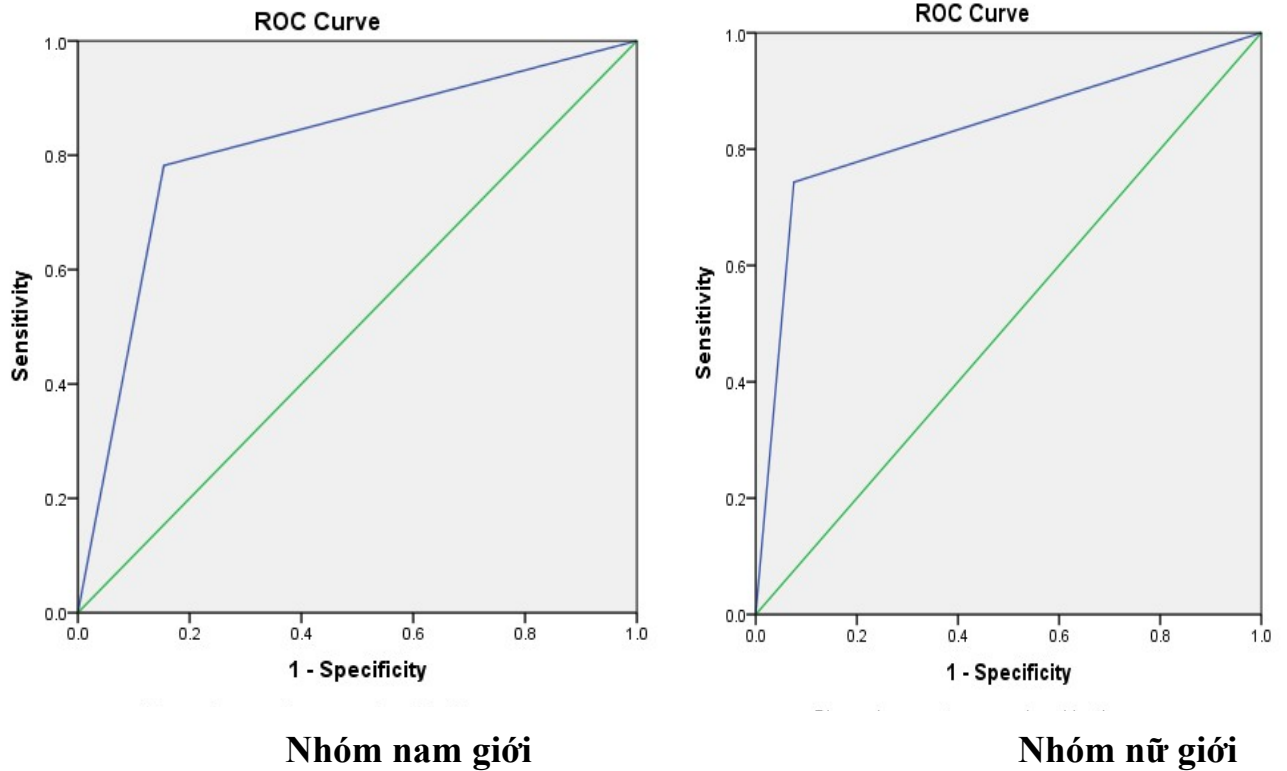
Theo bảng trên cho thấy, trong số BNUTĐTT có 92,1% bệnh nhân có mSEPT9 dương tính trong khi tỉ lệ này chỉ có 7,9% ở người không có bằng chứng về khối u ác tính ở đại trực tràng.

Những bệnh nhân phát hiện có tình trạng mSEPT9 dương tính có nguy cơ bị UTĐTT cao gấp 26,42 lần so với nhóm không phát hiện có tình trạng mSEPT9 âm tính (OR = 26,42, $p < 0,05$).



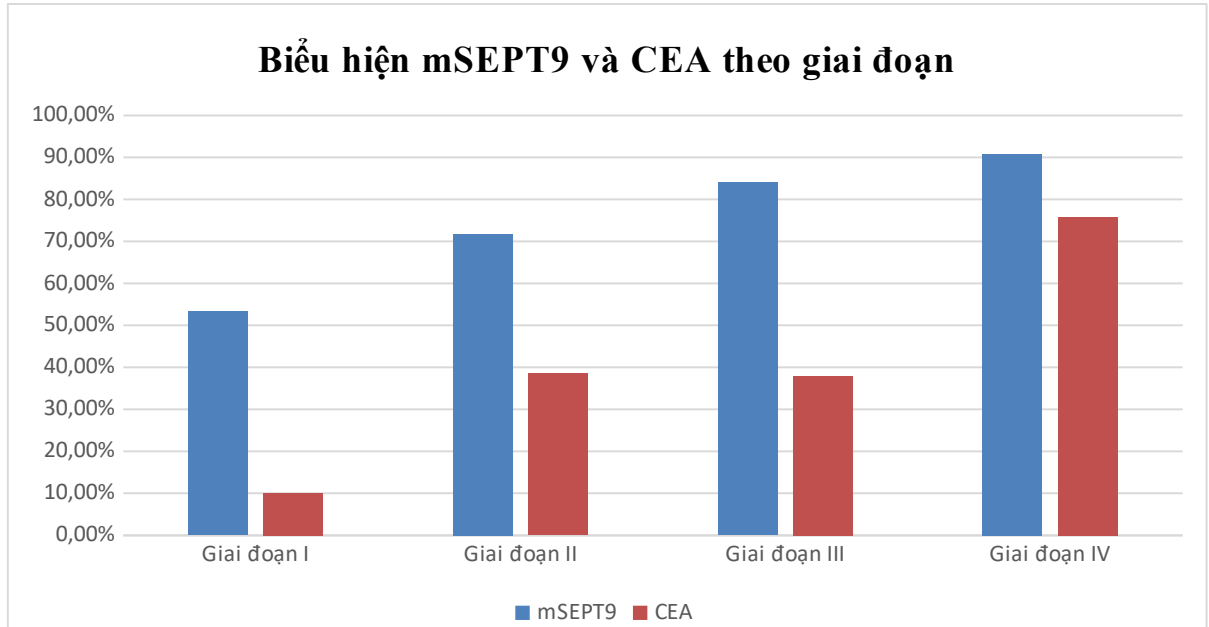
Hình 3.2. Giá trị chẩn đoán mSEPT9 trước điều trị, và giá trị chẩn đoán mSEPT9 kết hợp CEA trước điều trị trong chẩn đoán UTĐTT giai đoạn sớm và giai đoạn muộn

Kết quả phân tích đường cong ROC cho thấy mSEPT9 trước điều trị có giá trị chẩn đoán UTĐTT phân biệt giữa 2 nhóm ung thư giai đoạn sớm (giai đoạn 1 và 2) với nhóm giai đoạn muộn (giai đoạn 3 và 4) ở mức độ trung bình ($AUC = 0,615$, $p < 0,05$); khi kết hợp với CEA trước điều trị, giá trị chẩn đoán có cải thiện hơn nhưng vẫn ở mức độ trung bình với $AUC = 0,686$ với $p < 0.05$. Độ nhạy đạt 86,7% ; độ đặc hiệu đạt 36,2%.



Hình 3.3. Giá trị chẩn đoán của mSEPT9 trong chẩn đoán UTĐTT so với người khỏe mạnh theo giới tính

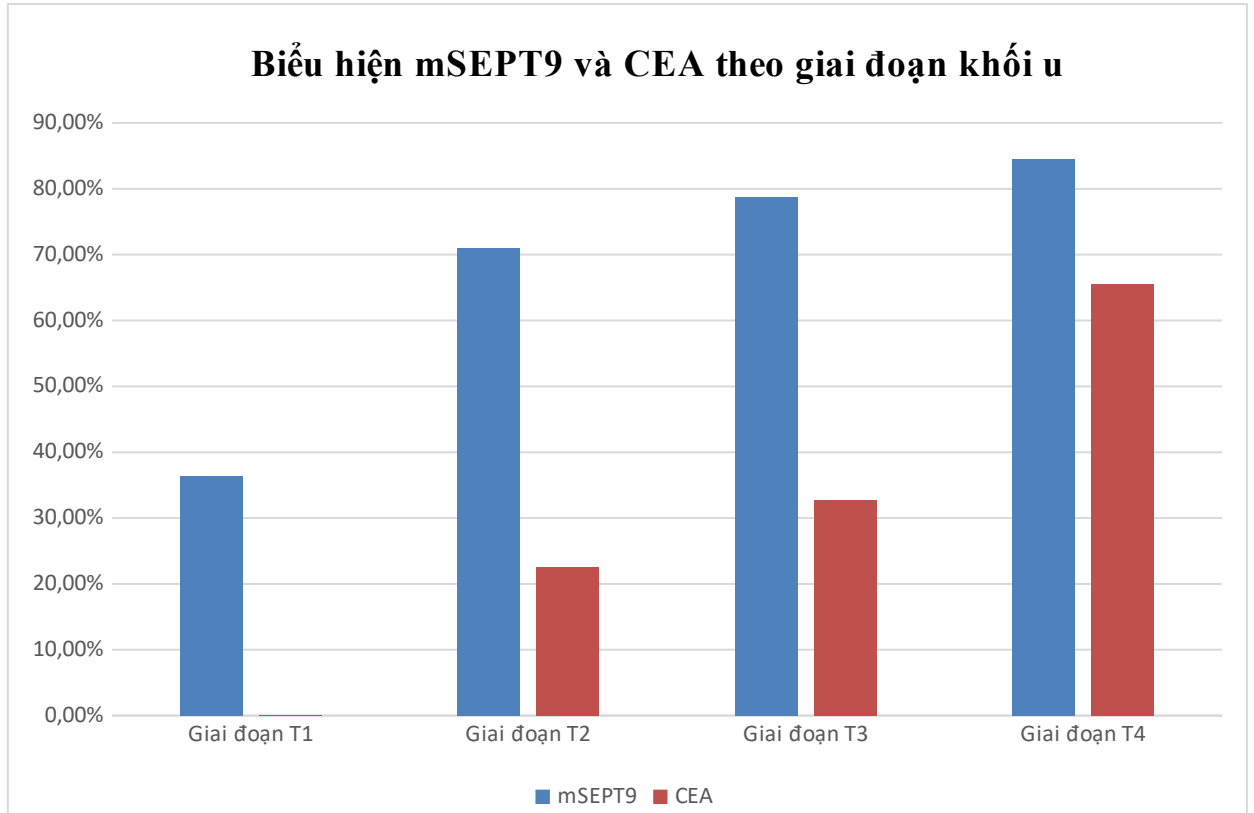
Kết quả phân tích đường cong ROC cho thấy, trong số 117 người nhóm nam giới (ung thư đại trực tràng: 78 người, người khỏe mạnh: 39 người), tình trạng mSEPT9 dương tính có giá trị chẩn đoán UTĐTT phân biệt với người khỏe mạnh ở nhóm nam giới ở mức tốt với $AUC = 0,814$, $p < 0,001$, CI 95% 72,9 – 89,9. Trong số 127 người nữ giới (ung thư đại trực tràng: 74 người, người khỏe mạnh: 53 người), tình trạng mSEPT9 dương tính có giá trị chẩn đoán UTĐTT phân biệt với người khỏe mạnh ở nhóm nữ giới với mức tốt với $AUC = 0,834$, $p < 0,0001$, CI 95%: 76,1 – 90,7.



Giai đoạn	I	II	III	IV	<i>p</i>
mSEPT9	16/30(53,3%)	28/39(71,8%)	42/50(84,0%)	30/33(90,9%)	0,03
CEA	3/30(10,0%)	15/39(38,5%)	19/50(38,0%)	25/33(75,8%)	0,00

Biểu đồ 3.4. Độ nhạy mSEPT9 và CEA theo giai đoạn bệnh

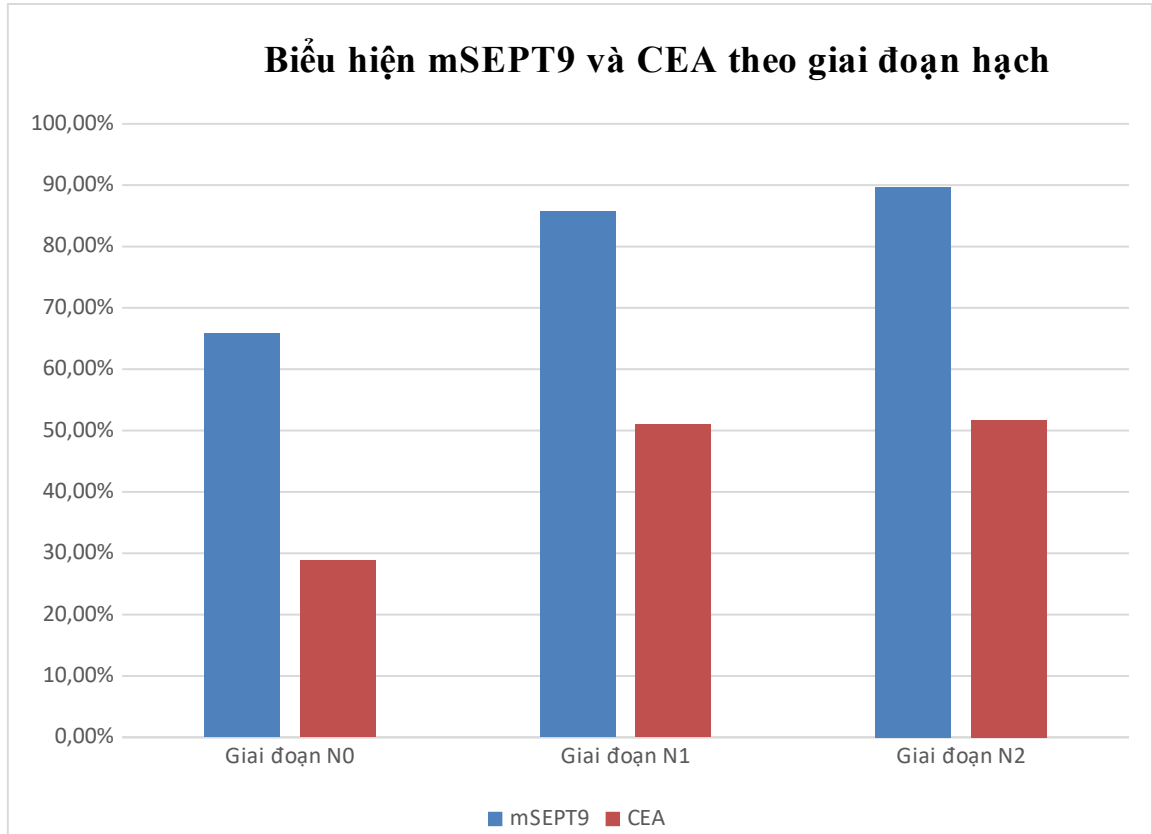
Xét về độ nhạy được chia thành các giai đoạn theo AJCC, mSEPT9 cho thấy độ nhạy cao nhất ở giai đoạn IV, với 90,9% bệnh nhân (30/33) có kết quả dương tính. Ở giai đoạn III, 84% bệnh nhân (42/50) có kết quả dương tính với mSEPT9, trong khi ở giai đoạn II, 71,8% bệnh nhân (28/39) có kết quả dương tính với mSEPT9. Ở giai đoạn I, 53,3% bệnh nhân (16/30) có kết quả mSEPT9 dương tính trong khi chỉ có 10% bệnh nhân có CEA dương tính. So sánh, mSEPT9 cho thấy độ nhạy cao hơn ở tất cả các giai đoạn của UTĐTT so với dấu ấn khối u thông thường là CEA. Cụ thể, ở giai đoạn II, mSEPT9 có thể phát hiện số lượng BN gần gấp đôi (71,8%) so với CEA (38,5%), còn ở giai đoạn III thì mSEPT9 có khả năng phát hiện gấp 2,2 lần (84%) so với CEA (38,0%)



Giai đoạn	T1	T2	T3	T4	<i>p</i>
mSEPT9	4/11(36,4%)	22/31(71,0%)	41/52(78,8%)	49/58(84,5%)	0,006
CEA	0/11(0%)	7/31(22,6%)	17/52(32,7%)	38/58(65,5%)	0,00

Biểu đồ 3.5. Độ nhạy mSEPT9 và CEA theo giai đoạn khối u (T)

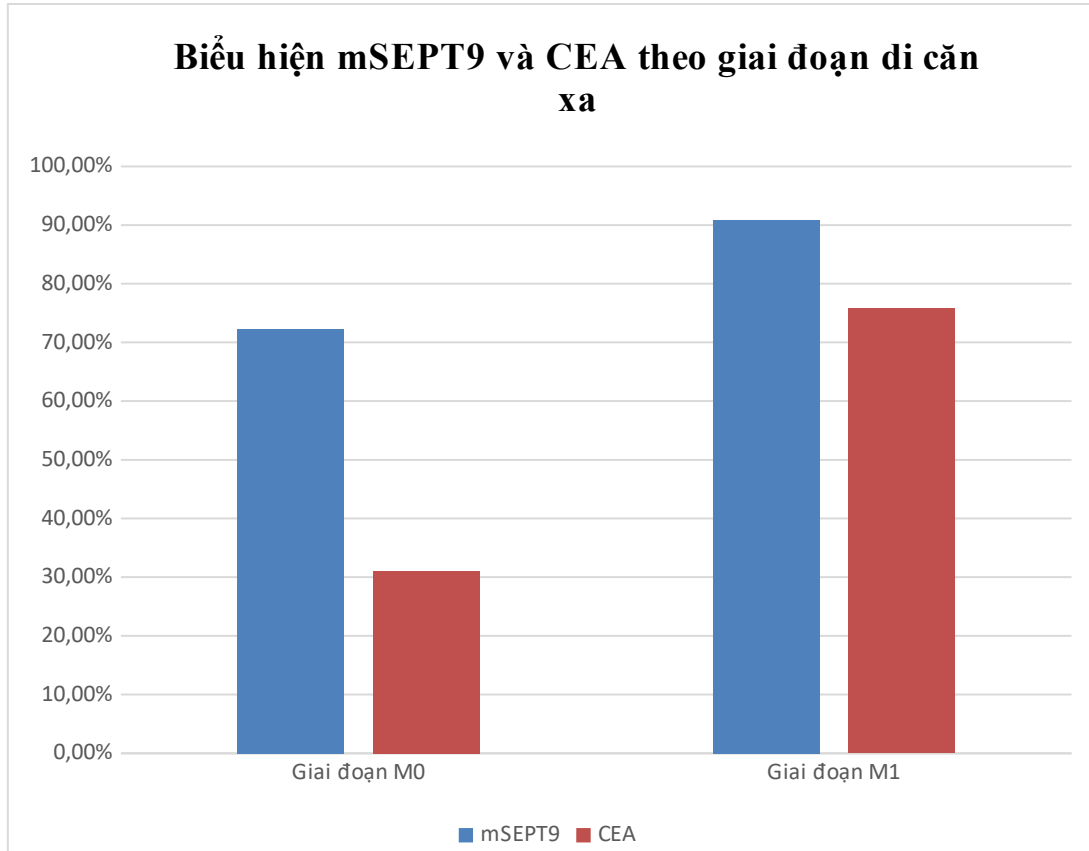
Xét về độ nhạy được chia theo giai đoạn khối u, mSEPT9 đều cho thấy tỷ lệ phát hiện cao hơn CEA ở tất cả các giai đoạn T. Cụ thể, khối u ở giai đoạn tiến triển xâm lấn (T4), mSEPT9 có độ nhạy là 84,5% (49/58), khối u ở giai đoạn T3 có độ nhạy 78,8% (41/52), khối u ở giai đoạn T2 có độ nhạy 71,0% (22/31) đều cao gấp 1 – 3 lần so với khả năng phát hiện của CEA ở các giai đoạn trên. Đặc biệt ở giai đoạn I trong khi mSEPT9 có khả năng phát hiện 36,4% thì CEA lại âm tính 100%.



Giai đoạn	N0	N1	N2	<i>p</i>
mSEPT9	48/73(65,8%)	42/50(84,0%)	26/29(89,7%)	0,011
CEA	21/73 (28,8%)	26/50 (52,0%)	15/29 (51,7%)	0,015

Biểu đồ 3.6. Độ nhạy mSEPT9 và CEA theo giai đoạn khối hạch (N)

Những bệnh nhân có hạch bạch huyết thâm nhiễm, mSEPT9 có kết quả dương tính ở 84,0% bệnh nhân giai đoạn N1 (42/50), ở 89,7% bệnh nhân giai đoạn N2 (26/29) trong khi đó CEA cho kết quả dương tính ở 52% bệnh nhân giai đoạn N1 (26/50) và 51,7% bệnh nhân giai đoạn N2 (15/29).



Giai đoạn	M0	M1	<i>p</i>
mSEPT9	86/119 (72,3%)	30/33 (90,9%)	0,026
CEA	37/119 (31,1%)	25/33 (75,8%)	0,000

Biểu đồ 3.7. Độ nhạy mSEPT9 và CEA theo giai đoạn di căn xa (M)

Bất kể tình trạng có di căn xa hay không, mSEPT9 đều có khả năng phát hiện UTĐTT cao hơn so với CEA. Ở nhóm chưa có di căn xa (M0), mSEPT9 có tỉ lệ dương tính là 72,3% (86/119) cao gấp 2,5 lần so với khả năng phát hiện của CEA chỉ với 31,1% (37/119).

3.2.2 Xác định mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 huyết tương với đặc điểm lâm sàng, đặc điểm cận lâm sàng của nhóm BNUTĐTT

Bảng 3.13. Mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 huyết tương với đặc điểm chung ở nhóm BNUTĐTT

Biến số	n	mSEPT9 (-) n (%)	mSEPT9(+) n (%)	p
UTĐTT	152	36 (23,7)	116 (76,3)	0,574
Giới tính				
Nữ	74	19 (25,7)	55 (74,3)	
Nam	78	17 (21,8)	61 (78,2)	0,307
Tuổi				
<60	53	10 (18,9)	43 (81,1)	
≥ 60	99	26 (26,3)	73 (73,7)	0,180
Bệnh lý mạn tính				
Không	91	25 (27,5)	66 (72,5)	
Có	61	11 (18,0)	50 (82,0)	

Kiểm định Chi-square

Theo bảng trên cho thấy, không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tình trạng methyl hoá gen *SEPT9* khi phân theo nhóm tuổi với ngưỡng 60 tuổi, phân theo nhóm giới tính và đặc biệt là yếu tố bệnh lý mạn tính được quan tâm là bệnh lý tăng huyết áp, đái tháo đường với $p > 0.05$.

Bảng 3.14. Mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 huyết tương với đặc điểm lâm sàng ở nhóm BNUTĐTT

Biến số	n	mSEPT9 (-) n (%)	mSEPT9(+) n (%)	p
UTĐTT	152	36 (23,7)	116 (76,3)	
Đau bụng				0,844 *
Có	120	28(23,3)	92(76,7)	
Không	32	8(25)	24(75)	
Rối loạn tiêu hoá				0,658 **
Không RLTH	14	2(14,3)	12(85,7)	
Táo bón	45	12(26,7)	33(73,3)	
Phân lỏng	36	8(22,2)	28(77,8)	
Mót rặn	3	1(33,3)	2(66,7)	
Phân dẹt	6	0(0)	6(100)	
Táo lỏng xen kẽ	48	13(27,1)	35(72,9)	
Phân lẫn máu				0,960 *
Không	67	16(23,9)	51(76,1)	
Có	85	20(23,5)	65(76,5)	
Bán/ tắc ruột				0,103 **
Không	115	32(27,8)	83(72,2)	
Bán tắc ruột	36	4(11,1)	32(88,9)	
Tắc ruột	1	0(0)	1(100)	
Gầy sút cân				0,902 *
Không	62	15(24,2)	47(75,8)	
Có	90	21(23,3)	69(76,7)	

* Kiểm định Chi-square * Kiểm định Fisher's Exact

Test

Theo bảng trên cho thấy, không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tình trạng mSEPT9 khi phân theo nhóm các triệu chứng lâm sàng với $p > 0,05$.

Bảng 3.15. Mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 huyết tương với đặc điểm đại thể của khối u trên nội soi và giải phẫu bệnh ở BNUTĐTT

Biến số	n	mSEPT9 (-) n (%)	mSEPT9(+) n (%)	p
UTĐTT	152	36 (23,7)	116 (76,3)	
Vị trí khối u				0,778*
Đại tràng phải	35	8(22,9)	27(77,1)	
Đại tràng trái	61	13(21,3)	48(78,7)	
Trực tràng	56	15(26,8)	41(73,2)	
Chiều dài u đại thể				0,002*
< 5 cm	93	30 (32,3)	63 (67,7)	
≥ 5 cm	59	6 (10,2)	53 (89,8)	
Đường kính u				0,003*
< 4 cm	95	28 (29,5)	67(70,5)	
≥ 4 cm	57	8(14,0)	49(86,0)	
Đặc điểm đại thể				
Loét	4	0 (0,0)	4 (100)	0,731**
Sùi	73	16 (21,9)	57 (71,8)	
Thâm nhiễm	17	5 (29,4)	12 (70,6)	
Loét sùi	58	15 (25,9)	43(74,1)	

* Kiểm định Chi-square ** Kiểm định Fisher's Exact Test

Theo bảng trên cho thấy, không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tình trạng mSEPT9 khi phân theo nhóm vị trí khối u, đặc điểm đại thể khối u trên nội soi các triệu chứng lâm sàng với $p > 0,05$. Nhưng thấy rõ sự khác biệt về sự biểu hiện mSEPT9 với các phân nhóm đặc điểm về chiều dài khối u và phân nhóm đường kính khối u với $p < 0,05$.

Bảng 3.16. Mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 huyết tương với đặc điểm vi thể của khối u trên bệnh phẩm giải phẫu bệnh ở nhóm BNUTĐTT

Biến số	n	mSEPT9 (-) n (%)	mSEPT9(+) n (%)	p
UTĐTT	152	36 (23,7)	116 (76,3)	
Mô bệnh học				0,936*
UTBM tuyến	126	30(23,8)	96(76,2)	
Khác UTBM tuyến	26	6(23,1)	20(79,6)	
Độ mô học				0,580**
Độ mô học cao	5	0 (0,0)	5 (100,0)	
Độ mô học vừa	128	31 (24,2)	97 (75,8)	
Độ mô học kém	19	5 (26,3)	14 (73,7)	

* Kiểm định Chi-square ** Kiểm định Fisher's Exact Test

Theo bảng trên cho thấy, không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tình trạng mSEPT9 khi phân theo nhóm đặc điểm giải phẫu bệnh khối u ĐTT cũng như đặc điểm độ biệt hoá mô học khối u, với $p > 0,05$.

Bảng 3.17. Mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 huyết tương với đặc điểm khối u trên bệnh phẩm giải phẫu bệnh ở nhóm BNUTĐTT

Biến số	n	mSEPT9 (-) n (%)	mSEPT9(+) n (%)	p
UTĐTT	152	36 (23,7)	116 (76,3)	
U xâm nhập mạch máu				0,303
Có	13	1(7,7)	12(92,3)	
Không	139	35(25,2)	104(74,8)	
U xâm nhập thần kinh				0,336
Có	6	0(0)	6(100)	
Không	146	36(24,7)	110(75,3)	
U xâm nhập tạng				0,056
Có	31	3(9,7)	28(90,3)	
Không	121	33(27,3)	88(72,7)	

Kiểm định Fisher's Exact Test

Theo bảng trên cho thấy, không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tình trạng mSEPT9 khi phân theo nhóm đặc điểm khối u trên bệnh phẩm giải phẫu bệnh khối u ĐTT về mức độ xâm nhập mạch máu, xâm nhập thần kinh, xâm nhập tạng lân cận, cũng như đặc điểm diện cắt khối u sau phẫu thuật với $p > 0,05$.

Bảng 3.18. Mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 huyết tương với đặc điểm giai đoạn bệnh ở nhóm BNUTĐTT

Biến số	n	mSEPT9 (-) n (%)	mSEPT9(+) n (%)	p
UTĐTT	152	36 (23,7)	116 (76,3)	
Giai đoạn T				0,016
T1	11	7(63,6)	4(36,4)	
T2	31	9(29,0)	22(71,0)	
T3	52	11(21,2)	41(78,8)	
T4a	43	8(18,6)	35(81,4)	
T4b	15	1(6,7)	14(93,3)	
Giai đoạn N				0,011
N0	73	25 (34,2)	48(65,8)	
N1	50	7 (14,3)	42 (84,0)	
N2	29	3 (10,3)	26 (89,7)	
Giai đoạn M				0,035
M0	119	33 (27,7)	86 (72,3)	
M1	33	3 (9,1)	30 (90,9)	

Kiểm định Fisher's Exact Test

Theo bảng trên cho thấy, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tình trạng mSEPT9 khi phân theo nhóm giai đoạn khối u, giai đoạn di căn hạch, giai đoạn di căn xa của khối u ĐTT với $p < 0,05$.

Bảng 3.19. Mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 huyết tương với đặc điểm giai đoạn bệnh TNM ở nhóm BNUTĐTT

Biến số	n	mSEPT9 (-) n (%)	mSEPT9(+) n (%)	p
UTĐTT	152	36 (23,7)	116 (76,3)	
Giai đoạn				0,003*
I ¹	30	14 (46,7)	16 (53,3)	
II ²	39	11 (28,2)	28 (71,8)	p^{1-2} 0,12
III ³	50	8 (16,0)	42 (84,0)	p^{1-3} 0,003
IV ⁴	33	3 (9,1)	30 (90,9)	p^{1-4} 0,002

* Kiểm định Fisher's Exact Test

Theo bảng trên cho thấy, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về mSEPT9 khi phân theo nhóm giai đoạn bệnh của khối u đại trực tràng theo phân loại TNM với $p < 0,05$.

Bảng 3.20. Mức độ liên quan giữa mSEPT9 trước điều trị với tình trạng UTĐTT giai đoạn sớm phân biệt với giai đoạn muộn

Biến số	mSEPT9 (-) n (%)	mSEPT9(+) n (%)	n
UTĐTT	36 (23,7)	116 (76,3)	152 (100%)
Giai đoạn			
Giai đoạn sớm	25 (36,2)	44 (63,8)	69 (100%)
Giai đoạn muộn	11 (13,3)	72 (86,7)	83 (100%)
OR	3,719		
p	0.001*		
95% CI	1,667 – 8,295		

* Kiểm định Chi-square

Theo bảng trên cho thấy, trong số những BNUTĐTT giai đoạn muộn, 86,7% bệnh nhân có mSEPT9 trước điều trị dương tính, trong khi đó tỉ lệ mSEPT9 ở giai đoạn sớm là 63,8%. Những bệnh nhân có mSEPT9 dương tính có nguy cơ là ung thư giai đoạn muộn có di căn hạch hoặc có di căn xa cao gấp 3,719 lần so với nhóm mSEPT9 âm tính (OR = 3,719, $p < 0,001$).

Bảng 3.21. Mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 huyết tương với đặc điểm xét nghiệm CEA ở nhóm BNUTĐTT

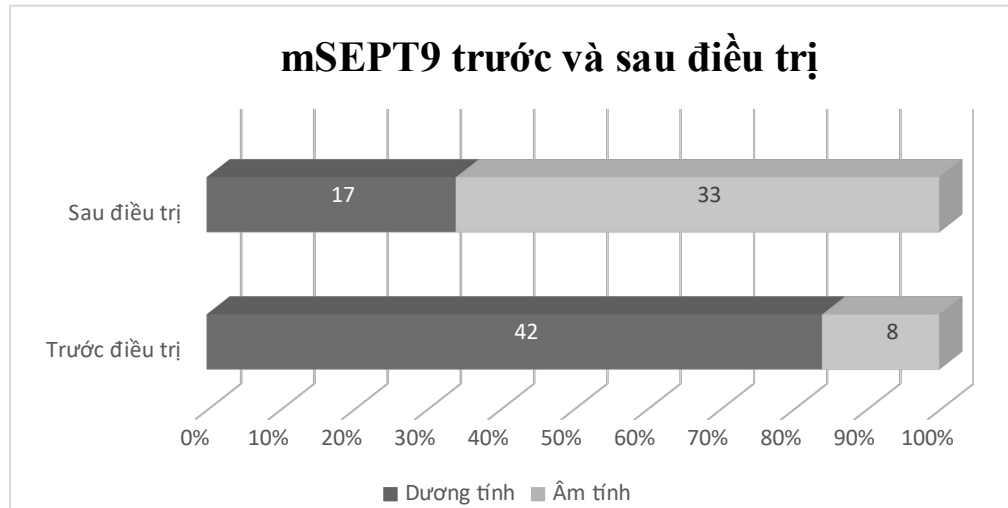
Biến số	n	mSEPT9 (-) n (%)	mSEPT9(+) n (%)	p
UTĐTT	152	36 (23,7)	116 (76,3)	
CEA				0,009*
≤ 5 ng/ml	90	28(31,1)	62(68,9)	
> 5 ng/ml	62	8(12,9)	54(87,1)	
MMR				0,187**
MSS	21	7(33,3)	14(66,7)	
MSI - H	5	0(0)	5(100)	

* Kiểm định Chi-square **Kiểm định Fisher's Exact Test

Theo bảng trên cho thấy, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tình trạng mSEPT9 khi phân theo nhóm mức độ CEA trước điều trị với ngưỡng 5 ng/ml với $p < 0,05$; chưa ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa về tình trạng biểu hiện mSEPT9 với đặc điểm ổn định hoặc bất ổn định vi vệ tinh với $p > 0,05$.

3.3 Đặc điểm độ biến động mSEPT9 trước và sau điều trị triệt căn ở nhóm BNUTĐTT giai đoạn III

3.3.1. Những thay đổi trong mSEPT9 huyết tương ở bệnh nhân UTĐTT trước và 7 ngày sau phẫu thuật



Nhóm đối tượng		mSEPT9 sau phẫu thuật		Tổng
		Dương tính n (%)	Âm tính n (%)	
m SEPT9 trước phẫu thuật	Dương tính n (%)	17 (34%)	25 (50%)	42 (84%)
	Âm tính n (%)	0 (0%)	8 (16%)	8 (16%)
	Tổng	17 (34%)	33 (66%)	50 (100%)

Bảng 3.22. Đặc điểm mSEPT9 huyết tương trước và sau phẫu thuật

Chúng tôi đã tiến hành xét nghiệm mSEPT9 trên 50 BNUTĐTT giai đoạn III có chỉ định phẫu thuật triệt căn 1 tuần trước khi phẫu thuật và 7 ngày sau khi phẫu thuật. Trong số 42 BNUTĐTT có mSEPT9 huyết tương dương tính trước khi phẫu thuật, 25 BN chuyển sang âm tính 1 tuần sau phẫu thuật, 17 BN dương tính liên tục và 8 BN âm tính liên tục, như vậy, tỷ lệ dương tính với mSEPT9 huyết tương sau phẫu thuật giảm đáng kể so với giai đoạn trước phẫu thuật (84% so với 34%), với sự thay đổi có ý nghĩa thống kê ($p = 0,027$)

3.3.2. Mối liên quan sự biến động mSEPT9 trước và sau phẫu thuật với đặc điểm của nhóm BNUTĐTT giai đoạn III.

Bảng 3.23. Mối liên quan mSEPT9 trước và sau phẫu thuật với giai đoạn bệnh

Biến số	n	Trước phẫu thuật			Sau phẫu thuật		
		mSEPT9 (-) n (%)	m SEPT9(+) n (%)	p	mSEPT9 (-) n (%)	m SEPT9(+) n (%)	p
UTĐTT	50	11 (22)	39 (78)		33 (66,0)	17 (34,0)	
Giai đoạn T				1,0 0**			0,03 9**
T1 + T2	12	2(16,7)	10(83,3)		11 (91,7)	1(8,3)	
T3 + T4	38	9(23,7)	29(76,3)		22 (57,9)	16 (42,1)	
Giai đoạn N				0,7 1**			0,21 6*
N1	35	7 (20)	28 (80)		25 (71,4)	10 (28,6)	
N2	15	4 (26,7)	11 (73,3)		8 (53,3)	7 (46,7)	

* Kiểm định Chi-square ** Kiểm định Fisher's Exact Test

Theo bảng trên cho thấy, không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tình trạng mSEPT9 trước điều trị về phân nhóm giai đoạn khối u và giai đoạn hạch với $p > 0,05$, nhưng sau phẫu thuật triệt căn thì có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tình trạng mSEPT9 sau phẫu thuật với phân nhóm giai đoạn T với $p < 0,05$, còn tình trạng di căn hạch sau phẫu thuật chưa ghi nhận sự khác biệt với $p > 0.05$.

Bảng 3.24. Mối liên quan mSEPT9 sau phẫu thuật với đặc điểm đại thể khối u

Biến số	n	Trước phẫu thuật			Sau phẫu thuật		
		mSEPT9 (-) n (%)	m SEPT9(+) n (%)	p	mSEPT9 (-) n (%)	m SEPT9(+) n (%)	p
UTĐTT	50	11 (22)	39 (78)		33 (66,0)	17 (34,0)	
Vị trí khối u				1,000**			0,614**
Đại tràng phải	8	1(12,5)	7(87,5)		4 (50)	4(50)	
Đại tràng trái	22	4(18,2)	18(81,8)		15(68,2)	7(31,8)	
Trực tràng	20	3(15)	17(85)		14(70)	6(30)	
Chiều dài u				0,456*			0,197*
< 5	24	5(20,8)	19(79,2)		18(75)	6(25)	
>= 5	26	3(11,5)	23(88,5)		15(57,7)	11(34)	
Đường kính u				0,261**			0,480
< 4cm	27	6(22,2)	21(77,8)		19 (70,4)	8 (29,6)	
>= 4 cm	23	2(8,7)	21(91,3)		14 (60,9)	9 (39,1)	
Đặc điểm u				0,711**			0,336*
Loét	2	0(0)	2(100)		1 (50)	1 (50)	
Sùi	23	4(17,4)	19(82,6)		18 (78,3)	5 (21,7)	
Thâm nhiễm	7	2(28,6)	5(71,4)		4 (57,1)	3 (42,9)	
Loét sùi	18	2(11,1)	16(88,9)		10 (55,6)	8 (44,4)	

* Kiểm định Chi-square ** Kiểm định Fisher's Exact Test

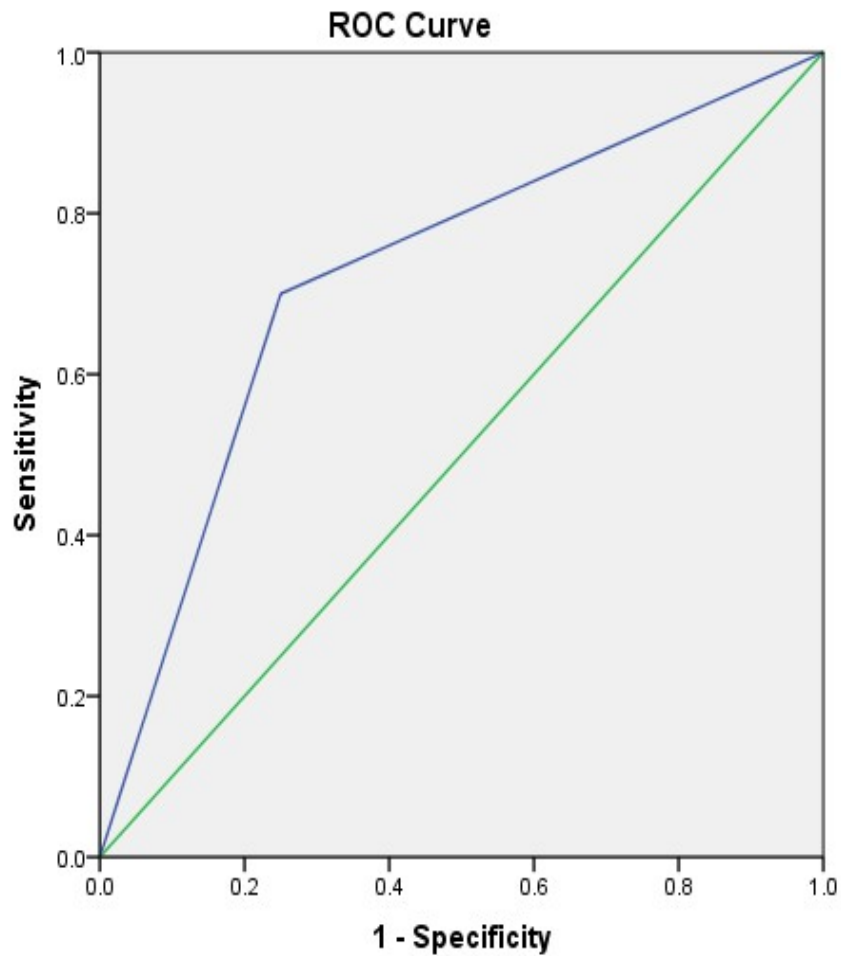
Theo bảng trên cho thấy, không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tình trạng mSEPT9 cả trước và sau điều trị về các phân nhóm vị trí khối u, nhóm chiều dài khối u, nhóm đường kính khối u, đặc điểm khối u trên nội soi ở nhóm BNUTĐTT giai đoạn III với $p > 0,05$.

Bảng 3.25. Mối liên quan mSEPT9 sau phẫu thuật với đặc điểm vi thể khối u

Biến số	n	Trước phẫu thuật			Sau phẫu thuật		
		m SEPT9 (-) n (%)	m SEPT9 (+) n (%)	p	mSEPT9 (-) n (%)	mSEPT9 (+) n (%)	p
UTĐTT							
Giải phẫu bệnh				0,144			0,02
UTBM tuyến	41	5 (12,2)	36 (87,8)		24 (58,5)	17 (41,5)	
Khác UTBM tuyến	9	3 (33,3)	6 (66,7)		9 (100)	0(0)	
Độ mô học				0,623			
Độ mô học cao + vừa	41	6(14,6)	35(85,4)		26 (63,4)	15 (36,6)	0,699
Độ mô học kém	9	2(22,2)	7(77,8)		7(77,8)	2(22,2)	

Kiểm định Fisher's Exact Test

Theo bảng trên cho thấy, mặc dù không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tình trạng mSEPT9 trước điều trị khi phân nhóm đặc điểm giải phẫu bệnh khối u, độ mô học khối u với $p > 0,05$ nhưng đã nhận thấy sự khác biệt có ý nghĩa về tình trạng biểu hiện mSEPT9 sau phẫu thuật với phân nhóm đặc điểm giải phẫu bệnh khối u ở nhóm BNUTĐTT giai đoạn III với $p < 0,05$.



Hình 3.4. Phân tích giá trị tiên đoán của tình trạng mSEPT9 sau phẫu thuật đối với tiến triển sau phẫu thuật ở những bệnh nhân UTĐTT giai đoạn III

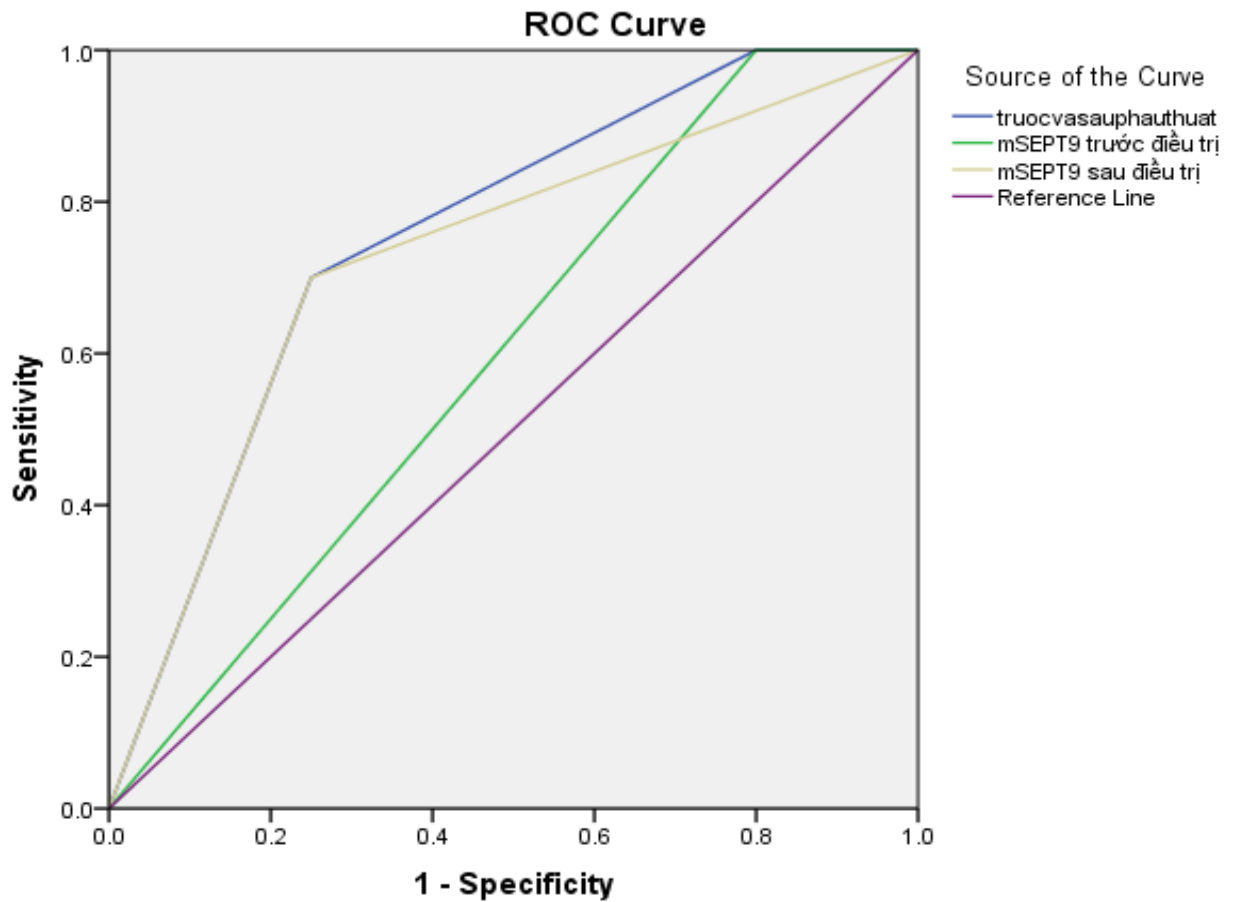
Kết quả phân tích đường cong ROC cho thấy mSEPT9 sau điều trị có giá trị tiên đoán tình trạng tiến triển sau phẫu thuật triệt căn ở mức độ khá tốt (AUC = 0,725, CI 95% 0,542 – 0,908; $p < 0,05$);

Bảng 3.26. Mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 sau phẫu thuật và tình trạng tiến triển sau phẫu thuật triệt căn ở BNUTĐTT giai đoạn III

Nhóm đối tượng		Đặc điểm		Tổng
		Không tiến triển n (%)	Tiến triển n (%)	
mSEPT9 sau phẫu thuật	Âm tính	30 (90,9)	3 (9,1)	33 (100)
	Dương tính	10 (58,8)	7 (41,2)	17 (100)
OR		7,000		
<i>p</i>		0,021		
CI 95%		1,515 – 32,333		

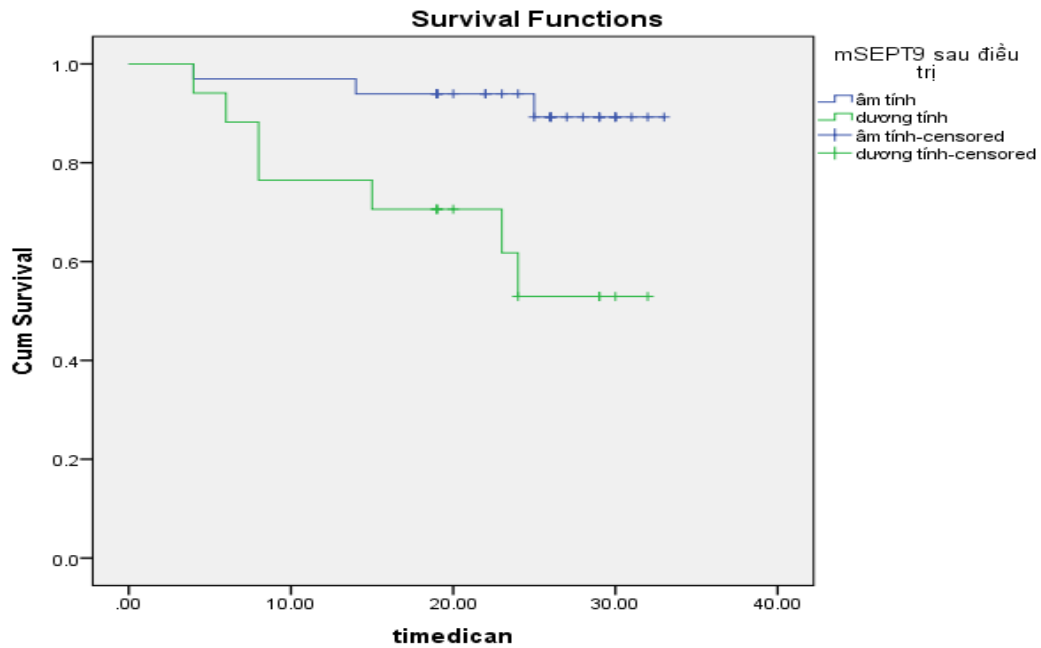
Kiểm định Fisher's Exact Test

Theo bảng trên cho thấy, trong số 33 bệnh nhân có mSEPT9 âm tính sau phẫu thuật chỉ có 3 bệnh nhân tiến triển chiếm 9,1% trong khi nhóm 17 bệnh nhân có mSEPT9 dương tính có 7 bệnh nhân tiến triển chiếm 41,2%. Những bệnh nhân sau phẫu thuật triệt căn có tình trạng mSEPT9 dương tính có nguy cơ tái phát và di căn cao gấp 7 lần so với nhóm không phát hiện có tình trạng mSEPT9 sau phẫu thuật (OR = 7, $p < 0,05$).



Hình 3.5. Phân tích giá trị tiên đoán của kết hợp tình trạng mSEPT9 sau phẫu thuật và trước phẫu thuật đối với tiến triển sau phẫu thuật ở BNUTĐTT giai đoạn III

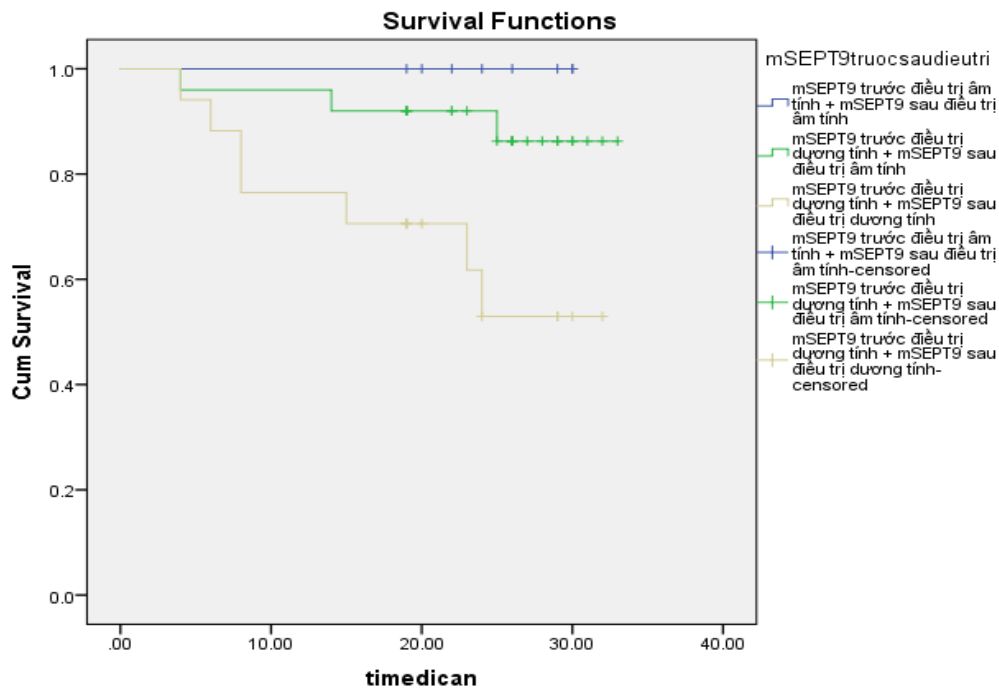
Kết quả phân tích đường cong ROC cho thấy mSEPT9 trước phẫu thuật không có ý nghĩa trong tiên đoán tình trạng tiến triển của nhóm BNUTĐTT giai đoạn III sau phẫu thuật triệt căn với $AUC = 0,6$; $p > 0,05$. Nhưng khi kết hợp với tình trạng dương tính của mSEPT9 sau phẫu thuật có giá trị tiên đoán tình trạng tiến triển sau phẫu thuật triệt căn ở mức độ khá tốt ($AUC = 0,755$, $CI\ 95\% 0,597 - 0,913$; $p < 0,05$);



Thời gian (tháng)	0	4	6	8	12	15	23	24	25
mSEPT9 dương tính	17	16	15	13	13	12	11	10	10
mSEPT9 âm tính	33	32	32	32	32	31	31	31	30

Hình 3.6. Ước lượng tiến triển sau phẫu thuật ở BNUTĐTT giai đoạn III dựa trên phân tích đường cong Kaplan – Meier của tình trạng mSEPT9 sau phẫu thuật

Phân tích đường cong Kaplan – Meier thời gian sống bệnh không tiến triển ở nhóm bệnh nhân UTĐTT giai đoạn III sau phẫu thuật triệt căn với đặc điểm mSEPT9 sau điều trị thấy thời gian sống bệnh không tiến triển của nhóm bệnh nhân có xét nghiệm mSEPT9 sau điều trị dương tính ngắn hơn đáng kể so với nhóm có xét nghiệm mSEPT9 âm tính sau điều trị. Trong nhóm 33 bệnh nhân có xét nghiệm âm tính sau điều trị thì có 3 bệnh nhân xuất hiện tái phát, di căn; trong nhóm 17 bệnh nhân có kết quả xét nghiệm dương tính sau điều trị thì có 7 bệnh nhân có tình trạng tái phát di căn trong toàn bộ 2 năm theo dõi bệnh nhân. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,005$ (kiểm định Log Rank).



Thời gian (tháng)	0	4	6	8	12	15	23	24	25
mSEPT9 dương tính trước và sau PT	17	16	15	13	13	12	11	10	10
mSEPT9 dương tính trước và âm tính sau PT	25	24	24	24	24	23	23	23	22
mSEPT9 âm tính trước và sau PT	8	8	8	8	8	8	8	8	8

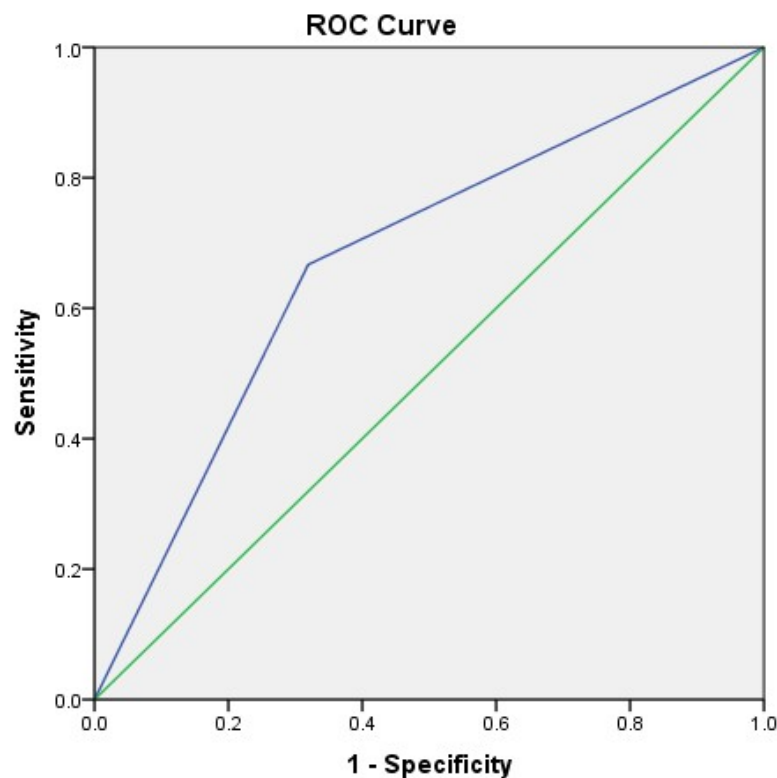
Hình 3.7. Ước lượng tiến triển sau phẫu thuật ở BNUTĐTT giai đoạn III dựa trên phân tích đường cong Kaplan – Meier của tình trạng kết hợp mSEPT9 trước và sau điều trị phẫu thuật

Phân tích đường Kaplan – Meier khi kết hợp tình trạng biểu hiện mSEPT9 trước điều trị và sau điều trị cho thấy thời PFS ở nhóm có mSEPT9 dương tính cả trước và sau điều trị phẫu thuật triệt căn (17 BN) ngắn hơn các nhóm có mSEPT9 âm tính cả trước và sau điều trị (8 BN), nhóm có mSEPT9 trước điều trị dương tính sau phẫu thuật triệt căn chuyển sang tình trạng âm tính (25 BN). Thời gian sống PFS ở các nhóm khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (kiểm định Log Rank).

Bảng 3.27. Hồi quy Cox cho PFS ở BNUTĐTT giai đoạn III

Biến số	Progression-Free Survival			
	Đơn biến		Đa biến	
	PFS HR (95% CI)	<i>p</i>	PFS HR (95% CI)	<i>p</i>
Giới tính				
Nữ	1 (ref)	0,940	1 (ref)	0,853
Nam	0,953 (0,268-3,379)		0,869 (0,198-3,827)	
Tuổi				
≤ 60	1 (ref)	0,606	1 (ref)	0,961
> 60	0,721 (0,209-2,494)		0,961(0,247-3,731)	
Vị trí khối u				
Đại tràng Phải	1 (ref)		1 (ref)	
Đại tràng Trái	2,219 (0,267-18,439)	0,461	2,103(0,173-25,637)	0,560
Trực tràng	1,221(0,127 – 11,754)	0,863	3,271(0,247-43,338)	0,369
Chiều dài khối u				
< 5 cm	1 (ref)	0,210	1 (ref)	0,238
≥ 5 cm	2,375 (0,614 – 9,196)		0,345(0,059-2,023)	
Đường kính khối u				
< 4 cm	1 (ref)	0,092	1 (ref)	0,130
≥ 4 cm	3,207(0,827 – 12,444)		0,259(0,045-1,491)	
Thể mô học khối u				
Non - Carcinoma	1 (ref)	0,356	1 (ref)	0,976
Carcinoma	0,037(0,00 – 41,09)		0,746(0,001-59,49)	
Độ biệt hoá khối u				
Độ biệt hoá kém	1 (ref)		1 (ref)	0,846
Độ biệt hoá cao + vừa	0,574 (0,072-4,555)	0,599	0,787(0,07-8,78)	
Giai đoạn T				
T1 + T2	1 (ref)	0,674	1 (ref)	0,102
T3 + T4	0,748 (0,193-2,895)		7,63(0,669-86,99)	
mSEPT9 trước điều trị				
Âm tính	1 (ref)	0,368	1 (ref)	0,977
Dương tính	26,753(0,021-34300)		0,001(0,00-40,01)	
mSEPT9 sau điều trị				
Âm tính	1 (ref)	0,012	1 (ref)	0,035
Dương tính	5,677(1,457-22,117)		10,738(1,18– 97,69)	

Trong số những BNUTĐTT giai đoạn III được điều trị phẫu thuật triệt căn, phân tích đơn biến cho thấy tình trạng *mSEPT9* dương tính sau phẫu thuật (HR: 5,677, 95% CI: 1,457-22,117, $p < 0,05$) có liên quan đến thời gian sống bệnh không tiến triển (PFS) ngắn hơn ở những bệnh nhân này so với nhóm bệnh nhân có xét nghiệm *mSEPT9* trở về âm tính sau phẫu thuật triệt căn. Không nhận thấy mối liên hệ đáng kể nào giữa giới tính, tuổi, vị trí ung thư nguyên phát, đặc điểm mô bệnh học và độ biệt hoá khối u, giai đoạn khối u, loại mô học khối u với thời gian sống bệnh không tiến triển ở BNUTĐTT ($p > 0,05$). Phân tích đa yếu tố cho thấy rằng *mSEPT9* dương tính sau phẫu thuật triệt căn (HR: 10,738, 95% CI: 1,18 – 97,69; $p < 0,05$), là yếu tố độc lập có tính dự báo cho PFS ngắn hơn đáng kể ở BNUTĐTT.



Hình 3.8. Phân tích giá trị tiên đoán của tình trạng *mSEPT9* sau phẫu thuật đối với tình trạng tử vong sau phẫu thuật ở BNUTĐTT giai đoạn III

Kết quả phân tích đường cong ROC cho thấy *mSEPT9* sau điều trị có giá trị tiên đoán tình trạng tử vong sau phẫu thuật triệt căn ở mức độ khá ($AUC = 0,674$, $CI\ 95\% 0,542 - 0,908$) nhưng chưa có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Khi kết hợp với tình trạng *mSEPT9* trước điều trị giá trị tiên đoán tình trạng tử vong cũng chưa có ý nghĩa với $p > 0,05$.

Bảng 3.28. Mối liên quan giữa tình trạng *mSEPT9* sau phẫu thuật và tình trạng tử vong sau phẫu thuật triệt căn ở BNUTĐTT giai đoạn III

Nhóm đối tượng		Đặc điểm		Tổng
		Không tử vong n (%)	Tử vong n (%)	
<i>mSEPT9</i> sau phẫu thuật	Âm tính	32 (68,1)	15 (31,9)	47 (100)
	Dương tính	1 (33,3)	2 (66,7)	3 (100)
p		0,264		

Phân tích tình trạng tử vong sau phẫu thuật triệt căn ở nhóm bệnh nhân UTĐTT giai đoạn III chưa thấy sự khác biệt có ý nghĩa giữa nhóm có *mSEPT9* dương tính sau phẫu thuật so với nhóm *mSEPT9* âm tính với $p > 0,05$.

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm của đối tượng tham gia nghiên cứu

4.1.1 Đặc điểm chung của đối tượng tham gia nghiên cứu

4.1.1.1 Tuổi

Hơn 90% bệnh nhân ung thư đại trực tràng xuất hiện ở độ tuổi trên 50. Hiện nay, bệnh lý ung thư trực tràng có xu hướng trẻ hóa, tăng ở độ tuổi dưới 50 tuổi, thậm chí tăng cả ở nhóm tuổi 20-39. Ở Việt Nam, nhiều công trình nghiên cứu về ung thư đại trực tràng. Tuy nhiên, chưa có một nghiên cứu dịch tễ nào có thể đại diện cho toàn bộ dân số Việt Nam

Trong nghiên cứu của chúng tôi (Bảng 3.1) ghi nhận về đặc điểm tuổi của nhóm bệnh nhân nghiên cứu trong đó, nhóm người khoẻ mạnh có tuổi trung bình là $47,3 \pm 11,7$ (tuổi), cao nhất là 70 tuổi, thấp nhất là 20 tuổi. Nhóm BNUTĐTT trong nghiên cứu có tuổi trung bình là $62,3 \pm 10,9$ (tuổi), cao nhất là 83 tuổi, thấp nhất là 30 tuổi. Nhóm tuổi chiếm tỷ lệ mắc bệnh cao nhất là trên 60 tuổi với 65,1 % cho nhóm BN UTĐTT.

Trong nghiên cứu của Nguyễn Kiến Dụ (2017) nghiên cứu trên 145 bn UTĐTT ghi nhận tuổi mắc UTĐTT trung bình là 57,6 tuổi, trong đó chủ yếu mắc bệnh ở độ tuổi từ 50 trở lên [77]. Nghiên cứu của Bùi Ánh Tuyết (2017) nghiên cứu trên 65bn UTĐTT, tuổi mắc UTĐTT trung bình là 54,5 tuổi, chiếm tỷ lệ cao nhất là nhóm tuổi 50 – 59 tuổi với 70,8% [83]. Theo Ngô Thị Hoài (2022) nghiên cứu trên 120 bệnh nhân UTĐTT cho thấy tuổi trung bình $62,1 \pm 12,6$ tuổi, nhóm tuổi chiếm tỷ lệ mắc bệnh cao nhất là trên 60 tuổi với 54,9% [84].

Trong nghiên cứu của Yafei H. (2024) nghiên cứu trên 540 bệnh nhân UTĐTT ở Trung Quốc ghi nhận độ tuổi trung bình là $54,47 \pm 13,14$, trong đó nhóm bệnh nhân trên 60 tuổi chiếm 57,8% [85]. Ở các nước châu Âu, châu

Mỹ tuổi mắc bệnh có xu hướng muộn hơn. Theo Kimberly D. (2022) nghiên cứu về tình trạng mắc bệnh và sống sót ở các bệnh ung thư phổ biến tại Mỹ vào năm 2022 đã cho thấy 54% bệnh nhân UTĐTT phát hiện ra bệnh ở nhóm tuổi từ 65-84 tuổi, 22% người được chẩn đoán UTĐTT ở nhóm tuổi 50-64 tuổi [86]. Qua nghiên cứu của chúng tôi và các nghiên cứu của các tác giả trước đây đều nhận thấy rằng tuổi mắc UTĐTT thường gặp ở lứa tuổi từ 50 – 70 tuổi, tuổi trung bình mắc bệnh thường trên 60 tuổi. Do vậy nên khuyến cáo bệnh nhân khám sàng lọc phát hiện UTĐTT sớm.

4.1.1.2 Giới

Về đặc điểm giới tính (Bảng 3.2), nghiên cứu này chúng tôi nhận thấy chủ yếu BN mắc UTĐTT là nam giới chiếm 51,3 %. Tương tự như một số tác giả trong nước đã nghiên cứu, nghiên cứu của Nguyễn Kiến Dụ và cs (2017) cho thấy tỷ lệ mắc UTĐTT ở nam giới (53,1%) cao hơn nữ giới (46,9%), tỷ lệ nam/nữ là 1,13 [77]. Kết quả nghiên cứu của Bùi Ánh Tuyết và cs (2017), tỷ lệ mắc UTĐTT của nam và nữ giới lần lượt là 58,5% và 41,5%, của tác giả Ngô Thị Hoài và cs (2022) cũng thấy 66,0% nam giới mắc UTĐTT trong nhóm BNUTĐTT nghiên cứu [83],[84]. Theo thống kê của các nước trên thế giới cũng cho thấy đặc điểm giới tính tương tự. Theo Rebecca (2023) thống kê về tỉ lệ mắc và tử vong của bệnh UTĐTT ở Mỹ vào năm 2023 cho thấy có 53,5% bệnh nhân là nam giới [87]. Trong nghiên cứu của Yafei H. (2024) nghiên cứu trên 540 bệnh nhân UTĐTT ở Trung Quốc ghi nhận 61,48% bệnh nhân là nam giới [85].

4.1.1.3 Vị trí ung thư đại trực tràng ở nhóm bệnh nhân nghiên cứu

Nghiên cứu về vị trí u trong UTĐTT được công bố trong nhiều nghiên cứu nhưng chưa có tính thống nhất cao vì còn phụ thuộc vào mục đích nghiên cứu nên nhóm đối tượng nghiên cứu không đồng nhất đại diện cho cả cộng đồng.

Ung thư đại trực tràng có thể gặp ở bất cứ vị trí nào của đại trực tràng. Các triệu chứng lâm sàng liên quan đến vị trí khối u. Các nghiên cứu ở Việt Nam cho thấy ung thư đại tràng trái chiếm tỷ lệ khá cao. Một số nghiên cứu gần đây như theo Phạm Văn Hùng (2022) khi nghiên cứu mô tả đặc điểm mô bệnh học của 115 bệnh nhân UTĐTT đến khám tại BV Đại học Y Hà Nội trong năm 2020, nhận thấy số bệnh nhân có khối u trực tràng chiếm tỉ lệ cao nhất là 56,5% , tỉ lệ khối u ở vị trí đại tràng trái là 34,8% trong đó đại tràng sigma chiếm 27%, và ở đại tràng phải là 8,7% [88]. Tương tự như vậy khi khảo sát tình hình UTĐTT tại khu vực miền nam, theo Trần Đình Phương Trân (2025) khi nghiên cứu đặc điểm lâm sàng của 86 BNUTĐTT tại Bệnh viện Chợ Rẫy cũng thấy 37,6 % bệnh nhân UT trực tràng chiếm tỷ lệ cao nhất, 26,9% bệnh nhân ung thư đại tràng sigma có tỷ lệ cao thứ 2 [89]. Nhưng trong nghiên cứu của Bùi Thị Ánh Tuyết (2017) thì chỉ có 9,2% bệnh nhân ung thư trực tràng, trong 90,8% bệnh nhân ung thư trực tràng thì chỉ có 27,7% bệnh nhân ung thư đại tràng phải [83]. Trong nghiên cứu của Ngô Thị Hoài (2022) cũng phát hiện chủ yếu khối u ở phía đại tràng trái chiếm 62,5% [84]. Trong nghiên cứu của chúng tôi thì có 40% ung thư đại tràng trái, 37% ung thư trực tràng, 23% ung thư đại tràng phải. Như vậy trong nghiên cứu của chúng tôi có 77% ung thư đại tràng bên trái, cũng cho thấy tương tự các nghiên cứu khác về đặc điểm tổn thương khối u bên đại tràng trái chiếm chủ yếu. Cũng tương đồng như vậy khi khảo sát các nghiên cứu ở các quốc gia khác trong những năm gần đây. Nghiên cứu của Yafei H. (2024) tại Trung Quốc với 540 bệnh nhân UTĐTT cũng có 80,4% bệnh nhân ung thư đại tràng trái [85]. Nghiên cứu của Sabine L. (2023) tại Đức gồm 120 bệnh nhân UTĐTT có 65,9% bệnh nhân có khối u ở đại tràng trái [90]. Như vậy, qua các nghiên cứu trước đây và kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy khối u xuất hiện ở đại tràng trái chiếm tỉ lệ chủ yếu, theo một số quan điểm, đại tràng phải là đoạn đại tràng bao gồm ruột thừa, manh tràng, đại tràng góc gan, đại

tràng ngang. Đại tràng trái bao gồm đại tràng góc lách, đại tràng xuống, đại tràng sigma, trực tràng. Do đó kết quả khảo sát khi thấy khối u ở đại tràng trái chiếm chủ yếu cũng khá phù hợp với đặc điểm chiều dài của đoạn đại tràng trái theo khung giải phẫu.

4.1.1.4 Thời gian từ khi có triệu chứng đầu tiên đến khi nhập viện

Khoảng thời gian từ khi có triệu chứng đến khi nhập viện là khoảng thời gian vàng để người bệnh có thể tiếp cận với phương pháp điều trị triệt căn hay chỉ có thể chăm sóc giảm nhẹ triệu chứng, hoàn toàn phụ thuộc vào ý thức về sức khỏe của chính người bệnh, phụ thuộc vào kinh tế, điều kiện của gia đình người bệnh cũng như là các chương trình sàng lọc phát hiện sớm bệnh lý UTĐTT ở cộng đồng.

Trong nghiên cứu này, thời gian có triệu chứng đến khi phát hiện bệnh trung bình là 2 tháng; thời gian có triệu chứng đến khi phát hiện bệnh ở nhóm ung thư đại tràng phải là 2 tháng, ung thư đại tràng trái là 1,8 tháng, ung thư trực tràng là 2,1 tháng. Sự khác biệt về thời gian có triệu chứng đến khi phát hiện bệnh giữa ung thư đại tràng phải, đại tràng trái và trực tràng không có ý nghĩa thống kê. Theo Nguyễn Kiến Dụ (2017) thời gian có triệu chứng đến khi phát hiện bệnh trung bình là 3,13 tháng; thời gian có triệu chứng đến khi phát hiện bệnh ở nhóm ung thư đại tràng phải là $2,93 \pm 2,38$ tháng, ung thư đại tràng trái là $2,75 \pm 2,49$ tháng, ung thư trực tràng là $3,59 \pm 3,10$ tháng [77].

Trong nghiên cứu của chúng tôi đa số các BN đến khám bệnh sau khi có triệu chứng đầu tiên ≤ 3 tháng (92,1%) trong đó 56,6% số BN đến khám bệnh trong 1 tháng đầu tiên khi có các triệu chứng bất thường. Tương tự các nghiên cứu trong thời gian gần đây, Theo nghiên cứu của Bùi Thị Ánh Tuyết (2017) cũng nhận thấy 92,3% bệnh nhân đến khám bệnh sau khi có triệu chứng đầu tiên < 6 tháng [83]. Theo Hoàng Mạnh Thắng (2022) có 85,5% BN nhập viện sau khi có triệu chứng trong vòng 6 tháng khi theo dõi 76 bệnh nhân ung thư đại trực tràng có chỉ định phẫu thuật triệt căn [91]. Điều này

chúng tỏ trình độ dân trí ngày càng tiến bộ, bệnh nhân đến khám bệnh tại các cơ sở y tế sớm ngay khi có các triệu chứng ban đầu.

4.1.1.5 Triệu chứng lâm sàng của nhóm bệnh nhân nghiên cứu

Chẩn đoán sớm là yếu tố quan trọng cải thiện thời gian sống của bệnh nhân ung thư đại trực tràng. Phần lớn bệnh nhân chậm trễ thực hiện các biện pháp khám sàng lọc ngay từ khi khởi phát các triệu chứng, đến khi có các triệu chứng gây tình trạng khó chịu ảnh hưởng đến cuộc sống hàng ngày mới đi khám thì phát hiện đã ở giai đoạn muộn. Các triệu chứng lâm sàng nổi bật của bệnh nhân có liên quan đến vị trí khối u. Thay đổi thói quen đi ngoài, rối loạn tiêu hóa táo lổn thất thường và đau bụng là dấu hiệu thường gặp ở ung thư đại tràng nhưng ở trực tràng thì dấu hiệu phân có máu, mót rặn, phân dẹt là các triệu chứng hay gặp nhất. Các triệu chứng hay gặp trên lâm sàng bao gồm đau bụng, phân lổn, phân táo, phân có máu, sụt cân, hoặc khi có tình trạng cấp cứu như bán tắc ruột hoặc tắc ruột, vỡ u gây viêm phúc mạc.

Trong nghiên cứu này, dấu hiệu đau bụng là triệu chứng lâm sàng phổ biến nhất chiếm 78,95% (120/152); ung thư đại tràng trái có tỷ lệ đau bụng chiếm 44,17% (53/120) cao hơn ung thư đại tràng phải 27,5% (33/120) và ung thư trực tràng là 28,33% (34/120). Dấu hiệu phân có máu là triệu chứng lâm sàng phổ biến thứ hai chiếm 55,92% (85/120), ung thư trực tràng có tỷ lệ phân có máu là 55,92% (85/120) cao hơn ung thư đại tràng trái 36,47% (31/85) và ung thư đại tràng phải 8,24% (7/85). Tiếp theo là các dấu hiệu phân lổn chiếm 31,58% (48/152), sụt cân 59,21% (90/152). Sự khác biệt về tỷ lệ các dấu hiệu lâm sàng phân lổn, thiếu máu, sụt cân và phân táo giữa ung thư đại tràng và ung thư trực tràng không có ý nghĩa thống kê. Kết quả nghiên cứu này tương tự như nghiên cứu của một số nghiên cứu trong nước đã công bố. Theo nghiên cứu của Ngô Thị Hoài (2022) các triệu chứng lâm

sàng thường gặp là đau bụng chiếm là 78,3%. Các triệu chứng đại tiện máu, đại tiện nhày có tỷ lệ thấp hơn lần lượt là 39,1% và 11,3%, cụ thể với nhóm UTĐTT là 50,8% và 23,3%. Triệu chứng gầy sút cân và mệt mỏi gặp với tỷ lệ là 17,9% và 11,6% [84]. Theo nghiên cứu của Bùi Thị Ánh Tuyết (2017) nhận thấy thấy đi ngoài ra máu và đau bụng là các triệu chứng cơ năng hay gặp nhất với các tỉ lệ tương ứng là 72,3% và 75,4%, kể đến là các triệu chứng cơ năng ít gặp hơn là táo bón 29,2%; bán tắc ruột 24,6% và tắc ruột 6,2% [83].

Do thói quen của người Việt Nam ít có ý thức về sàng lọc phát hiện sớm, hơn nữa các triệu chứng của bệnh không đặc hiệu nên tỉ lệ người bệnh UTĐTT tới khám và điều trị khi đã gầy sút tương đối cao. Trong nghiên cứu này tỉ lệ gầy sút gặp ở 59,21% bệnh nhân, tỉ lệ vào viện do bán tắc ruột/tắc ruột là 24,34% trong đó sự khác biệt giữa 3 nhóm vị trí u không có sự khác biệt, mặc dù tỉ lệ bệnh nhân vào viện do tình trạng bán tắc/tắc ruột ở đại tràng trái chiếm 75% cao hơn ở đại tràng phải (chỉ chiếm 25%). Nguyên nhân có thể do đặc điểm giải phẫu của đại tràng trái dài và di động nên dễ gây tắc ruột hơn so với các đoạn đại tràng khác.

4.1.2 Đặc điểm cận lâm sàng của đối tượng tham gia nghiên cứu

4.1.2.1 Đặc điểm u trên hình ảnh nội soi

- **Hình ảnh đại thể u trên nội soi**

Trong nghiên cứu của chúng tôi gặp khối u sùi tỉ lệ cao nhất 48,03% (73/152) và loét chiếm tỷ lệ thấp nhất 2,63% (4/152).

Từ 2017 trong nghiên cứu của Nguyễn Kiên Dụ với 96 bệnh nhân UTĐTT đã cho thấy trong nhóm bệnh nhân nghiên cứu tổn thương dạng sùi chiếm đa số 95,9%, không có sự khác biệt về tỷ lệ dạng tổn thương giữa đại tràng phải, đại tràng trái và trực tràng [77]. Theo Trịnh Lê Huy (2017) cũng thấy đa phần khối u dạng sùi chiếm 73%, có 14% dạng loét, chỉ có 4-5% dạng sùi loét, thâm nhiễm hoặc dạng polyp ung thư hoá [92]. Năm 2022 theo

Nguyễn Thị Hoài (2022) với 120 bệnh nhân ung thư đại trực tràng nhận thấy các khối ung thư nằm ở đại tràng phải thường gặp type 3 (dạng loét thâm nhiễm) với 42,2%, ung thư nằm ở bên trái thường là type 4 (dạng thâm nhiễm lan tỏa) với 36,2%, ung thư trực tràng chủ yếu là type 3 (dạng loét thâm nhiễm) với 35,7% và type 2 (dạng loét sùi) với 32,1%, tuy nhiên khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê [84]. Theo Fu B. (2018) nghiên cứu trên 98 bệnh nhân UTĐTT tại Trung Quốc có u dạng loét chiếm tỉ lệ cao nhất 45 (45,9%), sau đó là u dạng sùi 24,4% [93]. Như vậy về đại thể khối u trên nội soi cũng không thống nhất giữa các nghiên cứu, cho thấy hình thái u đại trực tràng rất đa dạng.

• **Kích thước u theo chu vi trên nội soi**

Nghiên cứu của chúng tôi khảo sát kích thước u so với chu vi lòng đại trực tràng: kích thước khối u có kích thước trên 3/4 chu vi đại trực tràng có tỷ lệ cao nhất là 40,13% (61/152), sự khác biệt về kích thước khối u với vị trí của khối u chưa thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Kết quả này cũng tương tự trong nghiên cứu của Nguyễn Kiến Dụ (2017) khi có tới 50% khối u kích thước lớn hơn 3/4 chu vi lòng đại trực tràng. Tương tự trong nghiên cứu của Bùi Ánh Tuyết (2017) cũng chỉ ra cụ thể trong tổng số 65 ca bệnh được thăm khám nội soi có tới 55,4% bệnh nhân không thể đưa được ống soi mềm đi qua do u đã chiếm hầu hết lòng đại trực tràng và một số trường hợp u ở vị trí khó và có nguy cơ thủng đại trực tràng nếu cố gắng đưa ống nội soi qua. Ngược lại, chỉ có 44,6% đưa ống soi qua được, trong đó 20% đưa qua dễ và 24,6% đưa ống qua được nhưng chậm phải kết hợp khéo léo giữa kỹ thuật soi và ép ngoài. Như vậy, trong nghiên cứu của Bùi Ánh Tuyết có đến trên 70% khối u chít hẹp quá $\frac{3}{4}$ chu vi. Trong nghiên cứu Trịnh Lê Huy (2017) đa phần khối u chiếm toàn bộ chu vi lòng ruột trên nội soi chiếm 86%, có 17 bệnh nhân có tình trạng ống soi không qua được,

như vậy có đến 91% bệnh nhân có đường kính u chiếm trên $\frac{3}{4}$ chu vi lòng ruột [92].

Mỗi nghiên cứu không có khả năng đại diện cho cả quần thể cư dân, vì số lượng bệnh nhân nghiên cứu không đủ lớn và phụ thuộc theo mục đích nghiên cứu nên nhóm đối tượng nghiên cứu cũng sẽ có đặc điểm khác nhau. Với những nghiên cứu về nhóm đối tượng có khả năng phẫu thuật triệt căn thì sẽ có giai đoạn sớm hơn. Trong nghiên cứu Hoàng Mạnh Thắng (2022) trên nhóm bệnh nhân ung thư trực tràng thấp còn khả năng phẫu thuật bảo tồn cơ thắt thì có 22,4% khối u nhỏ hơn $\frac{1}{4}$ chu vi, 50% khối u có kích thước $\frac{1}{4}$ đến $\frac{1}{2}$ chu vi, chỉ có 2,6% bệnh nhân có khối u lớn hơn $\frac{3}{4}$ chu vi, phần lớn khối u còn di động tốt.

4.1.2.2 Xét nghiệm nồng độ CEA

Kháng nguyên CEA là một dấu ấn sinh học được nghiên cứu cũng như được sử dụng phổ biến nhất hiện nay về vai trò trong chẩn đoán, phát hiện sớm, theo dõi đáp ứng điều trị, theo dõi tái phát di căn cho ung thư đại trực tràng. Các nghiên cứu chỉ ra ý nghĩa hạn chế của CEA trong chẩn đoán, phát hiện sớm ở nhóm bệnh nhân giai đoạn sớm vì xét nghiệm CEA có thể có độ đặc hiệu cao nhưng độ nhạy thì rất thấp. Theo Richard Palmqvist (2003) nghiên cứu vai trò CEA trong chẩn đoán thấy độ đặc hiệu 0,99 nhưng độ nhạy chỉ đạt 0,12 [94]. Do đó, CEA không được khuyến cáo là xét nghiệm sàng lọc UTĐTT trong các hướng dẫn điều trị [95]. Nồng độ CEA cao ($\text{CEA} > 5 \text{ ng/ml}$) trước phẫu thuật là yếu tố tiên lượng xấu với đáp ứng điều trị cũng như thời gian tái phát di căn sớm, và EGTM (European Group on Tumour Markers) hướng dẫn xét nghiệm định kì 3 tháng/lần trong ít nhất 3 năm đầu tiên cho BNUTĐTT sau điều trị phẫu thuật triệt căn và sau điều trị hệ thống [96].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tất cả 152 bn được xn CEA trước điều trị, có 75,8% bệnh nhân có $\text{CEA} > 5 \text{ ng/ml}$ và ở nhóm bệnh nhân giai đoạn 4. Nghiên cứu của chúng tôi có tỉ lệ CEA dương tính ở giai đoạn 4 cao hơn đáng

kể nghiên cứu của Bùi Ánh Tuyết (2017) có 58,5% bệnh nhân giai đoạn 4; có 21,5% bn giai đoạn 3. Tuy nhiên khi tính tổng các giai đoạn thì trong nghiên cứu của chúng tôi có 59,2% bệnh nhân có nồng độ CEA dưới 5 ng/ml, tương tự như trong nghiên cứu của Bùi Ánh Tuyết (2017) cũng thấy 56,9% bệnh nhân có nồng độ CEA dưới 5 ng/ml. Do đó phù hợp với hướng dẫn không sử dụng CEA để sàng lọc phát hiện UTĐTT.

4.1.2.3 Kích thước đại thể khối u

Trong nghiên cứu của chúng tôi có 94,9% (143/152) bệnh nhân được phẫu thuật triệt căn, do đó kích thước đại thể khối u với những bệnh nhân phẫu thuật triệt căn chúng tôi lấy số đo kích thước khối u trên mẫu bệnh phẩm do Bs giải phẫu bệnh đo và mô tả trong hình ảnh đại thể khối u ở kết quả giải phẫu bệnh. Còn nhóm bệnh nhân không thể phẫu thuật (9 bệnh nhân chiếm 5,9%) được chúng tôi căn cứ vào kết quả đo trên chẩn đoán hình ảnh. Kết quả thu được có tỷ lệ khối u kích thước trên 5 cm ở 38,8% , và không có sự khác biệt giữa các vị trí khối u. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có khác so với nghiên cứu của Phạm Văn Dũng (2024) nghiên cứu đặc điểm di căn hạch của 48 bệnh nhân ung thư đại tràng phải được phẫu thuật triệt căn tại Bệnh viện K trong năm 2023 thấy 60,4% bệnh nhân nhập viện có khối u kích thước > 5cm. Điều này cho thấy vấn đề sàng lọc phát hiện sớm ung thư của các nhóm đối tượng ở các nghiên cứu có khác nhau.

4.1.2.4 Đặc điểm phân loại giai đoạn bệnh TNM ung thư đại trực tràng

Đặc điểm giai đoạn bệnh theo TNM ở các nghiên cứu còn phụ thuộc vào mục tiêu nghiên cứu và số lượng mẫu của mỗi nghiên cứu.

Với những nghiên cứu đánh giá trên nhóm bệnh nhân có khả năng phẫu thuật triệt căn thì giai đoạn bệnh chủ yếu là giai đoạn sớm. Theo nghiên cứu Hoàng Mạnh Thắng (2022) đánh giá kết quả điều trị ung thư trực tràng thấp

bằng phẫu thuật nội soi bảo tồn cơ thắt ghi nhận 42,1% giai đoạn I, 18,4% giai đoạn II, 39,5% giai đoạn III [91].

Với những nghiên cứu đánh giá hiệu quả của thuốc điều trị đích và hoặc nghiên cứu về đặc điểm các đột biến gen *KRAS*, *BRAF* thì đặc điểm giai đoạn bệnh tỉ lệ cao là bệnh nhân giai đoạn IV. Theo Trịnh Lê Huy (2017) nghiên cứu kết quả điều trị UTĐTT di căn bằng hoá chất phác đồ FOLFOXIRI thì có 89,4% bệnh nhân có giai đoạn khối u T4, chỉ có 10,3% khối u giai đoạn T3 [92]. Theo Bùi Ánh Tuyết (2017) nghiên cứu đặc điểm gen *KRAS*, *BRAF* trên 65 BNUTĐTT có 58,5% bệnh nhân giai đoạn IV, 21,5% giai đoạn III, 16,9% giai đoạn II và 3,1% giai đoạn I [83]. Theo Ngô Thị Hoài (2022) nghiên cứu 335 bệnh nhân polyp và UTĐTT thấy nhóm BNUTĐTT giai đoạn III chiếm tỷ lệ cao nhất 33,3%, không ghi nhận mối liên quan giữa phân loại TNM [84].

Tuy nhiên về tổng thể đánh giá tình trạng phân bố chung cần có đánh giá tổng quát thông qua các nghiên cứu dịch tễ lớn. Theo Lê Đình Dương (2021) nghiên cứu hồi cứu về thời gian sống còn của nhóm 536 bệnh nhân UTĐTT tại TP Huế nhận thấy có 5,97% giai đoạn I, 20,71% giai đoạn II, 21,27% giai đoạn III, 13,06% giai đoạn IV, 38,99% không rõ giai đoạn [97]. Trên thế giới theo thống kê của Rebecca (2023) tại Mỹ khảo sát trên 153 020 bệnh nhân UTĐTT thấy phân bố theo tỉ lệ 33% giai đoạn tại chỗ, 38% giai đoạn tại vùng, 21% giai đoạn di căn xa, 8% không xác định rõ giai đoạn [87]. Trong nghiên cứu về đặc điểm *mSEPT9* trong UTĐTT nên chúng tôi không chủ định chọn nhóm bệnh nhân giai đoạn nào hơn, mà chọn ngẫu nhiên nhóm bệnh nhân trong 1 khoảng thời gian nghiên cứu thì ghi nhận phân bố 19,7% giai đoạn I, 25,7% giai đoạn II, 32,9% giai đoạn III, 21,7% giai đoạn IV và không thấy sự khác biệt giữa các vị trí khối u khác nhau.

Như vậy, mặc dù tỉ lệ giai đoạn bệnh có khác nhau giữa nhiều nghiên cứu và khảo sát dịch tễ các vùng miền khác nhau ở Việt Nam cũng như trên thế giới nhưng nhìn chung phần lớn người bệnh được chẩn đoán ở thời điểm

phát hiện bệnh đầu tiên là ở giai đoạn tiến triển tại chỗ tại vùng hoặc di căn xa. Do đó, cần thấy yêu cầu cấp bách của phát triển các phương pháp xét nghiệm sàng lọc phát hiện sớm bệnh lý UTĐTT.

4.1.2.5 Đặc điểm mô bệnh học

- **Thể giải phẫu bệnh**

Trong nghiên cứu này chúng tôi phân loại mô học ung thư đại trực tràng theo WHO 2019. Theo phân loại phần lớn ung thư biểu mô đại trực tràng là ung thư biểu mô tuyến, tiếp theo là ung thư biểu mô tuyến chế nhày, các thể còn lại chiếm tỉ lệ thấp.

Nghiên cứu này của chúng tôi, UTĐTT typ biểu mô tuyến chiếm tỷ lệ cao nhất 82,9%, gặp ở vị trí đại tràng phải 68,6%, đại tràng trái 82%, trực tràng 92,9%, các dạng vi thể khác của UTĐTT có tỷ lệ thấp hơn là ung thư tuyến chế nhày (5,9%), ung thư tế bào nhẵn (0,7%), ung thư thể tuỷ (0,7%). Trong nghiên cứu của chúng tôi thấy có mối liên quan giữa các dạng thể mô bệnh học và độ biệt hoá khối u UTĐTT với vị trí khối u.

Kết quả trên của chúng tôi cũng khá tương đồng với kết quả của các tác giả nghiên cứu trong nhiều năm gần đây ở Việt Nam cũng như trên thế giới.

Năm 2016, Akman T. và cs nghiên cứu trên các BN UTĐTT với đặc điểm vi thể ung thư biểu mô tuyến chiếm 89,6%, chỉ có 10,4% là ung thư biểu mô tuyến nhày [98]. Năm 2017, trong nghiên cứu của Bùi Ánh Tuyết cũng nhận thấy tỷ lệ 84,6% UTBT tuyến, 13,9% UTBT tuyến chế nhày, 1,5% UTBT tuyến không biệt hoá [83]. Năm 2022, Ngô Thị Hoài cũng thấy có 86,7% bệnh nhân UTĐTT là dạng ung thư biểu mô tuyến, 10% ung thư biểu mô tuyến nhày, 0,8% ung thư biểu mô tế bào nhẵn và cũng không thấy mối liên quan giữa dạng vi thể khối u với vị trí khối ung thư [95].

Trên thế giới, năm 2021, Zhu L. và cs đã có 1 nghiên cứu về đặc điểm lâm sàng, giải phẫu bệnh và thời gian sống còn của nhóm ung thư biểu mô tế bào nhẵn, ung thư biểu mô tế bào nhày của UTĐTT. Nghiên cứu lấy từ cơ sở

dữ liệu SEER (1973-2011) tổng hợp được 741 207 BNUTĐTT trong đó phân bố về đặc điểm mô bệnh học gồm có 90,6% bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến không phải dạng nhày, 8,6% bệnh nhân ung thư biểu mô nhày, 0,8% bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào nhẵn. Nghiên cứu đã chỉ ra ung thư biểu mô tế bào nhẵn có tỷ lệ sống sót kém nhất trong cả 3 phân nhóm mô học của UTĐTT [99]. Năm 2023, theo Benesch G. và cs nghiên cứu về mối liên quan về vị trí khối u với tiên lượng kết quả của ung thư biểu mô tế bào nhày của UTĐTT. Nghiên cứu lấy dữ liệu từ cơ sở dữ liệu SEER của viện Ung thư Quốc gia Hoa Kỳ từ 1992 – 2016 trên tổng số 444 655 bệnh nhân UTĐTT thì thấy có 88,6% bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến, 11,4% bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến nhày [100].

Đặc biệt, trong số các bệnh nhân được chẩn đoán sau mổ là ung thư biểu mô tuyến chế nhày thì chỉ có số bệnh nhân được chẩn đoán trước mổ là UT biểu mô tuyến chế nhày, còn lại trước mổ đều được chẩn đoán là ung thư biểu mô tuyến. Tương tự như trong nghiên cứu của Hoàng Thị Cúc (2016) trong tổng số 112 trường hợp UTĐTT thể chế nhày được chẩn đoán sau mổ thì chỉ có 8/112 trường hợp (7,1%) có sự tương đồng với giải phẫu bệnh trước mổ. Sự không tương đồng này có thể do kinh nghiệm của nhà giải phẫu, nhưng hầu hết là do các bệnh phẩm trước mổ đều là bệnh phẩm sinh thiết nội soi kích thước không đủ lớn. Đây cũng là những hạn chế và khó khăn của chẩn đoán trước mổ [101].

Như vậy, dù tỉ lệ phân bố các nhóm giải phẫu bệnh không thực sự tương đồng giữa các nghiên cứu nhưng nhìn chung ung thư biểu mô tuyến luôn là thể mô bệnh học chiếm tỷ lệ cao nhất trong các quần thể UTĐTT.

• Độ ác tính

Trong nghiên cứu của chúng tôi sử dụng phân độ biệt hoá của ung thư tuyến theo 2 độ theo AJCC gồm độ ác tính thấp (biệt hoá cao và vừa $\geq 50\%$ hình thành tuyến) và độ ác tính cao ($< 50\%$ hình thành tuyến). Đối với ung

thư biểu mô tế bào nhẵn và ung thư biểu mô chế nhày cũng được xếp vào độ ác tính cao. Trong bệnh lý UTĐTT tỷ lệ BN có phân độ mô bệnh học mức độ ác thấp chiếm trên 80% trong đó ung thư biểu mô tuyến biệt hoá vừa chiếm khoảng 70% cao hơn tỷ lệ BN có tế bào mức độ ác tính cao chiếm khoảng 20% [33]. Trong nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy có 12,5% số BN có độ ác tính thấp và 3,3% số BN có độ ác tính cao, trong đó nhóm BN ung thư biểu mô tuyến mức độ biệt hoá vừa chiếm tỷ lệ cao nhất 84,2% và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi phân nhóm theo vị trí khối u nguyên phát.

Theo Trịnh Lê Huy (2017) trong nghiên cứu 39 BNUTĐTT di căn thì thấy có 66,7% BN UTBMT biệt hoá vừa (độ ác tính thấp) và 33,3% BN độ ác tính cao là ung thư biểu mô tuyến chế nhày trong đó ung thư biểu mô tuyến chế nhày có tỷ lệ di căn phúc mạc cao hơn nhiều so với ung thư biểu mô tuyến biệt hoá vừa ($p < 0.001$). Theo Ngô Kiến Dụ (2017) cũng thấy mức độ phân bố mức độ biệt hoá vừa có tỷ lệ cao nhất là 82,1% (119/145), biệt hoá cao 10,3% (15/145), biệt hoá mức độ thấp có tỷ lệ thấp nhất là 7,6% (11/145), phân độ mô bệnh học không liên quan với vị trí khối u. Theo Nguyễn Thị Hoài (2022) cũng thấy phân bố khối UTĐTT độ biệt hoá mức độ vừa với 53,3% ở đại tràng phải, 76,6% ở đại tràng trái và 82,1% ở trực tràng. Ung thư ở vị trí đại tràng phải có tỷ lệ ung thư kém biệt hóa cao hơn so với các khối ung thư nằm ở đại tràng trái và trực tràng, khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Như vậy cũng như nhiều các nghiên cứu, nghiên cứu của chúng tôi cũng thấy phần lớn BN ung thư biểu mô tuyến, độ biệt hoá vừa. Với các thể ung thư kém biệt hoá và ung thư tế bào nhẵn thường tiên lượng xấu, tỷ lệ tái phát và di căn sớm. Do vậy, việc đánh giá chính xác về vi thể và mức độ biệt hóa của UTĐTT là rất quan trọng và có nhiều ý nghĩa trong việc xác định lựa chọn phương pháp điều trị, đáp ứng điều trị, tiên lượng bệnh, thời gian sống thêm, khả năng di căn xa và nguy cơ tái phát.

4.2 Xác định giá trị chẩn đoán và mối liên quan của mSEPT9 huyết tương với đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng bệnh nhân ung thư đại trực tràng bằng kỹ thuật PCR với mẫu dò khoá kéo dài chuỗi

4.2.1 Độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán dương tính, giá trị tiên đoán âm tính của dấu ấn mSEPT9 huyết tương trong chẩn đoán UTĐTT

Độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán dương tính (PPV) và giá trị tiên đoán âm tính (NPV) là các chỉ số chính để đánh giá hiệu suất của một xét nghiệm. Từ năm 2005 đến nay, mSEPT9 đã được chứng minh là một dấu ấn sinh học đặc hiệu của UTĐTT trong khoảng 20 năm và được sử dụng trong lâm sàng trong hơn 16 năm [102]. Các nghiên cứu đã chứng minh đây là phương pháp chính xác, đáng tin cậy, nhanh chóng và thuận tiện cho UTĐTT.

Năm 2023, theo Liang M. và cs đã thực hiện phân tích gộp 79 nghiên cứu cho thấy xét nghiệm mSEPT9 trong chẩn đoán UTĐTT có giá trị AUC là 0,879, với độ nhạy là 0,679 (95% CI: 0,622–0,732), độ đặc hiệu là 0,903 (95% CI: 0,878–0,923) và DOR là 20,121 (95% CI: 14,404–28,106). Đặc biệt, độ nhạy phát hiện ở giai đoạn sớm còn nhiều hạn chế 45% ở giai đoạn I, 70% giai đoạn II [103]. Như vậy, mSEPT9 thể hiện sự thay đổi về độ nhạy và độ đặc hiệu. Giá trị độ nhạy dao động trong các nghiên cứu tổng hợp từ các phân tích gộp cho thấy từ 50,9% đến 93,1%, trong khi giá trị độ đặc hiệu dao động từ 62,2% đến 93,8%. Sự thay đổi này nhấn mạnh tầm quan trọng của việc thiết lập các giao thức thử nghiệm nghiêm ngặt, cũng như nhu cầu về các phương pháp chuẩn hóa để đảm bảo tính nhất quán và độ tin cậy [104].

Độ nhạy của xét nghiệm mSEPT9 trong sàng lọc chẩn đoán UTĐTT đặc biệt là độ nhạy trong phát hiện giai đoạn sớm và các tổn thương tiền UTĐTT đã có nhiều cải thiện theo sự phát triển của các kỹ thuật xét nghiệm được công bố trong những nghiên cứu gần đây. Một số nhà khoa học nghiên cứu đa gen methyl hoá như Yuan L. và cs (2023) đã sử dụng 3 gen có độ đặc hiệu và độ nhạy cao nhất là *SEPTIN9*, *AXL4*, *SDC2* đã tăng cường đáng kể

khả năng phát hiện các tổn thương tiền ung thư và đạt được độ chính xác là 87,8% (95% CI 82,9-91,5), độ nhạy là 82,7% (95% CI 71,8-90,1) và độ đặc hiệu là 90,1% (95% CI 84,3-93,9) [105]. Hơn nữa, tỷ lệ phát hiện các tổn thương tiền ung thư của xét nghiệm này đạt 55,0% (95% CI 38,7-70,4). Theo Petit J. và cs (2023) khi kết hợp sự hiện diện của 4 gen methyl hoá *SDC2*, *NPY*, *IKZF1* và *SEPT9* tổng cộng có 537 người tham gia đã được phân tích. Các gen *SDC2* / *NPY* cho thấy độ nhạy là 33–54% và độ đặc hiệu là 72–96%, trong khi các gen *IKZF1* / *SEPT9* cho thấy độ nhạy là 19–42% và độ đặc hiệu là 88–96% [106]. Việc kết hợp hai xét nghiệm không làm tăng đáng kể độ chính xác của xét nghiệm. Độ nhạy đối với u tuyến tiền triển là 2%–15%. Có sự khác biệt đáng kể về tần suất phát hiện methyl hóa giữa những người tham gia mắc UTĐTT và những người không mắc UTĐTT. Tuy nhiên, cả độ nhạy lẫn độ đặc hiệu đều không vượt trội so với các xét nghiệm sàng lọc chẩn đoán hiện tại. Mặc dù, sự kết hợp tình trạng methyl hoá đa gen như vậy đòi hỏi chi phí xét nghiệm cao và sự cải thiện độ nhạy trong các nghiên cứu cũng chưa thấy sự ưu việt rõ ràng, đòi hỏi cần nhiều nghiên cứu trên số lượng số mẫu đại diện cao. Đồng thời qua các nghiên cứu kết hợp đa gen, các nghiên cứu cũng chỉ ra độ nhạy xét nghiệm với m*SEPT9* vẫn đạt độ nhạy cao nhất do đó m*SEPT9* vẫn là 1 dấu hiệu methyl hoá có giá trị cao nhất trong chẩn đoán sàng lọc UTĐTT.

Một số nhà nghiên cứu đã nghiên cứu tìm phương pháp có thể cải thiện độ nhạy của xét nghiệm đơn gen *SEPT9* nhằm tăng độ nhạy của xét nghiệm m*SEPT9* trong chẩn đoán UTĐTT mục đích khắc phục nhược điểm độ nhạy thấp ở giai đoạn sớm của xét nghiệm Epioprocolon thế hệ 2 hiện nay đồng thời cũng để giảm chi phí xét nghiệm so với hướng đi xét nghiệm đa gen.

Nghiên cứu của chúng tôi tập trung vào xét nghiệm đơn gen m*SEPT9*. Chúng tôi tiến hành nghiên cứu trong 3 năm từ 2021 đến 2024, thu thập 152 mẫu máu ngoại vi của BNUTĐTT ở tất cả các giai đoạn, 92 người khoẻ

mạnh. Điểm mới về kỹ thuật xét nghiệm sử dụng kỹ thuật semi – nested realtime PCR sử dụng mẫu dò khoá có khả năng kéo dài chuỗi (Extendable Blocking Probes – ExBPs) giúp làm giàu một cách có chọn lọc các trình tự DNA đã bị methyl hoá bằng cách ngăn chặn hiệu quả sự khuếch đại của DNA chưa bị methyl hoá. Điều này là một trong những cơ sở chính giúp kỹ thuật semi – nested realtime PCR này cải thiện độ nhạy rất tốt so với phương pháp truyền thống. Trong khi kỹ thuật HeavyMethyl phát hiện DNA đã methyl hoá trong nền DNA chưa methyl hoá ở tỷ lệ 1:1000, tương ứng với giới hạn phát hiện 0,1%, phương pháp của chúng tôi đẩy giới hạn này lên 0,01%. Sự gia tăng này gấp 10 lần về độ nhạy làm nổi bật tiềm năng của phương pháp xét nghiệm semi – nested realtime PCR sử dụng ExBPs trong việc phát hiện mức methyl hoá cực thấp, điều này rất quan trọng đối với việc phát hiện và theo dõi ung thư giai đoạn đầu. Sau mỗi chu kỳ khuếch đại tiêu chuẩn, phân tích đường cong nóng chảy DNA được thực hiện để xác định nhiệt độ nóng chảy của sản phẩm PCR ở 78-78.8 độ C. Như vậy kết quả phương pháp PCR trong nghiên cứu dựa vào melting đỉnh nóng chảy của phản ứng PCR.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy giá trị chẩn đoán phân biệt UTĐTT so với người khoẻ mạnh ở mức tốt $AUC = 0,827$; $p < 0.0001$; với độ nhạy 76,3%, độ đặc hiệu 89,1%, giá trị tiên đoán dương tính 92,1%, giá trị tiên đoán âm tính 62,1%. Đồng thời, khi so sánh với độ nhạy khả năng phát hiện UTĐTT theo giai đoạn bệnh thì thấy *mSEPT9* có khả năng phát hiện vượt trội hơn hẳn so với chỉ số CEA đang được sử dụng phổ biến hiện nay. Đặc biệt tỷ lệ phát hiện *mSEPT9* cao nhất ở giai đoạn 4 (90,9%) ; tỷ lệ *mSEPT9* dương tính cao gấp 2 lần so với CEA đối với giai đoạn II (71,8% *mSEPT9* dương tính so với 38,5% CEA dương tính), giai đoạn III (84% *mSEPT9* dương tính so với 38% CEA dương tính). Đáng chú ý ở giai đoạn I có 53,3% bệnh nhân có *mSEPT9* dương tính trong khi đó chỉ có 10% bệnh nhân phát hiện được CEA dương tính. Như vậy, khi so sánh kết quả này với

những kết quả được báo cáo về xét nghiệm *mSEPT9* sử dụng các bộ xét nghiệm thương mại trước đó chúng tôi nhận thấy.

Trong nghiên cứu của deVos Th. và cs (2009) xét nghiệm *mSEPT9* sử dụng kỹ thuật HeavyMethyl đã đạt được độ nhạy 68% và độ đặc hiệu 89%, trong nghiên cứu gồm 97 BNUTĐTT và 172 đối chứng khỏe mạnh được xác minh bằng nội soi đại tràng [107]. Kết quả của chúng tôi đạt được độ nhạy cao hơn (68% so với 76,31%) và độ đặc hiệu tương tự (89% so với 89,13%).

Trong những nghiên cứu gần đây như nghiên cứu của Sun J. và cs (2019) khi xét nghiệm *mSEPT9* sàng lọc và chẩn đoán cho 600 trường hợp trên 40 tuổi có nguy cơ cao mắc UTĐTT, 50 BNUTĐTT trước điều trị, cho thấy độ nhạy và độ đặc hiệu của *mSEPT9* là 73,0% và 94,5%, AUC 0,835 [73]. Nghiên cứu của chúng tôi đạt độ nhạy cao hơn nhưng độ đặc hiệu thấp hơn so với nghiên cứu này có thể do trong nghiên cứu này tỉ lệ số lượng BNUTĐTT và nhóm có yếu tố nguy cơ cao chênh lệch khá lớn, phân bố không tương đồng như nghiên cứu của chúng tôi.

Theo nghiên cứu của Lu P. và cs (2022) khi nghiên cứu 616 BNUTĐTT và 122 các cá nhân không có bằng chứng về bệnh. Các mẫu huyết tương và huyết thanh được thu thập để phân tích *mSEPT9*, kháng nguyên carcinoembryonic (CEA) và kháng nguyên carbohydrate-19-9 (CA19-9). Kết quả nghiên cứu cho thấy *mSEPT9* đạt được độ nhạy và độ đặc hiệu tổng thể là 72,94% và 81,97%, tương ứng, với giá trị diện tích dưới đường cong AUC là 0,826, cao hơn so với CEA (độ nhạy: 43,96%; độ đặc hiệu: 96,72%; AUC: 0,789) và CA19-9 (độ nhạy: 14,99%; độ đặc hiệu: 96,61%; AUC: 0,590) [72]. Sự kết hợp của *mSEPT9*, CEA và CA19-9 cải thiện hơn nữa độ nhạy, độ đặc hiệu và giá trị AUC (độ nhạy: 78,43%; độ đặc hiệu: 86,07%; AUC: 0,878), tương ứng [72]. Nghiên cứu này đạt được độ nhạy (72,94% so với 76,31%) và độ đặc hiệu (81,97% so với 89,13%) thấp hơn nghiên cứu của chúng tôi. Khi kết hợp với CEA, CA19-9 đòi hỏi chi phí xét nghiệm lớn hơn đã đạt được độ

nhạy cao hơn nghiên cứu của chúng tôi (78,43% so với 76,31%) nhưng độ đặc hiệu vẫn thấp hơn (86,07% so với 89,13%). Tất cả các nghiên cứu trên đều sử dụng kỹ thuật HeavyMethyl với bộ xét nghiệm thương mại. Không giống như kỹ thuật HeavyMethyl dựa vào các đầu dò được sửa đổi tổn kém, xét nghiệm PCR của chúng tôi sử dụng các đoạn mồi tiêu chuẩn mà không cần thiết kế đầu dò đất tiền hoặc các nucleotide được sửa đổi. Điều này không chỉ đơn giản hóa việc thiết lập xét nghiệm mà còn có khả năng giảm chi phí, giúp phương pháp này dễ tiếp cận hơn cho các ứng dụng lâm sàng lớn hơn.

Năm 2023, theo tác giả Sabine L. và cs tại Đức trên nhóm 120 BNUTĐTT khi so sánh độ nhạy của *mSEPT9* so với các dấu ấn sinh học khác cũng nhận thấy *mSEPT9* có khả năng vượt trội trong việc xác định BNUTĐTT so với CEA và CA 19-9, với tỷ lệ phát hiện lần lượt là 57%, 32% và 18% [90]. Việc kết hợp cả ba dấu ấn sinh học đã làm tăng độ nhạy chung lên 66% trước phẫu thuật. Khi xem xét giai đoạn và trạng thái giai đoạn khối u, *mSEPT9* cho thấy độ nhạy cao hơn ở tất cả các giai đoạn so với các dấu ấn khối u thông thường và 65% bệnh nhân có di căn được xác định sau phẫu thuật thông qua *mSEPT9*.

Năm 2024, tác giả Youming W. và cs cũng đi theo hướng phát triển kỹ thuật đơn gen, nghiên cứu này nhằm mục đích phát triển một xét nghiệm methyl hóa Septin9 đa kênh mới (ColonUSK) đánh giá đồng thời hai phân vùng giàu CpG trong vùng khởi động của gen *SEPT9* và một đối chứng nội bộ trong một phản ứng duy nhất [108]. ColonUSK đã chứng minh độ nhạy tăng lên, với giới hạn phát hiện thấp tới 12pg DNA dương tính so với xét nghiệm *mSEPT9* nhắm vào một phân vùng giàu CpG. 1366 đối tượng đã được tuyển dụng theo triển vọng từ bốn bệnh viện đa khoa ở Trung Quốc trong một nghiên cứu sàng lọc để đánh giá giá trị của xét nghiệm này trong việc phát hiện UTĐTT. Xét nghiệm này cho thấy độ nhạy lâm sàng trong chẩn đoán UTĐTT và u tuyến tiền liệt ở tỷ lệ lần lượt là 77,34% và 25,26%.

Hơn nữa, ColonUSK thể hiện mức độ đặc hiệu cao đối với các trường hợp không phải UTĐTT (95,95%) về mặt lâm sàng. Đáng kể, tỷ lệ phát hiện các trường hợp tân sinh biểu mô nội mô cấp độ cao tăng lên 54,29%. Giá trị của xét nghiệm trong xét nghiệm Kappa là 0,76, cho thấy mức độ nhất quán cao giữa ColonUSK và tiêu chuẩn vàng lâm sàng. Phân tích dưới nhóm theo giai đoạn thì tỉ lệ dương tính *mSEPT9* ở giai đoạn I (63,11%), giai đoạn 2 (75,19%).

Tác giả Qunfang H. và cs (2024) đã phát triển phương pháp PCR kỹ thuật số (dPCR) dựa trên chip vi lưu phù hợp với các mẫu có nồng độ thấp, nhằm mục đích ứng dụng để phát hiện *mSEPT9* trong chẩn đoán UTĐTT [109]. Phương pháp dPCR được sửa đổi bằng cách sử dụng các đoạn mồi và đầu dò đặc hiệu với các acid nucleic bị khoá (LNA probes with locked nucleic acids) cho thấy phạm vi tuyến tính là $10^0 - 10^4$ bản sao/ μL và giới hạn phát hiện là 10^0 bản sao/ μL . Thử nghiệm lâm sàng cho thấy phương pháp dPCR của tác giả có độ nhạy là 82,11% và độ đặc hiệu là 95,65% đối với chẩn đoán UTĐTT, vượt trội hơn bộ dụng cụ qPCR thương mại (độ nhạy: 58,95%, độ đặc hiệu: 91,30%), đặc biệt là ở Giai đoạn I với độ nhạy chẩn đoán là 90,91%. Kết hợp *mSEPT9* và kháng nguyên phôi thai (CEA) đã cải thiện độ nhạy chẩn đoán lên 91,49%. Tuy nhiên nghiên cứu này thực hiện trên số mẫu còn hạn chế 95 BNUTĐTT và 23 người xác định không có bệnh lý UTĐTT do đó với kết quả về độ nhạy cũng như độ đặc hiệu cần phải được kiểm chứng trên số mẫu lớn hơn mới đảm bảo độ tin cậy.

4.2.2 Mối liên quan về đặc điểm mSEPT9 trước điều trị với các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của nhóm bệnh nhân nghiên cứu

Trong các nghiên cứu chúng tôi đã điều tra mối liên quan giữa tình trạng *mSEPT9* trước điều trị và các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng bệnh lý của BNUTĐTT.

Chúng tôi nhận thấy rằng tình trạng *mSEPT9* trước điều trị chưa có sự khác biệt khi phân nhóm theo giới tính, theo độ tuổi, theo nhóm tiền sử mắc bệnh mạn tính, theo nhóm các triệu chứng lâm sàng bao gồm tình trạng đau bụng, rối loạn tiêu hoá, phân lẫn máu, tình trạng bán tắc ruột, gày sút cân; phân nhóm theo vị trí khối u (đại tràng phải, đại tràng trái, trực tràng); đặc điểm đại thể khối u trên nội soi (loét, sùi, thâm nhiễm); đặc điểm vi thể khối u (giải phẫu bệnh khối u, độ mô học khối u, mức độ xâm nhập mạch máu thần kinh, diện cắt sau phẫu thuật), theo phân nhóm ổn định vi vệ tinh. Điều thú vị, chúng tôi nhận thấy tình trạng *mSEPT9* trước điều trị có thể được phát hiện ở tất cả các giai đoạn và tỷ lệ dương tính của *mSEPT9* có liên quan đáng kể đến giai đoạn TNM nói chung với tỷ lệ phát hiện *mSEPT9* ở giai đoạn I là 53,3%, tỉ lệ này tăng dần 71,8% (giai đoạn II), 84% (giai đoạn III) và 90,9% (giai đoạn IV) với $p = 0,003$. Tỷ lệ dương tính của *mSEPT9* cao hơn đáng kể ở những bệnh nhân có giai đoạn TNM muộn so với những BN ở giai đoạn sớm. Khi phân tích nhận thấy những BN có *mSEPT9* dương tính có nguy cơ là ung thư giai đoạn muộn di căn hạch hoặc di căn xa cao gấp 3,719 lần so với nhóm *mSEPT9* âm tính ($OR = 3,719$, $p < 0,001$). Độ nhạy cao nhất (90,9%) đối với bệnh giai đoạn IV, phù hợp với đa số các nghiên cứu cho thấy độ nhạy cao hơn đối với những bệnh nhân có bệnh giai đoạn II–IV. Điều đó có nghĩa là *mSEPT9* dường như có hiệu quả phát hiện cao hơn đối với UTĐTT giai đoạn muộn so với giai đoạn sớm. Hơn nữa, *mSEPT9* hoạt động nổi bật như một tham số hỗ trợ phân loại và mức độ methyl hóa DNA đã được chứng minh là tăng lên theo giai đoạn UTĐTT tiến triển. Phân tích sâu hơn cho thấy rằng tình trạng dương tính của *mSEPT9* cũng lớn hơn đáng kể ở những bệnh nhân có giai đoạn T tiến triển hơn (giai đoạn T1: 36,4%, giai đoạn T2: 71,0%, giai đoạn T3: 78,8%, giai đoạn T4a: 81,4%, giai đoạn T4b: 93,3%), giai đoạn N (N1: 84,0%, N2: 89,7%), giai đoạn M (M1: 90,9%). Đồng thời, trong nghiên cứu của chúng tôi cũng nhận thấy đặc điểm biểu hiện *mSEPT9* trước điều trị

có sự khác biệt khi phân nhóm theo nồng độ CEA trước điều trị, hay phân nhóm theo kích thước chiều dài khối u và đường kính khối u.

Kết quả nghiên cứu này của chúng tôi cũng có khá nhiều điểm tương đồng cũng như một số điểm khác biệt với các nghiên cứu khác ở thời điểm hiện tại. Tương tự như các nghiên cứu Jie S. và cs (2021) khi nghiên cứu đánh giá mối liên quan giữa đặc điểm mSEPT9 với các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng, đặc điểm sinh học phân tử của 297 BNUTĐTT, các mẫu máu xét nghiệm mSEPT9 cũng được lấy trước điều trị và sau phẫu thuật triệt căn 7 ngày, và theo dõi trong 2 năm sau điều trị [110]. Trong nghiên cứu này tác giả cũng nhận thấy không có mối tương quan nào giữa mSEPT9 với giới tính, vị trí khối u cũng như đặc điểm giải phẫu bệnh, độ biệt hoá khối u, đồng thời cũng nhận thấy mSEPT9 dương tính máu ngoại vi liên quan đến giai đoạn TNM, tổng thể tích khối u, và tình trạng bất ổn định vi vệ tinh. Tuy nhiên, trong khi nhận thấy sự khác biệt có ý nghĩa giữa mSEPT9 dương tính với giai đoạn khối u (Tumor), giai đoạn di căn xa (M), nhưng trong phân nhóm giai đoạn hạch N1, N2 thì chưa thấy sự khác biệt. Đặc biệt nghiên cứu này đi sâu nghiên cứu được mối liên quan của mSEPT9 với các đặc điểm đột biến gen *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*, *TP53* và tình trạng vi vệ tinh (MMR) nhận thấy tình trạng mSEPT9 dương tính liên quan đến mất biểu hiện gen đặc hiệu dMMR đặc biệt là gen *MLH1*, nồng độ mSEPT9 có liên quan đến đột biến *BRAF*, *PIK3CA* do đó nhận thấy tình trạng mSEPT9 dương tính làm tăng tình trạng tiên lượng xấu cho nhóm BNUTĐTT có tình trạng dMMR giai đoạn III, và đột biến *BRAF/PIK3CA* giai đoạn III-IV. Trong khi đó, nghiên cứu của chúng tôi mới chỉ đánh giá được tình trạng MMR của 26 bệnh nhân trên tổng số 152 BN và chưa nhận thấy sự khác biệt ở cả 2 nhóm MSS và MSI-H.

Năm 2022, theo nghiên cứu của Lu P. và cs (2022) nghiên cứu 616 BNUTĐTT và 122 các cá nhân không có bằng chứng về bệnh đã được cũng nhận thấy tỷ lệ dương tính mSEPT9 có liên quan đáng kể với giai đoạn TNM,

giai đoạn T, giai đoạn N, kích thước khối u, xâm lấn mạch máu và xâm lấn thần kinh ở những BNUTĐTT [72]. Trong nghiên cứu của chúng tôi thì chưa thấy sự liên quan giữa tỉ lệ *mSEPT9* dương tính với đặc điểm xâm lấn mạch và thần kinh của khối u.

Năm 2023, theo nghiên cứu của Sabine L. và cs (2023) tại Đức trên nhóm 120 BNUTĐTT cũng nhận thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa tình trạng biểu hiện *mSEPT9* với đặc điểm độ tuổi, giới tính, độ tuổi trung bình giữa nhóm dương tính với *mSEPT9* và âm tính với *mSEPT9* [90]. Đồng thời, nghiên cứu này cũng nhận thấy *mSEPT9* có giá trị chẩn đoán cao ở nhóm bệnh nhân có khối u tiến triển (T4) hoặc giai đoạn di căn xa.

Năm 2024, theo nghiên cứu của Rong L. và cs (2024) cho thấy mối liên hệ giữa các đặc điểm lâm sàng và bệnh lý với *mSEPT9* ở 130 BNUTĐTT [111]. Tương tự như nghiên cứu của chúng tôi cũng nhận thấy tuổi, giới tính và vị trí khối u của BNUTĐTT không thay đổi đáng kể trong giai đoạn trước phẫu thuật giữa nhóm *mSEPT9* âm tính và dương tính ($p > 0,05$) và sự khác biệt giữa giai đoạn TNM phân nhóm giai đoạn khu trú tại chỗ tại vùng (giai đoạn I, II) so với nhóm tiến triển và di căn xa (giai đoạn III, IV) với $p = 0,002$, mức độ biểu hiện CEA với ngưỡng cut off 5 ng/ml trước phẫu thuật có ý nghĩa thống kê đáng kể ở cả hai nhóm ($p < 0,001$). Tuy nhiên, phân nhóm theo mức độ biệt hóa giữa nhóm biệt hoá kém so với nhóm biệt hoá tốt – trung bình với $p = 0,004$, trong khi đó nghiên cứu của chúng tôi chưa nhận thấy sự khác biệt này. Theo Quian S. và cs (2024) cũng nhận thấy không có mối liên hệ đáng kể nào được tìm thấy giữa tỷ lệ dương tính với *mSEPT9* và tuổi, sự biệt hóa ung thư, di căn hạch bạch huyết, xâm lấn mạch máu, xâm lấn thần kinh, hoặc loại ung thư [112]. Trong khi đó, tỷ lệ dương tính của *mSEPT9* cao hơn đáng kể ở những BN có giai đoạn TNM tiến triển hơn (giai đoạn I: 53,5%, giai đoạn II: 76,5%, giai đoạn III: 72,3%, giai đoạn IV: 88,9%) so với những bệnh nhân có giai đoạn ít tiến triển hơn, độ nhạy cao nhất

(88,9%) đối với bệnh giai đoạn IV. Khi phân tích dưới nhóm cho thấy rằng tính dương tính của mSEPT9 cũng lớn hơn đáng kể ở những bệnh nhân có giai đoạn T tiến triển hơn (giai đoạn T1: 12,5%, giai đoạn T2: 71,7%, giai đoạn T3: 74,8%, giai đoạn T4: 66,7%) so với những bệnh nhân có giai đoạn ít tiến triển hơn, nhưng không có mối quan hệ đáng kể nào giữa trạng thái mSEPT9 và giai đoạn N, giai đoạn M, kích thước khối u. Trong khi, nghiên cứu của chúng tôi thấy rõ sự khác biệt về tỷ lệ mSEPT9 dương tính khi phân nhóm theo giai đoạn N và M, và theo kích thước cũng như đường kính khối u. Theo Qiusan khi phân tích hồi quy logistic đa biến cũng cho thấy tình trạng mSEPT9 dương tính, CEA, CA 19-9 và PLR là yếu tố dự đoán độc lập nguy cơ UTĐTT, trong nghiên cứu của chúng tôi không thực hiện được phân tích này do sự đồng bộ thực hiện các xét nghiệm này còn chưa đầy đủ.

4.3 Đánh giá độ biến động của dấu ấn mSEPT9 huyết tương trước và sau điều trị UTĐTT giai đoạn III.

Trong nghiên cứu của chúng tôi tiến hành lấy máu xét nghiệm mSEPT9 sau phẫu thuật ngày thứ 7 cho BNUTĐTT giai đoạn III là nhóm được phẫu thuật triệt căn và điều trị hỗ trợ sau phẫu thuật. BN được theo dõi dọc đánh giá thời điểm tiến triển tái phát, di căn, thời điểm tử vong do các nguyên nhân nếu có trong vòng 2 năm.

Kết quả chúng tôi nhận thấy trong số 42 BNUTĐTT có mSEPT9 huyết tương dương tính trước khi phẫu thuật, 25 BN chuyển sang âm tính 1 tuần sau phẫu thuật, 17 BN dương tính liên tục và 8 BN âm tính liên tục cả trước và sau phẫu thuật. Tỷ lệ dương tính với mSEPT9 huyết tương trong tuần sau phẫu thuật giảm đáng kể so với giai đoạn trước phẫu thuật (84% so với 34%), với sự thay đổi có ý nghĩa thống kê ($p = 0,027$). Phân tích sự khác biệt về tình trạng mSEPT9 trước điều trị theo các phân nhóm thì thấy không có sự khác biệt theo các phân nhóm nhưng với đặc điểm mSEPT9 sau điều trị nhận thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê theo giai đoạn u, typ giải phẫu bệnh

khối u, diện cắt khối u. Phân tích mối liên quan giữa tình trạng *mSEPT9* sau phẫu thuật với tình trạng tiến triển sau phẫu thuật triệt căn ở nhóm BNUTĐTT giai đoạn III thì thấy những BN sau phẫu thuật triệt căn có tình trạng *mSEPT9* dương tính có nguy cơ tái phát và di căn cao gấp 7 lần so với nhóm *mSEPT9* âm tính sau phẫu thuật ($OR = 7, p < 0,05$). Kết quả phân tích đường cong ROC cho thấy *mSEPT9* sau điều trị có giá trị tiên đoán tình trạng tiến triển sau phẫu thuật triệt căn ở mức độ khá tốt ($AUC = 0,725$, $CI\ 95\% 0,542 - 0,908$; $p < 0,05$) trong khi đó phân tích đường cong ROC cho thấy *mSEPT9* trước phẫu thuật không có ý nghĩa trong tiên đoán tình trạng tiến triển của nhóm BNUTĐTT giai đoạn III sau phẫu thuật triệt căn với $AUC = 0,6$; $p > 0,05$. Khi kết hợp tình trạng dương tính của *mSEPT9* trước và sau phẫu thuật có giá trị tiên đoán tình trạng tiến triển sau phẫu thuật triệt căn ở mức độ khá tốt ($AUC = 0,755$, $CI\ 95\% 0,597 - 0,913$; $p < 0,05$); Phân tích đường cong Kaplan – Meier về thời gian PFS ở nhóm BNUTĐTT giai đoạn III sau phẫu thuật triệt căn với đặc điểm *mSEPT9* sau điều trị nhận thấy PFS của nhóm BN có *mSEPT9* sau điều trị dương tính ngắn hơn đáng kể so với nhóm có *mSEPT9* âm tính sau điều trị. Khi phân tích đường Kaplan – Meier kết hợp tình trạng biểu hiện *mSEPT9* trước điều trị và sau điều trị cho thấy PFS ở nhóm *mSEPT9* dương tính cả trước và sau điều trị phẫu thuật triệt căn ngắn hơn đáng kể. Trong nghiên cứu 17 BN có *mSEPT9* dương tính cả trước và sau điều trị, 8 BN có *mSEPT9* âm tính cả trước và sau điều trị. Kết quả nghiên cứu ghi nhận 42 BN có tình trạng *mSEPT9* trước điều trị dương tính sau phẫu thuật triệt căn chuyển sang âm tính. Thời gian PFS ở các nhóm khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (kiểm định Log Rank). Phân tích đa biến cho thấy rằng *mSEPT9* dương tính sau phẫu thuật triệt căn ($HR: 10,738$; $95\% CI: 1,18 - 97,69$, $p < 0,05$), là yếu tố độc lập có tính dự báo PFS ngắn hơn đáng kể ở nhóm BNUTĐTT. Tuy nhiên khi phân tích giá trị tiên đoán của *mSEPT9* sau phẫu thuật với OS thì chưa ghi nhận có ý nghĩa thống kê.

Nghiên cứu của chúng tôi bước đầu thu được kết quả khá tương đồng với một số nghiên cứu trên thế giới về vai trò *mSEPT9* trước và sau phẫu thuật có ý nghĩa tiên lượng, theo dõi tái phát, di căn sớm khi BN chưa có triệu chứng lâm sàng cũng như chưa phát hiện được trên chẩn đoán hình ảnh.

Năm 2022, trong nghiên cứu của Yuan và cộng sự (2022) đã nghiên cứu đánh giá vai trò *mSEPT9* phát hiện tái phát và trong lựa chọn hóa trị hỗ trợ [75]. Nghiên cứu này thu nhận 426 BNUTĐTT giai đoạn II-III đã được phẫu thuật cắt bỏ triệt để. Kết quả cho thấy: BNUTĐTT giai đoạn II-III, sau phẫu thuật (trong vòng 1 tháng sau phẫu thuật) dương tính với *mSEPT9* có liên quan đáng kể với PFS kém hơn ($HR=6,21, p < 0,001$) và *mSEPT9* vẫn là yếu tố dự báo độc lập mạnh nhất trong nghiên cứu đa biến Cox phân tích hồi quy ($HR=5,83, p < 0,001$), vượt trội đáng kể so với CEA, CA19-9 và CA24-2. Trong quá trình theo dõi bệnh, kết quả dương tính với *mSEPT9* xảy ra trước khi phát hiện tái phát trên chẩn đoán hình ảnh trung bình là 5,0 tháng. Bệnh nhân dương tính với *mSEPT9* sau phẫu thuật điều trị hiệu quả hơn với phác đồ CAPEOX so với FOLFOX ($HR=3,97, p = 0,017$), trong khi đối với bệnh nhân âm tính với *mSEPT9*, CAPEOX và FOLFOX đạt được PFS tương tự ($HR=1,70, p=0,322$). Hơn nữa, 3 tháng CAPEOX hiệu quả hơn 3 và 6 tháng FOLFOX ($HR=4,40, p=0,065$; $HR=1,56, p = 0,073$, tương ứng). Kết quả nghiên cứu này cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của chúng tôi về vai trò *mSEPT9* sau phẫu thuật có thể xác định bệnh còn sót lại ở mức tối thiểu và có thể dự đoán nguy cơ tái phát cao ở BNUTĐTT giai đoạn II-III. Hơn nữa, nghiên cứu này cũng phân tích sâu cho thấy vai trò *mSEPT9* sau phẫu thuật có thể được sử dụng để hướng dẫn lựa chọn phác đồ hóa trị liệu hỗ trợ để cải thiện PFS.

Trong nghiên cứu của Mingliang H. và cs (2022) nghiên cứu 144 BNUTĐTT trong đó có 94 BN giai đoạn II và giai đoạn III đánh giá về giá trị tiên lượng nguy cơ tái phát di căn sau phẫu thuật của *mSEPT9* nhận thấy BN

giai đoạn II và giai đoạn III có mSEPT9 dương tính có PFS thấp hơn so với những BN có mSEPT9 âm tính với tỷ lệ PFS sau 2 năm là 52,1% so với 73,9%, $p = 0,014$ [113]. Trong phân tích hồi quy đa biến, mSEPT9 dương tính sau phẫu thuật cũng là một yếu tố dự báo tiên lượng độc lập ($HR = 2,741$, $p = 0,009$). Nguy cơ tái phát tại chỗ hoặc di căn xa ở BNUTĐTT sau phẫu thuật là mSEPT9 dương tính ở giai đoạn III, mSEPT9 âm tính ở giai đoạn III, mSEPT9 dương tính ở giai đoạn II và mSEPT9 âm tính ở giai đoạn II ($p = 0,001$) có xu hướng giảm dần. Nghiên cứu của chúng tôi tập trung phân tích ở nhóm BN giai đoạn III cũng ghi nhận nguy cơ tiến triển tái phát di căn ở nhóm mSEPT9+ sau phẫu thuật cao gấp 7 lần nhóm mSEPT9 âm tính với $p = 0,021$.

Năm 2023, theo Hua G. và cs đã tiến hành nghiên cứu theo dõi dọc 208 BNUTĐTT trong đó có nhóm 93 BN được phẫu thuật triệt căn và xét nghiệm mSEPT9 sau phẫu thuật 3 ngày, trong đó có 77 BN có mSEPT9 âm tính, 16 BN dương tính sau phẫu thuật [114]. Kết quả theo dõi ghi nhận trong nhóm 77 BN có mSEPT9 âm tính có 4 BN tiến triển di căn và 73 BN không di căn trong quá trình theo dõi; trong nhóm 16 BN dương tính mSEPT9 sau phẫu thuật thì có 13 BN di căn, 3 BN không tiến triển di căn trong quá trình theo dõi. Như vậy, tỷ lệ di căn ở BN có mSEPT9 dương tính sau phẫu thuật là 81,25% (13/16), tỷ lệ di căn ở BN có mSEPT9 âm tính sau phẫu thuật là 5,19% (4/77). Như vậy, tỷ lệ tiến triển di căn ở nhóm BN có mSEPT9 dương tính sau phẫu thuật cao hơn nhiều so với nhóm BN có mSEPT9 âm tính. Trong nghiên cứu của chúng tôi cũng thu được kết quả 41,2% (7/17) BN tiến triển tái phát di căn trong nhóm mSEPT9 dương tính sau phẫu thuật cao hơn có ý nghĩa so với 9,1% (3/33) BN có tiến triển trong nhóm mSEPT9 âm tính. Trong nghiên cứu của Hua G. còn phân tích so sánh với khả năng phát hiện tái phát di căn của CEA sau phẫu thuật thì nhận thấy độ nhạy, độ đặc hiệu của mSEPT9 là 83,3%, 97,7% còn CEA là 61,1%, 89,5%, như vậy, với kết quả

này cho thấy theo dõi sự tái phát di căn trong UTĐTT độ nhạy, độ đặc hiệu của *mSEPT9* cao hơn CEA. Nghiên cứu của chúng tôi chưa xét nghiệm đủ CEA sau phẫu thuật cho nhóm bệnh nhân nên chưa đánh giá được, do đó cần bổ sung trong nghiên cứu sau này.

Vai trò của *mSEPT9* trong đánh giá tình trạng tái phát, di căn, tử vong ở BNUTĐTT không chỉ được đánh giá ở giai đoạn bệnh khu trú tại chỗ tại vùng còn khả năng phẫu thuật triệt căn được mà còn được chứng minh có ý nghĩa trong dự báo khả năng tiến triển, di căn, tử vong ở nhóm BN giai đoạn di căn. Tại ASCO thường niên năm 2023 (American Society of Clinical Oncology), theo Megan P. H. và cs đã có thông nhất về vai trò *mSEPT9* huyết tương dự đoán PFS và OS ở BNUTĐTT di căn [115]. Một nhóm BNUTĐTT gồm 70 BN biểu hiện bệnh ở giai đoạn IV hoặc bị bệnh tái phát. Các mẫu máu được lấy trước hoặc trong vòng 2 tuần sau khi bắt đầu điều trị và 1-2 tháng sau đó trong hai năm hoặc cho đến khi tử vong. Mức *mSEPT9* được đo trong huyết tương bằng Epi-proColon V2.0 (Epigenomics). Phân tích đơn biến và đa biến các điểm cuối lâm sàng, PFS và OS, được tiến hành bằng mô hình hồi quy Cox với CEA và *mSEPT9* là các biến phụ thuộc thời gian, có và không có điều chỉnh cho nhiều yếu tố gây nhiễu (giới tính, tuổi, chủng tộc, cơ quan di căn, hóa trị tân bổ trợ và tân sinh, liệu pháp miễn dịch, phẫu thuật, sửa chữa không khớp, tình trạng đột biến *KRAS* và *BRAF*). Kết quả ghi nhận Trong phân tích đơn biến, mức ctDNA cao hơn, di căn phức tạp, di căn phụ khoa và di căn gan bổ sung có liên quan đến PFS kém. CEA tăng cao không liên quan đến PFS dưới dạng biến liên tục hoặc biến phân loại (ngưỡng 10ng/mL). Trong phân tích đa biến, mức ctDNA cao hơn (HR: 1,41; 95% CI: 1,17-1,71; $p < 0,001$) vẫn liên quan đến PFS kém sau khi điều chỉnh theo hóa trị bổ trợ và di căn phức tạp. CEA vẫn không liên quan đến PFS. Trong phân tích đơn biến, mức CEA cao, mức ctDNA *mSEPT9* cao, hóa trị tân bổ trợ, giới tính nam và di căn phức tạp có liên quan đến OS kém. Trong phân tích

đa biến, mức CEA cao hơn (HR: 1,63; 95% CI: 1,12-2,36; $p = 0,011$) và ctDNA mSEPT9 (HR: 1,50; 95% CI: 1,22-1,84; $p < 0,001$) vẫn liên quan đến OS kém sau khi điều chỉnh theo giới tính và di căn phúc mạc. Như vậy, mSEPT9, một dấu hiệu sinh học phổ biến của UTĐTT, là một yếu tố dự báo độc lập của PFS trong khi CEA thì không. Mức độ cao của cả CEA và mSEPT9 ctDNA là những yếu tố dự báo độc lập của OS, cho thấy mSEPT9 ctDNA đã thêm giá trị cho CEA trong việc đánh giá OS. Xét nghiệm mSEPT9 ctDNA có thời gian phản hồi nhanh và dễ thực hiện trong các phòng xét nghiệm bệnh lý chẩn đoán phân tử, do đó có thể đóng vai trò là một xét nghiệm bổ sung có giá trị cho CEA để xét nghiệm thường xuyên trong bối cảnh UTĐTT di căn. Nghiên cứu của chúng tôi tập trung đánh giá cho BNUTĐTT giai đoạn III được lấy mẫu máu sau phẫu thuật, chưa triển khai được trên nhóm BN tái phát di căn như trong nghiên cứu nên cần bổ sung thêm trong giai đoạn nghiên cứu tiếp theo.

Năm 2024, theo Rong L. và cs (2024) nghiên cứu nhóm 130 BNUTĐTT, trong đó tiến hành xét nghiệm và theo dõi cho nhóm 30 bệnh nhân UTĐTT 1 tuần trước phẫu thuật và 7 ngày sau phẫu thuật, cũng nhận thấy trong số 20 BN có mSEPT9 huyết tương dương tính trước khi phẫu thuật, 13 BN chuyển sang âm tính 1 tuần sau phẫu thuật, 7 BN liên tục dương tính và 10 BN liên tục âm tính, và tỷ lệ dương tính với mSEPT9 huyết tương trong tuần sau phẫu thuật giảm đáng kể so với giai đoạn trước phẫu thuật (23,33% so với 66,67%), với sự thay đổi có ý nghĩa thống kê [111]. PFS và OS ngắn hơn ở nhóm dương tính với mSEPT9 trước phẫu thuật, nghĩa là tình trạng mSEPT9 trước phẫu thuật là yếu tố nguy cơ tái phát và tiên lượng UTĐTT ($p < 0,05$). Độ nhạy, độ đặc hiệu và giá trị AUC của nồng độ mSEPT9 và CEA trước phẫu thuật để dự đoán tái phát sau phẫu thuật ở BNUTĐTT lần lượt là 88% so với 72%, 56,19% so với 55,24% và 0,721 so với 0,636, giá trị AUC của dự đoán kết hợp về tái phát sau phẫu thuật là

0,758. Nghiên cứu của chúng tôi trên nhóm 50 BN cũng được xét nghiệm mSEPT9 vào các thời điểm tương đồng với nghiên cứu này nhận thấy mSEPT9 sau điều trị có giá trị tiên đoán tình trạng tiến triển sau phẫu thuật triệt căn ở mức độ khá tốt (AUC = 0,725, CI 95% 0,542 – 0,908; $p < 0,05$) trong khi đó phân tích đường cong ROC cho thấy mSEPT9 trước phẫu thuật không có ý nghĩa trong tiên đoán tình trạng tiến triển của nhóm BNUTĐTT giai đoạn III sau phẫu thuật triệt căn với AUC = 0,6; $p > 0,05$. Nhưng khi kết hợp với tình trạng dương tính của mSEPT9 sau phẫu thuật có giá trị tiên đoán tình trạng tiến triển sau phẫu thuật triệt căn ở mức độ khá tốt (AUC = 0,755, CI 95% 0,597 – 0,913; $p < 0,05$).

Trong nghiên cứu của Rong L. khi phân tích đa biến cho thấy rằng mSEPT9 dương tính (HR: 5,143, 95% CI: 1,425–18,559, $p < 0,05$), giai đoạn TNM (HR: 11,49, 95% CI: 1,515–87,136, $p < 0,05$) là các yếu tố độc lập có tính dự báo cho PFS ở BNUTĐTT. mSEPT9 dương tính với CEA > 5 ng/ml cũng là một yếu tố nguy cơ độc lập có tính dự báo (HR: 2,788, 95% CI: 1,167–6,662). Hơn nữa, phân tích sống còn Kaplan-Meier cho thấy rằng PFS của các trường hợp có CEA trước phẫu thuật lớn hơn 5 ng/ml và dương tính với mSEPT9 ngắn hơn đáng kể so với các trường hợp có CEA ≤ 5 ng/ml và âm tính với mSEPT9 ($p < 0,01$). Phân tích đa yếu tố cho thấy những BN có giai đoạn TNM muộn (HR: 14,957, 95% CI: 1,849–120,956, $p < 0,05$), CEA > 5 ng/ml và bệnh nhân dương tính với mSEPT9 (HR: 5,321, 95% CI: 1,702–16,636, $p < 0,05$) có tiên lượng xấu hơn, đây là yếu tố nguy cơ dự báo độc lập đối với bệnh nhân UTĐTT. Trong nghiên cứu của chúng tôi, khi phân tích đa biến cho thấy rằng mSEPT9 dương tính sau phẫu thuật triệt căn (HR: 10,738, 95% CI: 1,418 – 117,917, $p < 0,05$), là yếu tố độc lập có tính dự báo cho PFS ngắn hơn đáng kể ở nhóm BNUTĐTT. Tuy nhiên khi phân tích giá trị tiên đoán của mSEPT9 sau phẫu thuật với nguy cơ tử vong thì chưa phát hiện thấy có ý nghĩa thống kê.

Tóm lại, dựa trên số lượng lớn các nghiên cứu trên cho thấy vai trò của *mSEPT9* trong huyết tương của BNUTĐTT được khẳng định là cần thiết và khắc phục được những điểm khó khăn thời điểm hiện tại từ bước sàng lọc phát hiện sớm, chẩn đoán, đánh giá đáp ứng điều trị và theo dõi phát hiện sớm nguy cơ tái phát, di căn, là yếu tố tiên đoán độc lập về thời gian PFS cũng như OS ở BNUTĐTT ở tất cả các giai đoạn bệnh.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu vai trò dấu ấn mSEPT9 trong máu ngoại vi bằng kỹ thuật PCR sử dụng đầu dò khoá có khả năng kéo dài chuỗi với 152 BNUTĐTT và 92 người khoẻ mạnh tham gia, chúng tôi rút ra kết luận sau:

1. Xác định giá trị chẩn đoán và mối liên quan của mSEPT9 huyết tương với đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng bệnh nhân ung thư đại trực tràng bằng kỹ thuật PCR với mẫu dò khoá kéo dài chuỗi

- Kết quả xét nghiệm mSEPT9 đạt được độ nhạy 76,3% với khoảng tin cậy 95%: 68,75-82,82, độ đặc hiệu 89,1% với khoảng tin cậy 95%: 80,91-94,66. Giá trị tiên đoán dương tính đạt 92,06% với 95%CI: 86,52-95,44; giá trị tiên đoán âm tính đạt 69,49% với 95%CI: 62,92-75,35.

- Xét nghiệm mSEPT9 có giá trị chẩn đoán UTĐTT phân biệt với nhóm người khoẻ mạnh ở mức tốt với AUC đạt 0,827 với $p < 0,0001$, khoảng tin cậy 95% (77,3% - 88,2%). Bệnh nhân phát hiện mSEPT9 dương tính có nguy cơ bị UTĐTT cao gấp 26,42 lần so với nhóm mSEPT9 âm tính (OR = 26,42, $p < 0,05$).

- Trong mối liên quan giữa tình trạng mSEPT9 trong huyết tương với các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa tình trạng mSEPT9 dương tính khi phân nhóm theo chiều dài u đại thể, đường kính khối u, giai đoạn bệnh TNM, giai đoạn khối u, giai đoạn hạch, giai đoạn di căn xa, tình trạng CEA trước điều trị. BNUTĐTT có mSEPT9 dương tính cho thấy nguy cơ ung thư ở giai đoạn muộn di căn hạch hoặc di căn xa cao gấp 3,719 lần so với nhóm mSEPT9 âm tính (OR = 3,719, $p < 0,001$).

2. Đặc điểm độ biến động mSEPT9 trước và sau điều trị triệt căn ở nhóm BNUTĐTT giai đoạn III

- Tỷ lệ dương tính với mSEPT9 huyết tương trong tuần sau phẫu thuật giảm đáng kể so với trước phẫu thuật (84% so với 34%), sự thay đổi có ý nghĩa thống kê ($p = 0,027$)

- Phân tích sự khác biệt về tình trạng mSEPT9 ở nhóm BNUTĐTT giai đoạn III theo các phân nhóm giai đoạn khối u, đặc điểm typ giải phẫu bệnh ghi nhận không có sự khác biệt với đặc điểm mSEPT9 trước điều trị, ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với tình trạng biểu hiện mSEPT9 sau phẫu thuật.

- BNUTĐTT giai đoạn III sau phẫu thuật triệt căn có mSEPT9 dương tính có nguy cơ tái phát và di căn cao gấp 7 lần so với nhóm mSEPT9 âm tính sau phẫu thuật ($OR = 7, p < 0.05$).

- mSEPT9 sau điều trị có giá trị tiên đoán tình trạng tiến triển sau phẫu thuật triệt căn ở mức độ khá tốt ($AUC = 0,725$, $CI\ 95\% 0,542 - 0,908$; $p < 0,05$). Khi kết hợp với mSEPT9 dương tính trước phẫu thuật có giá trị tiên đoán tình trạng tiến triển sau phẫu thuật triệt căn ở mức độ khá tốt ($AUC = 0,755$, $CI\ 95\% 0,597 - 0,913$; $p < 0,05$);

- Thời gian PFS ở BNUTĐTT giai đoạn III sau phẫu thuật triệt căn với mSEPT9 sau điều trị thấy PFS của nhóm BN có mSEPT9 dương tính sau điều trị ngắn hơn đáng kể so với nhóm có mSEPT9 âm tính sau điều trị. Thời gian PFS ở các nhóm khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (kiểm định Log Rank).

- mSEPT9 dương tính sau phẫu thuật triệt căn ($HR: 10,738$; $95\% CI: 1,18 - 97,69$, $p < 0,05$), là yếu tố độc lập có tính dự báo cho PFS ngắn hơn đáng kể ở nhóm BNUTĐTT mSEPT9 dương tính sau phẫu thuật. Phân tích giá trị tiên đoán của mSEPT9 sau phẫu thuật với nguy cơ tử vong thì chưa phát hiện thấy có ý nghĩa thống kê.

KIẾN NGHỊ

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi đã chứng minh được giá trị dấu ấn *mSEPT9* trong máu ngoại vi bằng phương pháp PCR thế hệ mới trong chẩn đoán UTĐTT phân biệt với người khỏe mạnh, đặc biệt khẳng định vai trò của *mSEPT9* được sử dụng như một dấu ấn sinh học hiệu quả để theo dõi tái phát và tiên lượng sau phẫu thuật đối với UTĐTT và kết hợp với xét nghiệm CEA cải thiện đáng kể hiệu quả chẩn đoán cũng như theo dõi tình trạng tiến triển tái phát, di căn ở UTĐTT. Những phát hiện này khuyến khích việc tích hợp xét nghiệm *mSEPT9* vào thực hành lâm sàng thường quy và tạo tiền đề cho nghiên cứu rộng hơn.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU CỦA TÁC GIẢ ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Linh Thuy Duong, Trang Thuy Dao, Hoai Thi Bui, Ung Dinh Nguyen, Ung Tien Hoang, Duc Viet Tran, Ba Van Nguyen, and Tho Huu Ho** (2024). “Innovative Semi-Nested Realtime PCR Assay with Extendable Blocking Probe for Enhanced Analysis of *SEPT9* Methylation in Colorectal Cancer”. *Biomedinines*, 12, 1458. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12071458>.
2. **Dương Thuỳ Linh, Nguyễn Văn Ba, Hồ Hữu Thọ** (2024). “Nghiên cứu phát hiện methyl hoá gen *SEPT9* ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng bằng phương pháp Semi – Nested PCR phân tích phổ tuyến tính”. *Tạp chí Y học Việt Nam*, tập 545, tháng 12, số chuyên đề 2024, tr 488 - 497.
3. **Dương Thuỳ Linh, Vũ Anh Hải, Nguyễn Văn Hùng, Hồ Hữu Thọ, Nguyễn Văn Ba** (2025). “Nghiên cứu giá trị của methyl hoá gen *SEPT9* huyết tương trong chẩn đoán ung thư đại trực tràng”. *Tạp chí Y Dược học Quân sự*, tập 50, số 5/2025, tr 97 – 106. ISSN 1859 – 0748. <https://doi.org/10.56535/jmpm.v50i5.1266>
4. **Dương Thuỳ Linh, Hồ Viết Hoàn, Nguyễn Khánh Vân, Hồ Hữu Thọ, Nguyễn Văn Ba** (2025). “Nghiên cứu đặc điểm methyl hoá gen *SEPT9* huyết tương trước và sau phẫu thuật triệt căn ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng giai đoạn III”. *Tạp chí Y Dược học Quân sự*, tập 50, số 6/2025, tr 100 – 108. ISSN 1859 – 0748. <https://doi.org/10.56535/jmpm.v50i6.1276>.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bray F., Laversanne M., Sung H., et al. (2024) Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *International Agency for Research on Cancer*. 74(3):229-63.
2. Miller K. D., Nogueira L., Devasia T., et al. (2022) Cancer treatment and survivorship statistics, 2022. *CA Cancer J Clin*.72(5):409-36.
3. Ganesh K., Stadler Z. K., Cercek A., et al. (2019) Immunotherapy in colorectal cancer: rationale, challenges and potential. *Gastroenterology and Hepatology*. 16(6):361-75.
4. Ferlizza E., Solmi R., Sgarzi M., et al. (2021) The roadmap of colorectal cancer screening. *Cancer Res*.13(5):1101.
5. Ogunwobi O. O., Mahmood F., Akingboye A.. (2020) Biomarkers in Colorectal Cancer: Current Research and Future Prospects. *International Journal of Molecular Sciences*. 21(15):5311.
6. Gao X., Liu H., Yu J., et al. (2023) DNA methylation biomarkers for early detection of gastric and colorectal cancers. *Cancer Biology and Medicine*. 20(12):955.
7. Jin P., Kang Q., Wang X., et al. (2015) Performance of a second-generation methylated *SEPT9* test in detecting colorectal neoplasm. *Gastroenterology and Hepatology*. 30(5):830-3.
8. Ferlay J., Ervk M., Lam F., et al. (2024) Global Cancer Observatory Cancer Today .https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&group_populations=1&cancers=41.
9. World Health Organization. (2024) Tình hình bệnh ung thư tại Việt Nam theo Globocan 2022

<https://nci.vn/public/image/2024/03/27/6db27284b660f41945588369613558e3.png>.

10. De Vera Mary A., Gill S., Ashamalla S., et al. (2022) Early-age-onset colorectal cancer in Canada: Evidence, issues and calls to action. *MDPI*; 21(8): 136 - 46
11. Davidson K. W., Barry M. J., Mangio C. M., et al. (2021) Screening for colorectal cancer: US Preventive Services Task Force recommendation statement. 325(19):1965-77.
12. Nguyen H. T., Duong H. Q., (2018) The molecular characteristics of colorectal cancer: Implications for diagnosis and therapy. *Oncol Lett.* 16(1):9-18.
13. Fearon E. R., Vogelstein B. (1990) A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell.* 61(5):759-67.
14. Lengauer C., Kinzler K. W., Vogelstein B. (1998) Genetic instabilities in human cancers. *Nature.* 396(6712):643-9.
15. Wood L. D., Parsons D. W., Jones S., et al. (2007) The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers. *Science.* 318(5853):1108-13.
16. Wang H., Guo M., Wei H., et al. (2023) Targeting p53 pathways: mechanisms, structures, and advances in therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy.* 8(1):92.
17. Zhu G., Pei L., Xia H., et al. (2021) Role of oncogenic KRAS in the prognosis, diagnosis and treatment of colorectal cancer. *Molecular Cancer.* 20(1):143.
18. Taieb J., Svrcek M., Cohen R., et al. (2022) Deficient mismatch repair/microsatellite unstable colorectal cancer: Diagnosis, prognosis and treatment. *European Journal of Cancer.* 175:136-57.

19. Pećina-Šlaus N., Kafka A., Salamon I., et al. (2020) Mismatch repair pathway, genome stability and cancer. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 7:122.
20. Chen Ch., Wang Z., Ding Y., et al. (2022) DNA methylation: from cancer biology to clinical perspectives. *Frontiers in Bioscience Landmark*. 27(12):326.
21. Toyota M., Ahuja N., Ohe-Toyota M., et al. (1999) CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 96(15):8681-6.
22. Ogino S., Cantor M., Kawasaki T., et al. (2006) CpG island methylator phenotype (CIMP) of colorectal cancer is best characterised by quantitative DNA methylation analysis and prospective cohort studies. *Gastrointestinal Cancer*. 55(7):1000-6.
23. Boland C. R., Goel A. (2010) Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology*. 138(6):2073-87.e3.
24. Shen L., Toyota M., Kondo Y., et al. (2007) Integrated genetic and epigenetic analysis identifies three different subclasses of colon cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 104(47):18654-9.
25. Trần Văn Hiếu và cs. (2000) Ung thư học. *Nhà xuất bản Y học, Hà Nội*.
26. Kato H., Sakamoto T., Otsuka H., et al. (2012) Endoscopic diagnosis and treatment for colorectal cancer. *Colorectal cancer—from prevention to patient care InTech*: 327-48.
27. Han C., Tang X., Yang M., et al. (2022) How useful is endoscopic ultrasound in differentiating T3/T4a T stage of colorectal cancer: A prospective study. *Frontiers in Oncology*. 11:618512.
28. Shkurti J., van den Berg K., van Erning Felice N., et al. (2023) Diagnostic accuracy of CT for local staging of colon cancer: A

- nationwide study in the Netherlands. *European Journal of Cancer*. 193:113314.
29. Xiao Y., Li J., Zhong J., et al. (2022) Diagnostic Performance of Diffusion-Weighted Imaging for Colorectal Cancer Detection: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Oncology*. 12:656095.
 30. Yukimoto R., Uemura M., Tsuboyama T., et al. (2022) Efficacy of PET/CT in diagnosis of regional lymph node metastases in patients with colorectal cancer: retrospective cohort study. *BJS Open*. 6(4):zrac090.
 31. Ahadi M., Sokolova A., Brown I., et al. (2021) The 2019 World Health Organization Classification of appendiceal, colorectal and anal canal tumours: an update and critical assessment. *Pathology*. 53(4):454-61.
 32. Hamilton SR., Aaltonen LA. (2000). Pathology and genetics of tumours of the digestive system. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. *IARC Press*. 6(4) 101-22.
 33. Fleming M., Ravula S., Tatishchev S. F., et al. (2012) Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. *Journal of gastrointestinal oncology*. 3(3):153.
 34. Jinn-Shiun C., Kuei-Tien C., Wen-Chun F., et al. (2010) Combined analysis of survivin autoantibody and carcinoembryonic antigen biomarkers for improved detection of colorectal cancer. *Clin Chem Lab Med*. 48(5):719-25.
 35. Đặng Công Thuận. (2012) Nghiên cứu mối liên quan giữa nồng độ CEA và các đặc điểm lâm sàng, giải phẫu bệnh trong ung thư biểu mô đại trực tràng. *Tạp chí Y Dược học - Trường Đại học Y Dược Huế*, 9:86-96.
 36. Edition S., Edge S., Byrd D., (2017). AJCC cancer staging manual. *Springer*.
 37. Schmoll H. J., Van C. E., Stein A., et al. (2012) ESMO Consensus Guidelines for management of patients with colon and rectal cancer. a

- personalized approach to clinical decision making. *Ann Oncol*.23(10):2479-516.
38. Figueredo A., Coombes M. E., Mukherjee S. (2008) Adjuvant therapy for completely resected stage II colon cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008(3):Cd005390.
 39. O'Connor E. S., Greenblatt D. Y., LoConte N. K., et al. (2011) Adjuvant chemotherapy for stage II colon cancer with poor prognostic features. *J Clin Oncol*. 29(25):3381-8.
 40. Jonker D. J., Spithoff K., Maroun J. (2011) Adjuvant systemic chemotherapy for Stage II and III colon cancer after complete resection: an updated practice guideline. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 23(5):314-22.
 41. Shiovitz S., Bertagnolli M. M., Renfro L. A., et al. (2014) CpG island methylator phenotype is associated with response to adjuvant irinotecan-based therapy for stage III colon cancer. *Gastroenterology*.147(3):637-45.
 42. Grothey A., Sobrero A. F., Shields A. F., et al. (2018) Duration of Adjuvant Chemotherapy for Stage III Colon Cancer. *N Engl J Med*. 378(13):1177-88.
 43. Siebenhüner A., (2020). Targeting the Tumor in Colorectal Cancer—Where do we Stand with Precision Medicine in 2020. *Healthbook TIMES Oncology Hematology* . 5(3):60-9.
 44. Shaukat A., Mongin S. J., Geisser M. S., et al. (2013) Long-term mortality after screening for colorectal cancer. *N Engl J Med*. 369(12):1106-14.
 45. Bailey J. R., Aggarwal A., Imperiale T. F. (2016) Colorectal Cancer Screening: Stool DNA and Other Noninvasive Modalities. *Gut Liver*.10(2):204-11.
 46. Baxter N. N., Warren J. L., Barrett M. J., et al. (2012) Association between colonoscopy and colorectal cancer mortality in a US cohort

- according to site of cancer and colonoscopist specialty. *J Clin Oncol*. 30(21):2664-9.
47. Zauber A. G., Winawer S. J., O'Brien M. J., et al. (2012) Colonoscopic polypectomy and long-term prevention of colorectal-cancer deaths. *N Engl J Med*. 366(8):687-96.
 48. Simon K., (2016) Colorectal cancer development and advances in screening. *Clinical interventions in aging*. 967-76.
 49. Imperiale T. F, Ransohoff D. F., Itzkowitz S. H., et al. (2014) Multitarget stool DNA testing for colorectal-cancer screening. *The New England Journal of Medicine*. 370(14):1287-97.
 50. Wu D., Zhou G., Jin P., et al. (2016) Detection of colorectal cancer using a simplified *SEPT9* gene methylation assay is a reliable method for opportunistic screening. *The Journal of Molecular Diagnostics*. 18(4):535-45.
 51. Dolat L., Hu Q., Spiliotis E. T. (2014) Septin functions in organ system physiology and pathology. *Biol Chem*. 395(2):123-41.
 52. Silverman-Gavrila R. V., Silverman-Gavrila L. B. (2008) Septins: new microtubule interacting partners. *Scientific World Journal*. 8:611-20.
 53. Scott M., Hyland P. L., McGregor G., et al. (2005) Multimodality expression profiling shows *SEPT9* to be overexpressed in a wide range of human tumours. *Oncogene*. 24(29):4688-700.
 54. Tóth K., Galamb O., Spisák S., et al. (2011) The influence of methylated septin 9 gene on RNA and protein level in colorectal cancer. *Pathol Oncol Res*. 17(3):503-9.
 55. Connolly D., Yang Z., Castaldi M., et al. (2011) Septin 9 isoform expression, localization and epigenetic changes during human and mouse breast cancer progression. *Breast Cancer Res*. 13(4):R76.

56. Amir S., Wang R., Matzkin H., et al. (2006) MSF-A interacts with hypoxia-inducible factor-1alpha and augments hypoxia-inducible factor transcriptional activation to affect tumorigenicity and angiogenesis. *Cancer Res.* 66(2):856-66.
57. Gonzalez M. E., Makarova O., Peterson E. A., et al. (2009) Up-regulation of SEPT9_v1 stabilizes c-Jun-N-terminal kinase and contributes to its pro-proliferative activity in mammary epithelial cells. *Cell Signal.* 21(4):477-87.
58. Ito H., Iwamoto I., Morishita R., et al. (2005) Possible role of Rho/Rhotekin signaling in mammalian septin organization. *Oncogene.* 24(47):7064-72.
59. Weber M., Hellmann I., Stadler M. B., et al. (2007) Distribution, silencing potential and evolutionary impact of promoter DNA methylation in the human genome. *Nature genetics.* 39(4):457-66.
60. Hinoue T., Weisenberger D. J., Lange C. P., et al. (2012) Genome-scale analysis of aberrant DNA methylation in colorectal cancer. *Genome Res.* 22(2):271-82.
61. Yang X., Lay F., Han H., et al. (2010) Targeting DNA methylation for epigenetic therapy. *Trends Pharmacol Sci.* 31(11):536-46.
62. Wasserkort R., Kalmar A., Valcz G., et al. (2013) Aberrant septin 9 DNA methylation in colorectal cancer is restricted to a single CpG island. *BMC Cancer.* 13:398.
63. Krokowski S., Mostowy S. (2019) Bacterial cell division is recognized by the septin cytoskeleton for restriction by autophagy. *Autophagy.* 15(5):937-9.
64. Barve G., Sridhar S., Aher A., et al. (2018) Septins are involved at the early stages of macroautophagy in *S. cerevisiae*. *J Cell Sci.* 131(4).

65. Chatterjee A., Rodger E. J., Morison Ian M., et al. (2017) Tools and strategies for analysis of genome-wide and gene-specific DNA methylation patterns. *Methods in Molecular Biology*. 249-77.
66. Tollefsbol Trygve O. (2017) Handbook of epigenetics: the new molecular and medical genetics: *Academic Press*.
67. van Veldhoven K., Polidoro S., Baglietto L., et al. (2015) Epigenome-wide association study reveals decreased average methylation levels years before breast cancer diagnosis. *Clinical Epigenetics*. 7:1-12.
68. Wojdacz T. K., Dobrovic A.,(2007) Nucleic acids research. Methylation-sensitive high resolution melting (MS-HRM): a new approach for sensitive and high-throughput assessment of methylation. *Nucleic Acids Research*. 35(6):e41.
69. Cottrell S. E., Distler J., Goodman Nancy S., et al. (2004) A real-time PCR assay for DNA-methylation using methylation-specific blockers. *Nucleic acids research*. 32(1):e10-e.
70. Lofton-Day C., Model F., Devos T., et al. (2008) DNA methylation biomarkers for blood-based colorectal cancer screening. *Clin Chem*. 54(2):414-23.
71. Nian J., Sun X., Ming S., et al. (2017) Diagnostic Accuracy of Methylated SEPT9 for Blood-based Colorectal Cancer Detection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clin Transl Gastroenterol*. 8(1):e216.
72. Lu P., Zhu X., Song Y., et al. (2022) Methylated Septin 9 as a Promising Biomarker in the Diagnosis and Recurrence Monitoring of Colorectal Cancer. *Dis Markers*. 2022:7087885.
73. Sun J., Fei F., Zhang M., et al. (2019) The role of (m)SEPT9 in screening, diagnosis, and recurrence monitoring of colorectal cancer. *BMC Cancer*. 19(1):450.

74. Liu W., Hu P., Liu J., et al. (2021) mSEPT9 Can Monitor the Response and Predict the Prognosis of Stage IV Colorectal Cancer Patients with Liver Metastasis Undergoing Potentially Curative Surgery. *J Surg Res.* 267:485-94.
75. Yuan Z., Wang S., Ni K., et al. (2022) Circulating Methylated SEPT9 DNA Analyses to Predict Recurrence Risk and Adjuvant Chemotherapy Benefit in Stage II to III Colorectal Cancer. *Med Sci Monit.* 28:e937757.
76. Phạm Thị Huyền, Trịnh Hồng Thái. (2011) Phân tích tình trạng methyl hóa promoter của gen CXCL12 ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 314, Tháng 3, Số 1:338-41
77. Nguyễn Kiến Dự. (2017) *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và đột biến gen KRAS, BRAF ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng*. Luận án tiến sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội. .
78. Nguyễn Thị Kim Liên, Hồ Quang Huy, Nguyễn Huy Hoàng. (2014) Xác định đột biến gen KRAS ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng tại Việt Nam. *Tạp chí Công nghệ Sinh học.* 12 (4): 607 - 614.
79. Ho Tho H, Dang Kien X, Lintula S., et al. (2015) Extendable blocking probe in reverse transcription for analysis of RNA variants with superior selectivity. *Nucleic acids research.* 43(1):e4-e.
80. Trần Thanh Hà. (2023) *Đặc điểm lâm sàng, nội soi, mô bệnh học và đột biến gen KRAS ở mức độ RNA của bệnh nhân polyp đại trực tràng kích thước trên 10 mm*. Luận án tiến sĩ y học, Học viện Quân Y.
81. Loomans-Kropp Holli A., Song Y., Gala M., et al. (2022) Methylated Septin9 (m SEPT9): a promising blood-based biomarker for the detection and screening of early-onset colorectal cancer. *American Association for Cancer Research.* 2(2):90-8.

82. Ririe K. M., Rasmussen R. P., Wittwer Carl T. (1997). Product differentiation by analysis of DNA melting curves during the polymerase chain reaction. *Analytical Biochemistry* . 245(2):154-60.
83. Bùi Ánh Tuyết. (2017) *Nghiên cứu một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và tình trạng đột biến gen KRAS trong ung thư đại trực tràng tại Bệnh viện K*. Luận án Tiến sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
84. Ngô Thị Hoài. (2022). *Nghiên cứu hình ảnh nội soi, mô bệnh học và đột biến gen KRAS, BRAF trên bệnh nhân polyp tuyến và ung thư đại trực tràng*. Luận án tiến sĩ y học. Viện nghiên cứu khoa học y dược lâm sàng 108.
85. Huang Y., Su T., Duan Q., et al. (2024) Association of Methylenetetrahydrofolate Reductase rs1801133 Gene Polymorphism with Cancer Risk and Septin 9 Methylation in Patients with Colorectal Cancer. *Journal of Gastrointestinal Cancer*. 55:1-9.
86. Miller Kimberly D., Nogueira L., Devasia T., et al. (2022) Cancer treatment and survivorship statistics, 2022. *CA: a cancer journal for clinicians*, 2022. 72(5):409-36.
87. Siegel Rebecca L., Wagle Nikita S., Cercek A., et al. (2023) Colorectal cancer statistics, 2023. *CA: a cancer journal for clinicians*.73(3):233-54.
88. Phạm Văn Hùng, Nguyễn Thị Kiều.(2022) Đặc điểm xét nghiệm mô bệnh học của bệnh nhân ung thư đại trực tràng đến khám tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội. *Tạp chí Y học Việt Nam*. 514, Tháng 5, Số 1:338-41.
89. Trần Trần Đình Phương, Khiêm Nguyễn Quang, Minh Phạm Nguyễn Nhật, và cs. (2025) Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và mô bệnh học ở bệnh nhân Ung thư đại trực tràng tại khoa Ngoại tiêu hóa-Bệnh viện Chợ Rẫy. *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh*. 28(1): 19-29
90. Leerhoff S., Raem A., Ernst-Wolfgang K., et al. (2023) Methylated Septin9 identified patients with colorectal carcinoma and showed higher

sensitivity than conventional biomarkers in detecting tumor. *Cancer treatment and Research Communication*. 36:100748.

91. Hoàng Mạnh Thắng. (2022) *Đánh giá kết quả điều trị ung thư trực tràng thấp bằng phẫu thuật nội soi bảo tồn cơ thắt*. Luận án tiến sĩ y học. Trường Đại học Y Hà Nội.
92. Trịnh Lê Huy. (2017) *Nghiên cứu kết quả điều trị ung thư đại trực tràng di căn bằng hoá chất phác đồ FOLFOXIRI*. Luận án tiến sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
93. Fu B., Yan Peng, Zhang Shan, et al. (2018) Cell-free circulating methylated SEPT9 for noninvasive diagnosis and monitoring of colorectal cancer. *Disease markers*. 2018(1):6437104.
94. Palmqvist R., Engarås B., Lindmark Gudrun, et al. (2003) Prediagnostic levels of carcinoembryonic antigen and CA 242 in colorectal cancer: a matched case-control study. *Disease of the colonn and rectum*. 46:1538-44.
95. Locker Gershon Y., Hamilton S., Harris J., et al. (2006) ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. *Journal of clinical oncology*. 24(33):5313-27.
96. Duffy M., van Dalen A., Haglund C., et al. (2003) Clinical utility of biochemical markers in colorectal cancer: European Group on Tumour Markers (EGTM) guidelines. *European journal of cancer*. 39(6):718-27.
97. Le Duong Dinh, Van Vo Thang, Sarakarn Pongdech. (2021) Overall survival rate of Vietnamese patients with colorectal cancer: a hospital-based cohort study in the central region of Vietnam. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 22(11):3569.
98. Akman T., Oztop I., Baskin Y., et al. (2016) The association of clinicopathological features and survival in colorectal cancer patients

- with kras mutation status. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. 12(1):96-102.
99. Zhu L., Chun-Run L., Xu T., et al. (2021) Clinicopathological features and survival of signet-ring cell carcinoma and mucinous adenocarcinoma of right colon, left colon, and rectum. *Pathology and Oncology Research*. 27:1609800.
100. Benesch Matthew G., Nelson Erek D., O'Brien Shalana B. (2023) Location has prognostic impact on the outcome of colorectal mucinous adenocarcinomas. *Cancers*. 16(1):147.
101. Hoàng Thị Cúc. (2016) *Kết quả điều trị ung thư đại trực tràng tuyến nhầy tại Bệnh viện K*. Tạp chí y học lâm sàng, số 37:29-35.
102. Song L., Li Y., %J. (2015) SEPT9: a specific circulating biomarker for colorectal cancer. *Advances in clinical chemistry*. 72:171-204.
103. Min L., Chen J., Yu M., et al. (2023) Using circulating tumor DNA as a novel biomarker to screen and diagnose colorectal cancer: a meta-analysis. *Journal of Clinical Medicine*. 12(2):408.
104. Lu P., Zhu X., Song Y., et al. (2022) Methylated septin 9 as a promising biomarker in the diagnosis and recurrence monitoring of colorectal cancer. *Disease Markers*. (1):7087885.
105. Li Y., Li B., Jiang R., et al. (2023) A novel screening method of DNA methylation biomarkers helps to improve the detection of colorectal cancer and precancerous lesions. *Cancer Medicine*. 12(21):20626-38.
106. Petit J., Carroll G., Williams H., et al. (2023) Evaluation of a Multi-Gene Methylation Blood-Test for the Detection of Colorectal Cancer. *Medical Sciences*. 11(3):60.
107. Devos Th., Tetzner R., Model F., et al. (2009) Circulating methylated SEPT9 DNA in plasma is a biomarker for colorectal cancer. *Clinical Chemistry*. 55(7):1337 - 46.

108. Wu Y., Tong Y., Zhang H., et al. (2024) A novel dual-target Septin9 methylation assay for improved detection of early-stage colorectal cancer and high-grade intraepithelial neoplasia. *BMC Cancer*. 24(1):916.
109. Huang Q., Xun Zh., Lin J., et al. (2024) A novel microfluidic chip-based digital PCR method for enhanced sensitivity in the early diagnosis of colorectal cancer via mSEPT9. *Clinical Chimia Acta*. 554:117781.
110. Sun J., Xu J., Sun Ch., et al. (2021) Screening and prognostic value of methylated septin9 and its association with clinicopathological and molecular characteristics in colorectal cancer. *Molecular Biosciences*. 8:568818.
111. Li R., Chen J., Shen X., et al. (2024) A study of the clinical significance of mSEPT9 in monitoring recurrence and prognosis in patients with surgically treated colorectal cancer. *Plos One*. 19(10):e0312676.
112. Sun Q., Long L., (2024) Diagnostic performances of methylated septin9 gene, CEA, CA19-9 and platelet-to-lymphocyte ratio in colorectal cancer. *BMC cancer*. 24(1):906.
113. Huang M., He J., Lai W., et al. (2022) Methylated septin 9 gene is an important prognostic marker in stage II and stage III colorectal cancer for evaluating local recurrence or distant metastasis after surgery. *BMC Gastroenterol*. 22(1):87.
114. Gao H., Zhu Z., Wusiman L., et al. (2023) The value of serum methylated septin 9 and carcinoembryonic antigen in efficacy evaluation and follow-up monitoring of colorectal cancer. *Ann Ital Chir*. 94(4):384-91.
115. Hitchins M. Ph., Aguirre F. P., Alvarez R., et al. (2023) Plasma-based methylated SEPTIN9 circulating tumor DNA to predict progression-free and overall survival in metastatic colorectal cancer. *American Society of Clinical Oncology*. 11(2):405.

PHỤ LỤC 01: DANH SÁCH BỆNH NHÂN THAM GIA NGHIÊN CỨU

DANH SÁCH BỆNH NHÂN THAM GIA NGHIÊN CỨU

1. Tên đề tài/luận văn:

“ Nghiên cứu vai trò dấu ấn methyl hóa gen SEPT9 huyết tương bằng PCR thể hệ mới trong chẩn đoán ung thư đại trực tràng ”.

Đề tài đã thông qua Hội đồng đạo đức cấp cơ sở Bệnh viện Quân y 103 theo Phiếu Chấp thuận số 98 /CNChT-HĐĐĐ ngày 23 tháng 07 năm 2020.

2. Nghiên cứu sinh: Dương Thuỳ Linh

Chuyên ngành: Ung bướu - Học viện Quân y.

Niên khoá: 2020 – 2023

STT	HỌ VÀ TÊN	NĂM SINH	NGÀY VÀO VIỆN	NGÀY RA VIỆN	SỐ LƯU TRỮ
1	Hoàng Thị S.	1965	13.04.2022	06.05.2022	KKK-22-86
2	Vũ Thị M.	1968	09.02.2022	28.02.2022	KKK-22-766
3	Dương Văn Th.	1958	25.03.2022	10.04.2022	KKK-22-1080
4	Hồ Viết Ph.	1959	27.03.2022	15.04.2022	KKK-22-1114
5	Nguyễn Thị V.	1947	05.04.2022	15.04.2022	KKK-22-1141
6	Trần Thị S.	1959	11.08.2022	30.08.2022	KKK-22-1183
7	Nguyễn Khắc Th.	1945	05.04.2022	21.04.2022	KKK-22-1183
8	Trịnh Hồng S.	1964	12.04.2022	28.04.2022	KKK-22-1287
9	Nguyễn Gi.	1943	19.04.2022	05.05.2022	KKK-22-1323
10	Trịnh Tất Th.	1950	18.04.2022	04.05.2022	KKK-22-1334
11	Mai Đình L.	1954	21.04.2022	05.05.2022	KKK-22-1347
12	Nguyễn Văn Ch.	1966	16.05.2022	02.06.2022	KKK-22-1558
13	Nguyễn Lệnh Th.	1957	27.04.2022	03.06.2022	KKK-22-1595
14	Nguyễn Văn Ch.	1988	31.05.2022	04.07.2022	KKK-22-1813
15	Nguyễn Văn N.	1959	02.06.2022	06.07.2022	KKK-22-1838



Đã ký

16	Hoàng Thị X.	1965	25.09.2022	10.10.2022	KKK-22-1840
17	Đỗ Thị Ng.	1966	14.06.2022	11.07.2022	KKK-22-1902
18	Đặng Thị L.	1947	24.08.2022	16.09.2022	KKK-22-2176
19	Hoàng Ngọc L.	1982	03.08.2022	18.08.2022	KKK-22-2231
20	Lưu Văn V.	1945	05.08.2022	29.08.2022	KKK-22-2284
21	Lê Thị L.	1939	21.08.2022	02.09.2022	KKK-22-2345
22	Đào Thị Nh.	1943	18.08.2022	06.09.2022	KKK-22-2359
23	Nguyễn Thị S.	1961	16.08.2022	09.09.2022	KKK-22-2392
24	Đỗ Quang C.	1942	05.09.2022	30.09.2022	KKK-22-2542
25	Nguyễn Thị K.	1949	28.09.2022	11.10.2022	KKK-22-2586
26	Nguyễn Văn C.	1983	04.10.2022	20.10.2022	KKK-22-2637
27	Nguyễn Duy Tr.	1949	04.10.2022	20.10.2022	KKK-22-2653
28	Nguyễn Viết H.	1955	03.10.2022	07.11.2022	KKK-22-2753
29	Nguyễn Thị Ph.	1962	11.11.2022	18.11.2022	KKK-22-2825
30	Hà Thị Anh Tr.	1973	14.11.2022	28.11.2022	KKK-22-2901

**CHỈ HUY BỘ MÔN – KHOA
ĐƠN VỊ THU THẬP MẪU**


PGS.TS. Nghiêm Thị Minh Châu

BỘ MÔN CHỦ QUẢN


PGS.TS. Nghiêm Thị Minh Châu

HỌC VIÊN

Ths. Bs. Dương Thuỳ Linh

TRƯỞNG PHÒNG KHTH


Đại tá
Phạm Duy Hùng

THỦ TRƯỞNG BỆNH VIỆN


PHÓ GIÁM ĐỐC
Đại tá
PGS.TS Tạ Bá Thằng

BỘ Y TẾ
BỆNH VIỆN K

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Hà Nội, ngày 10 tháng 1 năm 2025

**DANH SÁCH BỆNH NHÂN UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNG
ĐƯỢC CHỌN VÀO NGHIÊN CỨU**

Tên đề tài/luận văn:

“Nghiên cứu vai trò dấu ấn methyl hóa gen SEPT9 huyết tương bằng PCR thể hệ mới trong chẩn đoán ung thư đại trực tràng”.

Đề tài đã thông qua Hội đồng đạo đức cấp cơ sở Bệnh viện Quân y 103 theo Phiếu Chấp thuận số 98 /CNChT-HĐĐĐ ngày 23 tháng 07 năm 2020.

Người thực hiện: Nghiên cứu sinh Dương Thủy Linh

Người hướng dẫn: GS. Nguyễn Văn Ba

TS. Hồ Hữu Thọ

Địa điểm: Bệnh viện K

Thời gian: 1/2021 – 12/2023

STT	Họ Và Tên	Năm Sinh	Mã Bệnh Nhân	Địa Chỉ
1	Nguyễn Thị L.	1962	230117256	Hà Nội
2	Ngô Quang N.	1971	230130187	Tuyên Quang
3	Nguyễn Thị H.	1956	230126376	Hung Yên
4	Trịnh Thị S.	1969	230148816	Hải Phòng
5	Nguyễn Đình Ch.	1951	230125774	Thái Nguyên
6	Nguyễn Quốc B.	1964	230146307	Hà Nội
7	Đổng Văn H.	1965	230150286	Hải Phòng
8	Lê Quý Th.	1963	230147513	Thanh Hoá
9	Nguyễn Thị H.	1968	230152921	Hải Dương
10	Nguyễn Thị M.	1960	230157114	Hải Dương
11	Nguyễn Cao L.	1944	220149514	Tuyên Quang
12	Cao Thị V.	1958	220303337	Yên Bái
13	Nguyễn Thị L.	1942	230117182	Hà Nội
14	Bùi Văn Ch.	1960	230128729	Yên Bái
15	Kiều Thị B.	1957	230023252	Hà Nội
16	Đỗ Bá Th.	1959	230153753	Hải Dương
17	Ngô Thị D.	1952	230160217	Hà Nội
18	Nguyễn Công L.	1966	230158846	Thái Bình
19	Nguyễn Xuân Đ.	1952	230134245	Nghệ An
20	Lê Quang X.	1987	230165270	Hà Nội
21	Vũ Thị Ng.	1966	220294708	Hà Nội
22	Nguyễn Văn M.	1956	220284533	Nam Định

23	Nguyễn Văn H.	1948	230129592	Hưng Yên
24	Phùng Thị Th.	1963	230143714	Phú Thọ
25	Phạm Đình Nh.	1958	230129146	Hải Dương
26	Phê Lữ P.	1972	220380616	Lai Châu
27	Đỗ Thị N.	1964	220169319	Vĩnh Phúc
28	Trung Thị Ng.	1961	220241673	Hà Nội
29	Đỗ Thị L.	1958	220166165	Hà Nội
30	Trần Văn H.	1947	220126746	Phú Thọ
31	Hoàng Thị Ch.	1956	220093952	Hà Nam
32	Nguyễn Kiên C.	1972	220146606	Nghệ An
33	Bùi Quang Tr.	1962	220126163	Hà Nam
34	Nguyễn Ngọc Đ.	1959	220133418	Quảng Ninh
35	Hoàng Thị Th.	1959	220037739	Quảng Ninh
36	Trần Văn Th.	1985	230018942	Nam Định
37	Nguyễn Thị H.	1959	220224489	Bắc Ninh
38	Nguyễn Thị Nh.	1975	220067520	Nam Định
39	Nguyễn Trọng S.	1946	220200698	Nghệ An
40	Bùi Thị X.	1964	220125282	Nam Định
41	Nguyễn Thị L.	1958	230134078	Hà Nam
42	Phạm Tất B.	1951	230126709	Thái Nguyên
43	Ngô Thị Th.	1948	230034265	Hải Phòng
44	Hoàng Thị Ng.	1953	230052308	Hà Nội
45	Ngô Thị D.	1981	220121752	Hà Nội
46	Nguyễn Khắc C.	1964	220129584	Bắc Ninh
47	Phạm Thanh L.	1992	220167185	Quảng Bình
48	Nguyễn Thị Đức T.	1956	220051771	Hà Nội
49	Nguyễn Mạnh Ph.	1950	220145126	Hà Nội
50	Vũ Xuân H.	1954	220170144	Nam Định
51	Ngô Đăng H.	1954	220170160	Hải Dương
52	Trần Thị B.	1953	220166996	Hà Nội
53	Lại Văn Ch.	1957	220044076	Thanh Hoá
54	Ngô Văn Q.	1947	220055892	Hà Nam
55	Cù Thị Đ.	1944	220272498	Nam Định
56	Trần Thị Th.	1976	230026850	Bắc Giang
57	Phạm Hồng Á.	1944	220124110	Hải Dương
58	Hoàng Thị S.	1964	220158400	Cao Bằng
59	Vũ Anh T.	1984	220296248	Thanh Hoá
60	Nguyễn Văn L.	1950	220150180	Nam Định
61	Chu Văn D.	1969	220169864	Hưng Yên
62	Bùi Thị S.	1971	220117693	Sơn La
63	Nguyễn Thị Ng.	1951	220113525	Nam Định
64	Phạm Văn T.	1974	220121013	Hải Phòng
65	Đào Ngọc Y.	1962	220129227	Hà Nội
66	Hoàng Thị M.	1969	220137863	Nam Định
67	Lê Trọng Đ.	1958	220170044	Hưng Yên
68	Trần Thị H.	1959	220185164	Ninh Bình

fu

115	Dương Văn Ch.	1953	220249077	Hải Dương
116	Nguyễn Phúc Y.	1959	220246194	Phú Thọ
117	Nguyễn Đức M.	1960	220267990	Gia Lai
118	Nguyễn Văn Ngh.	1969	220267244	Ninh Bình
119	Đào Thị L.	1953	220278942	Hà Nội
120	Đinh Hữu L.	1958	230152216	Hải Phòng
121	Cao Xuân C.	1949	220183764	Hà Nội
122	Nguyễn Thị Ng.	1965	220263290	Nam Định

Hà Nội, ngày tháng năm

NGƯỜI THỰC HIỆN
ĐỀ TÀI

Thủy
Đông Thủy Linh

GIÁO VIÊN
HƯỚNG DẪN

Hoài
Hoài Phú

XÁC NHẬN CỦA
BỆNH VIỆN K



T.L GIÁM ĐỐC
TRƯỞNG PHÒNG KẾ HOẠCH TỔNG HỢP
Chức Quốc Hoàn



DANH SÁCH NGƯỜI KHOẺ MẠNH THAM GIA NGHIÊN CỨU

HỌC VIỆN QUÂN Y
BỆNH VIỆN QUÂN Y 103

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Hà Nội, ngày 30 tháng 4 năm 2025

DANH SÁCH NGƯỜI THAM GIA NGHIÊN CỨU

1. Tên đề tài/luận văn:

“ Nghiên cứu vai trò dấu ấn methyl hóa gen SEPT9 huyết tương bằng PCR thể hệ mới trong chẩn đoán ung thư đại trực tràng”.

Đề tài đã thông qua Hội đồng đạo đức cấp cơ sở Bệnh viện Quân y 103 theo Phiếu Chấp thuận số 98 /CNChT-HĐĐĐ ngày 23 tháng 07 năm 2020.

2. Nghiên cứu sinh: Dương Thuỳ Linh

Chuyên ngành: Ung bướu - Học viện Quân y.

Niên khoá: 2020 – 2023

STT	HỌ VÀ TÊN	NĂM SINH	NGÀY VÀO VIỆN	MÃ BỆNH NHÂN
1	Bùi Lan A.	1982	01/03/2023	23036424
2	Nguyễn Thị T.	1973	01/03/2023	23036419
3	Đặng Thị T.	1966	02/03/2023	23037457
4	Đào Thị Th.	1980	07/03/2023	23040762
5	Cao Thị Bích L.	1962	10/03/2023	23043967
6	Nguyễn Đức Th.	2006	13/03/2023	23045516
7	Đỗ Thị S.	1957	15/03/2023	23050349
8	Nguyễn Thị Ch.	1977	16/03/2023	23051229
9	Lưu Văn H.	1979	20/03/2023	23054284
10	Khuất Thanh H.	1983	22/03/2023	23056555
11	Bạch Thị M.	1961	24/03/2023	23059128
12	Tô Thị Ng.	1985	27/03/2023	23060616
13	Trần Thị L.	1994	28/03/2023	23061700
14	Nguyễn Thị H.	1973	29/03/2023	23062618
15	Vương Thị H.	1984	04/05/2023	23088723

16	Nguyễn Đình Ch.	1964	08/05/2023	23090837
17	Bùi Thị T.	1997	08/05/2023	23091430
18	Vũ Văn H.	1994	08/05/2023	23091131
19	Nguyễn Đức T.	1992	09/05/2023	23092313
20	Nguyễn Văn T.	1988	09/05/2023	23092434
21	Trần Long H.	1992	11/05/2023	23094613
22	Ngô Chí C.	1982	15/05/2023	23097408
23	Nguyễn Văn H.	1979	26/05/2023	23107045
24	Vương Thị Ng.	1958	31/05/2023	23112074
25	Phùng Đức Ph.	1968	02/06/2023	23113086
26	Hoàng Thị Ng.	1962	19/06/2023	23126680
27	Trịnh Văn V.	1966	21/06/2023	22276892
28	Bùi Văn H.	1991	23/06/2023	23130296
29	Nguyễn Thị H.	1981	21/06/2023	23128819
30	Vũ Văn C.	1994	27/06/2023	23133003
31	Khổng Thị H.	1957	30/06/2023	22068077
32	Đào Thị Kh.	1967	04/07/2023	23138506
33	Nguyễn Phi H.	1994	05/07/2023	23139011
34	Vũ Đình T.	1995	06/07/2023	23140503
35	Đặng Thị T.	1959	06/07/2023	23140053
36	Quản Thái Bảo Ng.	1988	06/07/2023	23139867
37	Nguyễn Thị Ch.	1969	06/07/2023	23140213
38	Nguyễn Thị Th.	2005	07/07/2023	23140978
39	Đinh Thị T.	1971	10/07/2023	23143368
40	Trương Nhật M.	2000	11/07/2023	23144497
41	Ngô Thị Th.	1960	12/07/2023	23144783
42	Nguyễn Thị Bích Ph.	1986	20/07/2023	23151685
43	Trần Thị L.	1955	21/07/2023	23151982
44	Đỗ Đức Th.	2003	24/07/2023	23153483

Handwritten signature

45	Bùi Thị Ph.	1958	24/07/2023	23153515
46	Nguyễn Thị B.	1964	24/07/2023	23153690
47	Phạm Quốc H.	1976	25/07/2023	23154597
48	Nguyễn Văn B.	1981	26/07/2023	23155748
49	Vũ Thị D.	1988	27/07/2023	23156855
50	Lê Thị Thanh T.	1990	27/07/2023	23156803
51	Nguyễn Văn K.	1974	28/07/2023	23157432
52	Nguyễn Văn Ng.	1982	31/07/2023	23158906
53	Trần Thị Th.	1974	31/07/2023	23158867
54	Lưu Thị Thanh Ph.	1981	02/08/2023	23161008
55	Đỗ Thị H.	1964	10/08/2023	23167597
56	Nguyễn Văn T.	1957	21/08/2023	23176345
57	Phan Văn Th.	1977	21/08/2023	23176201
58	Bùi Văn H.	1957	22/08/2023	23176935
59	Hoàng Thị Ngọc L.	1956	22/08/2023	23177194
60	Phạm Đình Tr.	1977	24/08/2023	23179798
61	Nguyễn Văn Ch.	1966	05/09/2023	23187914
62	Dương Thị H.	1969	06/09/2023	23189267
63	Nguyễn Thị H.	1980	06/09/2023	23189451
64	Vũ Văn T.	1982	07/09/2023	23190511
65	Nguyễn Tiến S.	1991	07/09/2023	23190361
66	Nguyễn Thị M.	1972	12/09/2023	23193658
67	Mai Danh S.	1983	13/09/2023	23194930
68	Nguyễn Văn H.	1979	14/09/2023	23196296
69	Đoàn Thị Ch.	1954	13/09/2023	23195429
70	Nguyễn Thị Th.	1966	19/09/2023	23200145
71	Nguyễn Văn S.	1989	02/10/2023	23211864
72	Đoàn Văn Ph.	1991	03/10/2023	23213658
73	Chu Quang H.	2001	03/10/2023	23213391



Handwritten signature

74	Nguyễn Thị Th.	1962	06/10/2023	23216984
75	Trần Thanh H.	1973	18/10/2023	23228001
76	Phạm Thị H.	1978	24/10/2023	23234027
77	Lê Hữu H.	1956	17/10/2023	23226930
78	Nguyễn Thị Hồng H.	2000	13/11/2023	23255092
79	Nguyễn Thị T.	1970	15/11/2023	23256757
80	Nguyễn Trung L.	1974	16/11/2023	23257830
81	Thái Bá D.	1997	17/11/2023	23259048
82	Phạm Ngọc C.	1988	17/11/2023	23258948
83	Vũ Văn D.	1984	17/11/2023	23258884
84	Nguyễn Đức Q.	1963	20/11/2023	23261193
85	Hoàng Xuân K.	1990	21/11/2023	23262414
86	Nguyễn Đức L.	1989	21/11/2023	23262326
87	Phan Thị Ng.	1952	23/11/2023	23264335
88	Nguyễn Thị Anh Q.	1983	06/12/2023	23274745
89	Nguyễn Thị X.	1954	06/12/2023	23274809
90	Đặng Đình Đ.	1993	07/12/2023	23275769
91	Lưu Văn S.	1960	11/12/2023	23278427
92	Vũ Thị Xuân H.	1971	15/12/2023	23283160

CHỈ HUY BỘ MÔN – KHOA
ĐƠN VỊ THU THẬP MẪU

BỘ MÔN CHỦ QUẢN

HỌC VIÊN


HIẾN SỸ
Dương Xuân Như


PGS.TS Nghiêm Thị Minh Châu


Ths. Bs. Dương Thuỳ Linh

TRƯỞNG PHÒNG KHTH


Phạm Duy Hưng

THỦ TRƯỞNG BỆNH VIỆN
GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC

Đại tá
PGS.TS Tạ Bá Thắng

PHỤ LỤC SỐ 02: BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU
BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu sinh: **Dương Thùy Linh**

Chuyên ngành: Ung thư (97.20.108)

Đề tài: *Nghiên cứu vai trò dấu ấn methyl hóa gene SEPT9 huyết tương bằng PCR thế hệ mới trong chẩn đoán ung thư đại trực tràng.*

Giáo viên hướng dẫn: **GS.TS. Nguyễn Văn Ba; TS.BS. Hồ Hữu Thọ**

PHẦN I. PHẦN HÀNH CHÍNH

1. Họ và tên: _____ Năm sinh: _____
2. Giới: _____ Nam _____ Nữ _____
3. Mã số bệnh nhân:Số hồ sơ bệnh án:.....
4. Nghề nghiệp:
5. Địa chỉ liên lạc:
Số điện thoại:
6. Ngày vào viện..... Ngày ra viện.....
7. Bệnh viện điều trị: Khoa.....

PHẦN II. PHẦN CHUYÊN MÔN

1. Thời gian từ khi có triệu chứng đầu tiên đến khi bệnh nhân vào viện
.... Tháng không rõ....
2. Tiền sử:
 - 2.1 Bản thân:
 - Mắc bệnh mạn tính (Tim mạch, hô hấp, nội tiết, đường tiêu hóa...)
có không
 - Bệnh lý khác:
 - 2.2 Gia đình:
 - Ông bà, bố mẹ, anh chị em ruột bị mắc bệnh ung thư đại trực tràng
có không

3. Lâm sàng:

3.1 Triệu chứng lâm sàng:

Triệu chứng	Có	Không
Đau bụng		
Không rối loạn tiêu hóa		
Đại tiện phân lỏng		
Đại tiện phân táo bón		
Rối loạn lưu thông ruột (táo lỏng xen kẽ)		
Mót rặn		
Phân dẹt		
Phân nhày máu		
Bán tắc ruột		
Tắc ruột		
Gầy sút cân		

3.2 Cận lâm sàng

3.2.1 Nội soi đại trực tràng: Ngày làm XN:/...../.....

Vị trí u	Đại tràng phải (ĐT lên)	
	Đại tràng ngang	
	Đại tràng trái (ĐT xuống)	
	Đại tràng sigma	
	Trực tràng	
Kích thước u so với chu vi lòng ruột	< ¼ chu vi	
	¼ - ½ chu vi	

	> ½ chu vi	
	Toàn bộ chu vi	
Hình dạng đại thể của u	Sùi	
	Loét	
	Sùi + Loét	
	Thâm nhiễm	

3.2.2 Chụp cắt lớp vi tính/MRI ổ bụng, tiểu khung

Ngày làm XN:/...../.....

Vị trí u:.....

Kích thước u:..... đường kính mm; chiều dài u.....mm

Giai đoạn T:.....

Giai đoạn N:.....

Đặc điểm khác: Di căn cơ quan nào: đặc điểm.....

3.2.3 Cắt lớp vi tính/XQ lồng ngực

Ngày làm XN:/...../.....

Di căn phổi:..... Số lượng ổ di căn:.....

Khác:.....

3.2.4 PET/CT:

Ngày làm XN:/...../.....

Tổn thương nguyên phát:.....

.....

Tổn thương thứ phát:.....

.....

3.2.5 Xét nghiệm CEA

Ngày làm XN:/...../.....

Giá trị xét nghiệm CEA:.....

3.2.6 Giải phẫu bệnh

GPB khối u nguyên phát:

Đại thể:.....

Vi thể:.....

GPB hạch di căn:.....

GPB diện cắt:.....

GPB tổn thương thứ phát:.....

4. Chẩn đoán bệnh và giai đoạn bệnh theo AJCC 2017:

.....

5. Phương pháp điều trị

Phương pháp điều trị:.....

Ngày phẫu thuật:.....

6. mSEPT9 trước và sau điều trị triệt căn

Xét nghiệm mSEPT9	Trước điều trị	Sau điều trị
Ngày lấy mẫu		
Kết quả		

....., ngày..... tháng.....năm....

Nghiên cứu sinh

Ths. Bs. Dương Thùy Linh

PHỤ LỤC SỐ 03

BẢN CHẤP THUẬN TỰ NGUYỆN THAM GIA NGHIÊN CỨU

BẢN CHẤP THUẬN TỰ NGUYỆN THAM GIA NGHIÊN CỨU

Tên đề tài nghiên cứu:

“Nghiên cứu vai trò dấu ấn methyl hóa gene SEPT9 huyết tương bằng PCR thể hệ mới trong chẩn đoán ung thư đại trực tràng”

Tôi đồng ý tham gia nghiên cứu này. Đi cùng với việc chấp thuận tự nguyện tham gia nghiên cứu, tôi xác nhận là:

- Tôi được cung cấp và hiểu rõ những thông tin về tính chất, mục đích và thời gian của nghiên cứu này
- Tôi đã đọc tờ thông tin dành cho bệnh nhân
- Tôi hoàn toàn tự do trong việc quyết định chấp nhận hay từ chối tham gia vào nghiên cứu này
- Tôi hiểu rằng mình có thể rút ra khỏi nghiên cứu bất cứ khi nào
- Những dữ liệu y khoa của tôi sẽ được bảo mật nghiêm ngặt và tôi chấp nhận cho việc sử dụng, tham khảo nó bởi những người có liên quan đến nghiên cứu này

Họ và tên người tham gia nghiên cứu:

Chữ ký của người tham gia nghiên cứu:

.....

Hà Nội, ngày.....tháng.....năm 20....

Nghiên cứu viên

Ths. Bs. Dương Thùy Linh

PHỤ LỤC SỐ 04
MỘT SỐ HÌNH ẢNH MINH HOẠ

1. Một số thiết bị phục vụ nghiên cứu



Hệ thống máy realtime PCR Rotor-Gene Q
(Qiagen, CHLB Đức)



Tủ thao tác An toàn sinh học cấp II
(Nuair, Mỹ)



Máy ly tâm và máy lắc ủ nhiệt
(Eppendorf, CHLB Đức)



Tủ âm lưu trữ mẫu
(Sanyo, Nhật Bản)