

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ QUỐC PHÒNG

HỌC VIỆN QUÂN Y

DƯƠNG THUYỀN LINH

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

Ngành: Ung thư

Mã số: 972 01 08

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2025

CÔNG TRÌNH ĐƯỢC HOÀN THÀNH TẠI HỌC VIỆN QUÂN Y

Người hướng dẫn khoa học:

1. GS.TS Nguyễn Văn Ba
2. TS Hồ Hữu Thọ

Phản biện 1: PGS.TS. Phạm Văn Bình

Phản biện 2: PGS.TS. Nguyễn Đăng Tôn

Phản biện 3: PGS.TS. Trần Ngọc Dũng

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp trường
vào hồi: giờ ngày tháng năm 2025

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Quốc Gia
2. Thư viện Học viện Quân y

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư đại trực tràng (UTĐTT) là bệnh có tỷ lệ mắc và tỷ lệ tử vong cao trên thế giới, theo GLOBOCAN 2022 UTĐTT đứng thứ ba về tỷ lệ mắc và thứ hai về tỷ lệ tử vong trong các bệnh ung thư hiện nay, tại Việt Nam UTĐTT là ung thư phổ biến thứ 4. Thời gian sống còn toàn bộ trên 5 năm của BNUTĐTT ở giai đoạn I, II có thể đến 90%, giảm xuống 15% ở giai đoạn IV. Cho đến nay 25% UTĐTT di căn tại thời điểm chẩn đoán và 25% - 50% BN tiến triển di căn sau điều trị triệt căn, đặc biệt giai đoạn III là nhóm có khả năng điều trị triệt căn, nhưng lại có nguy cơ tiến triển tái phát di căn với tỉ lệ cao do đặc điểm đã di căn hạch vùng trước đó và phụ thuộc vào mức độ đáp ứng điều trị hỗ trợ. Do đó, xét nghiệm có khả năng phát hiện bệnh ở giai đoạn sớm, có khả năng tiên lượng theo dõi tái phát di căn là rất cần thiết.

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 phê duyệt chấp thuận là xét nghiệm sàng lọc UTĐTT với dấu ấn methyl hóa gen *SEPT9* (m*SEPT9*). Trên thế giới, đã có nhiều nghiên cứu về giá trị chẩn đoán cũng như giá trị tiên lượng, theo dõi của xét nghiệm m*SEPT9* huyết tương ở BNUTĐTT. Tuy nhiên, cho đến thời điểm này, tại Việt Nam các nghiên cứu về giá trị của m*SEPT9* trong UTĐTT còn 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.

ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Về mặt lâm sàng: nghiên cứu đầu tiên về giá trị của xét nghiệm mSEPT9 huyết tương trong chẩn đoán UTĐTT, đưa ra mối liên quan về đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của BNUTĐTT ở Việt Nam với tình trạng biểu hiện mSEPT9 huyết tương. Nghiên cứu đưa ra đặc điểm thay đổi mSEPT9 huyết tương sau phẫu thuật triệt căn, đồng thời bước đầu đưa ra giá trị của mSEPT9 trong tiên lượng theo dõi tiến triển tái phát di căn ở nhóm BNUTĐTT giai đoạn III.

Về mặt sinh học phân tử: Xây dựng được quy trình xét nghiệm phát hiện mSEPT9 ở BNUTĐTT sử dụng kỹ thuật semi – nested PCR sử dụng mẫu dò khoá kéo dài chuỗi.

CẤU TRÚC LUẬN ÁN

Luận án gồm 127 trang (không kể tài liệu tham khảo và phụ lục), 4 chương, 28 bảng, 07 biểu đồ, 09 hình, 01 sơ đồ; 115 tài liệu tham khảo, trong đó có: 13 tài liệu tiếng Việt và 102 tài liệu tiếng Anh. Đặt vấn đề: 02 trang, tổng quan tài liệu: 35 trang, đối tượng và phương pháp nghiên cứu: 20 trang, kết quả nghiên cứu: 38 trang, bàn luận: 29 trang, kết luận: 02 trang, hạn chế và kiến nghị: 01 trang.

CHƯƠNG 1 - TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan ung thư đại trực tràng

1.1.1 Dịch tễ

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. 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 đứng thứ 5 chiếm 7% tổng số các mặt bệnh ung thư. 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.

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. 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.

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.

1.1.3.2 Chẩn đoán giai đoạn

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

1.1.4 Định hướng lựa chọn 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. 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. Nhóm BN giai đoạn III có chỉ định hóa trị bổ trợ sau phẫu thuật là thường quy, 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.

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.

1.2. Thách thức và khó khăn trong sàng lọc phát hiện sớm 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...). Xét nghiệm máu ẩn trong phân 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. 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. 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 xét nghiệm máu ẩn trong phân. 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. 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.

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.

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.

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. 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 nhân, rất quan trọng đối với sự phát triển, phân chia, biến đổi của tế bào ung thư và điều hòa chu kỳ tế bào. 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. 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. 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. 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. *SEPT9* là một gen ức chế khối u và nó đã được chứng minh là bị methyl hóa trong nhiều loại khối u.

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.

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. Như vậy, *SEPT9* đóng vai trò quan trọng trong kiểm soát chu kỳ tế bào, sự methyl hóa CpG vùng khởi động của gen này làm mất chức năng ức chế khối u. Vì vậy, xét nghiệm *mSEPT9* 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 mSEPT9

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

1.4.1 Phân tích methyl hóa DNA nhờ enzyme cắt giới hạn

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

1.4.3 Phân tích methyl hóa DNA nhờ xử lý bisulfite

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

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

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.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thiết kế nghiên cứu:

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

2.2. 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.

2.2.1 Tiêu chuẩn lựa chọn mẫu

+ 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. 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.

2.2.2 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.

2.3 Cỡ mẫu nghiên cứu

Chọn cỡ mẫu theo công thức tính cỡ mẫu của WHO cho nghiên cứu mô tả cắt ngang. Ở nghiên cứu này chúng tôi chọn $\alpha=0,05$; với tỷ lệ mSEPT9 dương tính ở BNUTĐTT dự kiến 90,8%, do đó $p=0,9$; sai số tuyệt đối $d=0,05$. Theo công thức, cỡ mẫu tối thiểu cần cho nghiên cứu là 128.

Nghiên cứu này có cỡ mẫu là 244 đối tượng tham gia nghiên cứu gồm có 152 BNUTĐTT và 92 người khoẻ mạnh, trong đó:

- Mục tiêu 1: Xác định giá trị chẩn đoán bao gồm độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán dương, giá trị tiên đoán âm của xét nghiệm mSEPT9 bằng kỹ thuật PCR trong chẩn đoán UTĐTT dựa trên phân tích nhóm bệnh là 152 BNUTĐTT phân bố ở cả 4 giai đoạn bệnh, 92 người khoẻ mạnh. Phân tích mối liên quan của đặc điểm mSEPT9 với đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của BNUTĐTT.
- Mục tiêu 2: Đánh giá độ biến động của mSEPT9 huyết tương trước và sau điều trị BNUTĐTT giai đoạn III bao gồm 50 BNUTĐTT giai đoạn III được theo dõi từ nhóm 152 BNUTĐTT. Lựa chọn nhóm BNUTĐTT giai đoạn III bởi vì giai đoạn III có đặc điểm về khả năng điều trị triệt căn nhưng lại có nguy cơ tiến triển tái phát di căn trong khoảng thời gian 5 năm phù hợp với thời gian thực hiện luận án.

2.4 Thiết bị, dụng cụ sử dụng trong nghiên cứu

Các máy móc, thiết bị phục vụ cho quá trình xét nghiệm mSEPT9 bằng kỹ thuật PCR sử dụng mẫu dò khoá có khả năng kéo dài chuỗi thuộc phòng Công nghệ Gen và Di truyền, Viện Nghiên cứu y dược học Quân sự, Học viện Quân Y.

2.5 Nội dung nghiên cứu

2.5.1 Nghiên cứu lâm sàng

Người bệnh được khám chẩn đoán xác định, chẩn đoán giai đoạn bệnh, điều trị UTĐTT theo hướng dẫn của Bộ Y tế và thu thập thông tin tiền sử, bệnh sử, khám bệnh theo một mẫu bệnh án thống nhất.

+ Thu thập thông tin đặc điểm lâm sàng

Tuổi, giới tính, thời gian phát hiện bệnh, triệu chứng lâm sàng.

+ Thu thập thông tin đặc điểm cận lâm sàng

Chẩn đoán hình ảnh: Nội soi, chụp cắt lớp vi tính, MRI, PET/CT

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

Xét nghiệm CEA: Ngưỡng bình thường 0 – 5 ng/ml. $CEA \leq 5$ ng/ml: Âm tính; $CEA > 5$ ng/ml: Dương tính.

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.

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

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.

+ Thu thập thông tin theo dõi BN đánh giá thời điểm 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.

Theo dõi tình trạng BN dựa vào hồ sơ bệnh án điều trị cho BN

tại bệnh viện từ khi BN được chẩn đoán xác định cho đến hết đợt điều trị triệt căn, điều trị hỗ 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.

2.5.2 Nguyên lý và quy trình kỹ thuật trong đề tài

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

- + Quy trình kỹ thuật lấy mẫu máu tĩnh mạch ngoại vi
- + Quy trình tách chiết DNA từ huyết tương

2.5.2.2 Phương pháp Bisulphite sản phẩm DNA sau tách chiết

2.5.2.3 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 mỗi, mẫu dò khóa cho phản ứng realtime PCR phát hiện dấu ấn methyl hóa DNA của công nghệ mới với ExBP
- 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 μ L và 5 μ L DNA sau khi xử lý bisulfite được sử dụng làm khuôn. Dữ liệu realtime PCR được thu thập và lưu trong máy tính sau đó sẽ được phân tích bằng phần mềm Rotor-Gene Q Software (hãng Qiagen). Mỗi mẫu được xét nghiệm ba lần và một mẫu được coi là dương tính với mSEPT9 nếu ít nhất một trong ba lần lặp lại cho kết quả dương tính, kết quả dương tính của mỗi phản ứng PCR khi đỉnh nhiệt độ nóng chảy với đỉnh đặc trưng cho các trình tự SEPT9 đã methyl hóa xảy ra ở 78,0–78,7 độ C.

2.6 Phương pháp 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

2.7 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.

CHƯƠNG 3 - KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

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

Tuổi trung vị của toàn bộ các đối tượng nghiên cứu là 59,0 tuổi, không nhận thấy sự khác biệt về tuổi, về giới tính giữa nhóm UTĐTT và nhóm chứng ($p > 0,05$).

3.1.2. Phân bố theo 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

Thời gian có triệu chứng đến khi chẩn đoán xác định trung bình là 2 tháng.

3.1.4. Đặc điểm lâm sàng của nhóm BNUTĐTT

Dấu hiệu đau bụng phổ biến nhất là 78,95% (120/152), phân có máu đứng thứ hai là 55,92% (85/120).

3.1.5. Đặc điểm cận lâm sàng của nhóm BNUTĐTT

- Đặc điểm u trên nội soi: Nhóm BN có kích thước khối u chiếm $>3/4$ chu vi đại trực tràng chiếm tỉ lệ lớn nhất 40,13% (61/152); dạng tổn thương chủ yếu là dạng “Sùi” chiếm tỷ lệ cao nhất (73/152, chiếm 48,03%); dạng tổn thương “Loét” chiếm tỉ lệ thấp nhất (4/152, chiếm 2,63 %), chỉ có ở vị trí trực tràng.

- 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

- 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 $p < 0,05$.

- Ung thư biểu mô tuyến chiếm đa số (82,9%) , ung thư thể vảy chỉ có 1 bệnh nhân duy nhất chiếm tỉ lệ 0,7%, còn lại là ung thư biểu

mô tuyến chế nhầy, nhẵn. Độ mô học độ vừa có tỷ lệ phổ biến nhất chiếm 84,2%, độ biệt hoá kém chiếm 12,5%.

- 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.

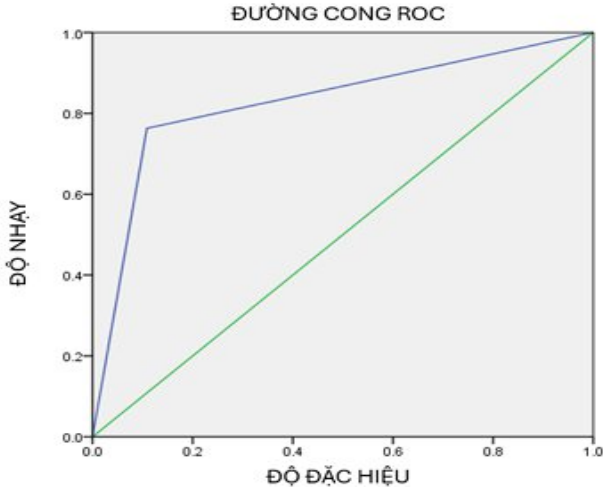
3.2 Xác định giá trị chẩn đoán và mối liên quan của mSEPT9 huyết tương với đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng BNUTĐTT bằng kỹ thuật PCR với mẫu dò khoá kéo dài chuỗi

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

Bảng 3.1 Giá trị độ nhạy, độ đặc hiệu, PPV, NPV của mSEPT9 trong chẩn đoán UTĐTT

mSEPT9 huyết tương	UTĐTT n (%)	Không UTĐTT n (%)	Tổng
Âm tính	36 (30,5)	82 (69,5)	118
Dương tính	116 (92,1)	10 (7,9)	126
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
OR	26,42 ($p = 0,0001$)		12,41-56,24

Phân tích xét nghiệm mSEPT9 đạt độ nhạy 76,3% với CI95%: 68,75-82,82; độ đặc hiệu 89,1% với CI95%: 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. Nhóm mSEPT9 dương tính có nguy cơ bị UTĐTT cao gấp 26,42 lần so với nhóm mSEPT9 âm tính (OR = 26,42, $p < 0,0001$).



Hình 3.1 Đường cong ROC của mSEPT9

trong chẩn đoán UTĐTT phân biệt với nhóm người khoẻ mạnh

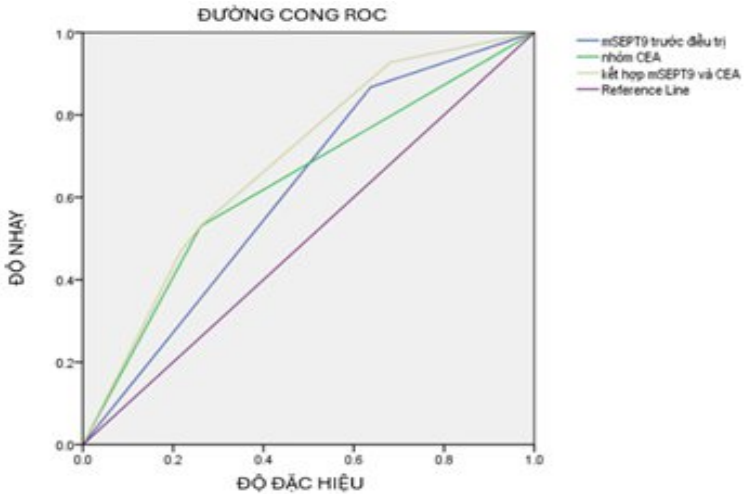
Giá trị chẩn đoán UTĐTT phân biệt với nhóm người khoẻ mạnh, mSEPT9 có giá trị chẩn đoán mức độ tốt với AUC đạt 0,827 (95%CI: 77,3 - 88,2) $p < 0,0001$.

Bảng 3.2 Mức độ biểu hiện mSEPT9 huyết tương phân biệt UTĐTT giai đoạn sớm và UTĐTT 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		
<i>p</i>	0,001		
95% CI	1,667 – 8,295		

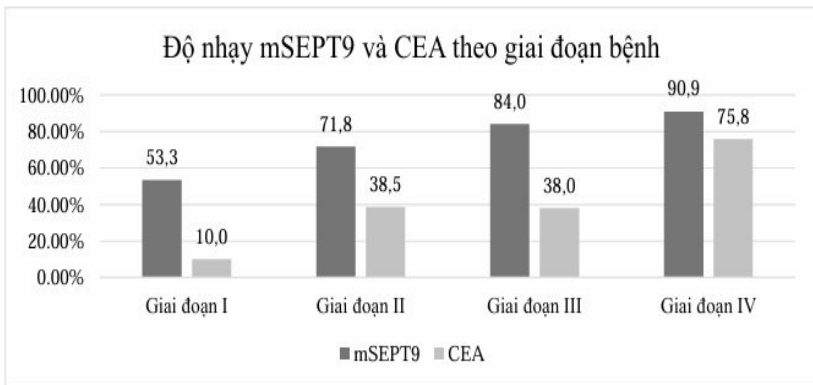
Trong nhóm BNUTĐTT giai đoạn muộn (giai đoạn III, IV) có 86,7% mSEPT9 dương tính, tỉ lệ mSEPT9 dương tính ở giai đoạn sớm (giai đoạn I, II) là 63,8%. BNUTĐTT mSEPT9 dương tính có

nguy cơ ung thư giai đoạn muộn cao gấp 3,719 lần so với nhóm mSEPT9 âm tính ($OR = 3,719, p < 0,001$).



Hình 3.2 Đường cong ROC kết hợp mSEPT9 và CEA trong chẩn đoán UTĐTT phân biệt giai đoạn sớm với giai đoạn muộn.

Giá trị chẩn đoán UTĐTT giai đoạn sớm (giai đoạn I và II) với giai đoạn muộn (giai đoạn III và IV) của mSEPT9 kết hợp CEA ở mức trung bình với AUC 0,686, $p < 0,05$, độ nhạy 86,7%, độ đặc hiệu 36,2%.



Biểu đồ 3.1 Giá trị chẩn đoán của mSEPT9 và CEA theo giai đoạn bệnh

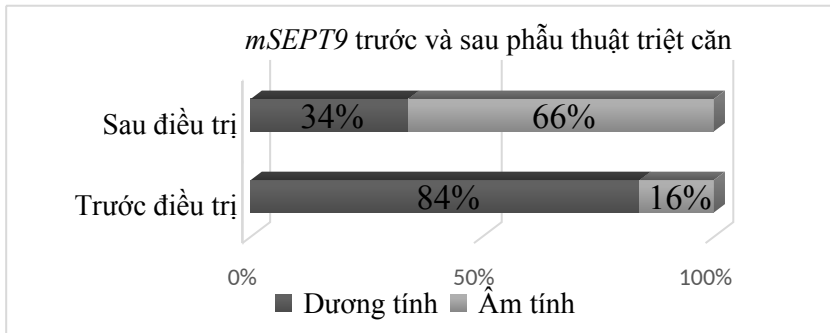
mSEPT9 cho thấy độ nhạy cao hơn ở tất cả các giai đoạn UTĐTT so với CEA. Cụ thể, ở giai đoạn I có 53,3% BN có mSEPT9 dương tính trong khi chỉ có 10%. BN có CEA dương tính; ở giai đoạn II, mSEPT9 có thể phát hiện số lượng BN gần gấp đôi (71,8%) so với CEA (38,5%); ở giai đoạn III, mSEPT9 có khả năng phát hiện gấp 2,2 lần (84%) so với CEA (38,0%).

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

- Ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tình trạng mSEPT9 khi phân theo nhóm chiều dài khối u với ngưỡng 5cm; phân nhóm đường kính khối u theo ngưỡng 4cm; phân nhóm giai đoạn khối u, phân nhóm giai đoạn di căn hạch, phân nhóm giai đoạn di căn xa của khối u ĐTT, giai đoạn theo phân nhóm TNM, 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 thống kê về tình trạng mSEPT9 khi phân theo nhóm tuổi, giới tính, bệnh lý mạn tính, triệu chứng lâm sàng, vị trí khối u, đặc điểm đại thể trên nội soi, đặc điểm mô bệnh học, đặc điểm bất ổn định vi vệ tinh với $p > 0,05$.

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



Hình 3.2. Sự thay đổi mSEPT9 trước và sau phẫu thuật triệt căn

Xét nghiệm mSEPT9 trên 50 BNUTĐTT giai đoạn III trước phẫu thuật và 7 ngày sau phẫu thuật triệt căn, tỷ lệ dương tính với mSEPT9 huyết tương sau phẫu thuật 34% (17/50) giảm đáng kể so với trước phẫu thuật 84% (42/50), với sự thay đổi có ý nghĩa thống kê ($p = 0,027$).

Bảng 3.3. Mối liên quan giữa mSEPT9 sau phẫu thuật và tình trạng tiến triển sau phẫu thuật triệt căn ở nhóm BNUTĐTT giai đoạn III

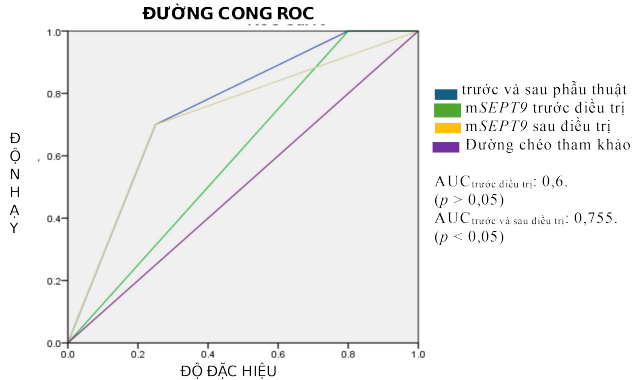
Nhóm đối tượng	Không tiến triển n (%)	Tiến triển n (%)	Tổng
mSEPT9 sau phẫu thuật			
Âm tính	30 (90,9)	03 (9,1)	33 (100)
Dương tính	10 (58,8)	07 (41,2)	17 (100)
OR	7,000		
<i>p</i>	0,021 (95%CI: 1,515 - 32,333)		

Trong 33 BN mSEPT9 âm tính sau phẫu thuật có 03 BN (9,1%) tiến triển, trong 17 BN mSEPT9 dương tính có 07 BN (41,2%) tiến triển. BN sau phẫu thuật triệt căn nhóm mSEPT9 dương tính có nguy cơ tái phát và di căn cao gấp 7 lần so với nhóm mSEPT9 âm tính sau phẫu thuật ($OR = 7$, $p < 0,05$).

Bảng 3.4 Mối liên quan mSEPT9 trước và sau phẫu thuật với giai đoạn khối u, giai đoạn di căn hạch và giải phẫu bệnh

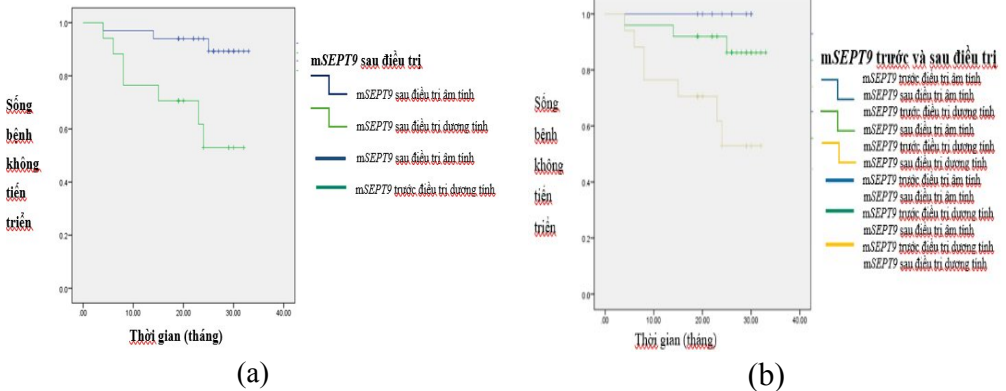
Biến số	n	Trước phẫu thuật			Sau phẫu thuật		
		mSEPT9 (-) n (%)	mSEPT9 (+) n (%)	<i>p</i>	mSEPT9 (-) n (%)	mSEPT9 (+) n (%)	<i>p</i>
UTĐTT	50	11 (22)	39 (78)		33 (66,0)	17 (34,0)	
Giai đoạn T				1,00			0,039
T1 + T2	12	2(16,7)	10(83,3)		11 (91,7)	1(8,3)	
T3 + T4	38	9(23,7)	29(76,3)		22 (57,9)	16 (42,1)	
Giai đoạn N				0,71			0,216
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)	
Mô học							
UTBM tuyến	41	5 (12,2)	36 (87,8)	0,14	24 (58,5)	17 (41,5)	0,02
Khác UTBM tuyến	9	3 (33,3)	6 (66,7)		9 (100)	0(0)	

Từ 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, đặc điểm mô học 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, đặc điểm mô học với $p < 0,05$, còn tình trạng di căn hạch sau phẫu thuật chưa ghi nhận sự khác biệt với $p > 0.05$.



Hình 3.3. Phân tích giá trị dự đoán tiến triển sau phẫu thuật khi kết hợp mSEPT9 trước và sau phẫu thuật ở BNUTĐTT giai đoạn III

Phân tích đường cong ROC cho thấy mSEPT9 trước phẫu thuật không có ý nghĩa trong dự đoán tình trạng tiến triển của BNUTĐTT giai đoạn III sau phẫu thuật triệt căn với $AUC = 0,6$; $p > 0,05$. Khi kết hợp với mSEPT9 sau phẫu thuật có giá trị dự đoán tình trạng tiến triển sau phẫu thuật triệt căn ở mức độ khá tốt ($AUC = 0,755$, $p < 0,05$).



Hình 3.4 Ước lượng tiến triển sau phẫu thuật triệt căn theo phương pháp Kaplan-Meier. (a): mSEPT9 sau phẫu thuật, (b): mSEPT9 trước và sau phẫu thuật

PFS ở nhóm mSEPT9 dương tính sau phẫu thuật ngắn hơn so với nhóm mSEPT9 âm tính sau phẫu thuật khác biệt có ý nghĩa thống kê. Kết hợp mSEPT9 trước và sau phẫu thuật thấy tiên lượng tốt nhất cho nhóm mSEPT9 âm tính trước và sau phẫu thuật; PFS ngắn nhất ở nhóm mSEPT9 dương tính cả trước và sau phẫu thuật, sự khác biệt có ý nghĩa với $p < 0,05$ (kiểm định Log Rank).

Bảng 3.5. Hồi quy Cox cho PFS ở BN UTĐTT 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)	0,94	1 (ref)	0,85
Nam	0,953 (0,26-3,37)		0,86 (0,19-3,82)	
Tuổi				
≤ 60	1 (ref)	0,60	1 (ref)	0,96
> 60	0,72 (0,20-2,49)		0,96(0,24-3,73)	
Vị trí khối u				
Đại tràng Phải	1 (ref)		1 (ref)	
Đại tràng Trái	2,21(0,26-18,43)	0,46	2,10(0,17-25,63)	0,56
Trực tràng	1,22(0,12– 11,75)	0,86	3,27(0,24-43,33)	0,36
Chiều dài khối u				
< 5 cm	1 (ref)	0,21	1 (ref)	0,23
≥ 5 cm	2,37 (0,61 – 9,19)		0,34(0,05-2,02)	
Đường kính khối u				
< 4 cm	1 (ref)	0,09	1 (ref)	0,13
≥ 4 cm	3,20(0,82 – 12,44)		0,25(0,04-1,49)	
Thể mô học khối u				
Non -Carcinoma	1 (ref)	0,35	1 (ref)	0,97
Carcinoma	0,03(0,00 – 41,09)		0,74(0,001-59,49)	
Độ biệt hoá khối u				
Độ biệt hoá kém	1 (ref)		1 (ref)	0,84
Độ biệt hoá cao + vừa	0,57(0,07-4,55)	0,59	0,78(0,07-8,78)	
Giai đoạn T				
T1 + T2	1 (ref)	0,67	1 (ref)	0,10
T3 + T4	0,74(0,19-2,89)		7,63(0,66-86,99)	
mSEPT9 trước điều trị				
Âm tính	1 (ref)	0,36	1 (ref)	0,97
Dương tính	26,75(0,02-34300)		0,001(0,00-40,01)	
mSEPT9 sau điều trị				
Âm tính	1 (ref)	0,01	1 (ref)	0,035
Dương tính	5,67(1,45-22,11)		10,738(1,18– 97,69)	

Phân tích đơn biến cho thấy mSEPT9 dương tính sau phẫu thuật (HR: 5,677, $p < 0,05$) liên quan đến thời gian PFS ngắn hơn so với nhóm mSEPT9 âm tính sau phẫu thuật. Phân tích đa biến ghi nhận mSEPT9 dương tính sau phẫu thuật triệt căn (HR: 10,738, $p < 0,05$) là yếu tố độc lập dự báo PFS ngắn hơn so với nhóm mSEPT9 âm tính sau phẫu thuật.

CHƯƠNG 4 - BÀN LUẬN

4.1 Đặc điểm chung của nhóm đối tượng nghiên cứu

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

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

Để xác định giá trị chẩn đoán của mSEPT9 trong chẩn đoán UTĐTT chúng tôi thiết kế nghiên cứu bệnh chứng và thu được kết quả độ nhạy xét nghiệm là 76,3%, độ đặc hiệu 89,1%, giá trị tiên đoán dương tính 92,1%, giá trị tiên đoán âm tính 62,1%, giá trị chẩn đoán phân biệt UTĐTT với người khoẻ mạnh ở mức tốt AUC đạt 0,827 với $p < 0,0001$; OR = 26,42, $p < 0,0001$. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với một số nghiên cứu trước đó, cụ thể: Theo Sun và cộng sự (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, ghi nhận độ nhạy và độ đặc hiệu của mSEPT9 là 73.0% và 94.5%, AUC 0,8. Nghiên cứu của chúng tôi đạt độ nhạy cao hơn nhưng độ đặc hiệu thấp hơn so với nghiên cứu này. Theo Lu và cộng sự (2022) khi nghiên cứu nhóm 616 BNUTĐTT và 122 người khoẻ mạnh được xét nghiệm mSEPT9 ghi nhận độ nhạy 72,94%, độ đặc hiệu 81,97%, AUC 0,826. Nghiên cứu này đạt độ nhạy, độ đặc hiệu đều thấp hơn nghiên cứu của chúng tôi, về giá trị AUC thì có sự tương đồng. Theo Liang Min và cộng sự (2023) đã thực hiện phân tích gộp 79 nghiên cứu về giá trị của mSEPT9 trong chẩn đoán UTĐTT sử dụng bộ xét nghiệm thương mại Epi procolon 2.0 ghi nhận độ nhạy 0,679 (95% CI: 0,622–0,732), độ đặc hiệu là 0,903 (95% CI: 0,878–0,923), AUC là 0,8.

Ngoài ra, độ nhạy chẩn đoán của mSEPT9 cũng cao hơn so với độ nhạy của dấu ấn CEA với ngưỡng giá trị là 5ng/ml ở tất cả các

giai đoạn. Trong nghiên cứu của chúng tôi độ nhạy phát hiện giai đoạn 1 (53,3%), giai đoạn 2 (71,8%), giai đoạn 3 (84%), giai đoạn 4 (90,9%). Kết quả này của chúng tôi cũng phù hợp với các nghiên cứu khác đều ghi nhận độ nhạy cao hơn đối với những bệnh nhân có bệnh giai đoạn II–IV, có cải thiện về độ nhạy phát hiện ở giai đoạn I. Theo Sabine Leerhoff và cộng sự (2023) nghiên cứu trên 120 BNUTĐTT cũng ghi nhận độ nhạy phát hiện của *mSEPT9* cao hơn so với độ nhạy phát hiện của CEA ở tất cả các giai đoạn bệnh với tỉ lệ dương tính của *mSEPT9*, CEA ở giai đoạn I là 33% so với 12%, giai đoạn II là 68% so với 35%, giai đoạn III là 48% so với 27%, giai đoạn IV là 84% so với 46%.

Theo Quian Sun và cộng sự (2024) ghi nhận giá trị phát hiện *mSEPT9* theo giai đoạn UTĐTT lần lượt : giai đoạn I là 53%, giai đoạn II là 76,5%, giai đoạn III là 72,3%, giai đoạn IV là 88,9%. Đồng thời trong nghiên cứu của chúng tôi khi phân nhóm giai đoạn sớm (giai đoạn I , giai đoạn II) khi khối u khu trú tại chỗ và nhóm giai đoạn muộn (giai đoạn III, giai đoạn IV) khi khối u tiến triển tại vùng có di căn hạch và di căn xa, ghi nhận giá trị chẩn đoán của *mSEPT9* phối hợp CEA đạt AUC 0,686, $p < 0,05$, độ nhạy 86,7%, độ đặc hiệu 36,2%, OR = 3,719, $p < 0,001$.

Như vậy, *mSEPT9* phát hiện trong máu ngoại vi là một xét nghiệm có giá trị chẩn đoán phát hiện sớm UTĐTT phù hợp về cơ chế bệnh sinh của tình trạng methyl hoá DNA dẫn đến sự bất hoạt quá trình phiên mã, ức chế hoạt động các gen gây ung thư, đây là quá trình quan trọng trong quá trình gây ung thư sớm. Trong đó, gen *SEPT9* nằm trên nhiễm sắc thể 17q25.3 và có biểu hiện rộng rãi trong các tế bào người. Kết quả nghiên cứu xét nghiệm methyl hóa ở mức mô và huyết tương cho thấy vùng khởi động *SEPT9*-v2 đã bị methyl hóa gần như hoàn toàn ở BNUTĐTT và tiền ung thư. Với kỹ thuật xét nghiệm Nested – PCR sử dụng mẫu dò khoá có khả năng kéo dài chuỗi cái đạt được độ nhạy cao, đồng thời chi phí xét nghiệm tiết kiệm tạo cơ hội mở rộng xét nghiệm tích hợp với lâm sàng trong

thực hành điều trị cho BN.

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

Ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tình trạng mSEPT9 khi phân theo nhóm chiều dài khối u với ngưỡng 5cm; phân nhóm đường kính khối u theo ngưỡng 4cm; phân nhóm giai đoạn khối u, phân nhóm giai đoạn di căn hạch, phân nhóm giai đoạn di căn xa của khối u ĐTT, giai đoạn theo phân nhóm TNM, phân theo nhóm mức độ CEA trước điều trị với ngưỡng 5 ng/ml với $p < 0,05$. Tương tự như các nghiên cứu Jie S. và cộng sự (2021) 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, giai đoạn di căn xa, nhưng trong nhóm giai đoạn hạch N1, N2 thì chưa thấy sự khác biệt.

4.3 Đặc điểm độ biến động mSEPT9 trước và sau phẫu thuật triệt căn ở nhóm BNUTĐTT giai đoạn III

Để nghiên cứu về biến động của mSEPT9 trước và sau điều trị triệt căn đồng thời bước đầu đánh giá khả năng tiên lượng dự đoán tiến triển sau phẫu thuật, chúng tôi lấy máu ngoại vi BN UTĐTT xét nghiệm mSEPT9 trước điều trị và sau phẫu thuật 7 ngày, theo dõi dọc ghi nhận thời điểm tái phát, di căn nếu có. Nghiên cứu thu được kết quả nhóm BN mSEPT9 dương tính sau phẫu thuật có nguy cơ tiến triển cao hơn so với nhóm mSEPT9 âm tính sau phẫu thuật ($OR = 7$, $p < 0,05$). Phân tích sống còn theo phương pháp Kaplan-Meier ghi nhận nhóm có mSEPT9 dương tính sau phẫu thuật có PFS ngắn hơn đáng kể nhóm mSEPT9 âm tính sau phẫu thuật, đồng thời khi phân tích đa biến nhận thấy mSEPT9 sau phẫu thuật triệt căn ($HR: 10,738$, $p < 0,05$) là yếu tố độc lập dự báo PFS của BNUTĐTT. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với một số nghiên cứu trước đó, theo Yuan và cộng sự (2022) nghiên cứu BN UTĐTT giai đoạn II-III 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. Theo Hua Gao và cộng sự (2023) 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% (04/77). 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 ghi nhận 41,2% (07/17) BN tiến triển trong nhóm mSEPT9 dương tính sau phẫu thuật cao hơn so với 9,1% (03/33) BN tiến triển trong nhóm mSEPT9 âm tính sau phẫu thuật. Theo Rong Li và cộng sự (2024) theo dõi 30 BN UTĐTT trước phẫu thuật và 7 ngày sau phẫu thuật cũng ghi nhận 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. Kết quả nghiên cứu trên lâm sàng về đặc điểm mSEPT9 trước và sau phẫu thuật triệt căn cho thấy sự phù hợp với cơ chế bệnh sinh của UTĐTT gây ra do quá trình tăng tình trạng mSEPT9 dẫn đến hậu quả ức chế phiên mã, mất chức năng bất hoạt khối u, kích hoạt các con đường tín hiệu quan trọng như Wnt/ β -catenin hoặc PI3K/AKT thúc đẩy phát triển và di căn UTĐTT.

Như vậy, đặc điểm mSEPT9 sau phẫu thuật có thể được sử dụng đánh giá hiệu quả phẫu thuật cũng như tiên lượng nguy cơ tái phát di căn sau phẫu thuật ở BN UTĐTT.

KẾT LUẬN

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 có 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 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 ($OR = 3,719, p < 0,001$).

2. Đặc điểm độ biến động mSEPT9 trước và sau phẫu thuật 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 CÔNG BỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI 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>.