

KHẢO SÁT TÍNH TOÀN VỆ CỦA CCFDNA ALU-115, ALU-247 Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ VÚ

Nguyễn Trọng Tuệ^{1,✉}, Nguyễn Văn Huy²

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Đa khoa tỉnh Ninh Bình

ccfDNA (cell-free circulating DNA) là DNA tự do lưu hành trong máu, có nguồn gốc từ tế bào chết hoặc bị tổn thương. ALU-115 và ALU-247 là những đoạn DNA nhỏ, có thể được sử dụng để đánh giá tính toàn vẹn của ccfDNA, đặc biệt trong ung thư. Do vậy nghiên cứu này mong muốn khảo sát nồng độ và tính toàn vẹn của ccfDNA ALU-115 và ALU-247 từ đó đánh giá vai trò của chúng với một số yếu tố lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân ung thư vú. Nghiên cứu sử dụng phương pháp bệnh-chứng với tỷ lệ nhóm bệnh trên nhóm chứng là 50/50 bệnh nhân. Kết quả nghiên cứu cho thấy ở nhóm bệnh, nồng độ trung bình của ALU-115 là $3,37 \pm 3,9$ ng/mL và ALU-247 là $0,21 \pm 0,24$ ng/mL thấp hơn so với nhóm chứng tương ứng lần lượt là $80,46 \pm 163,94$ ng/mL và $0,87 \pm 1,44$ ng/mL. Tính toàn vẹn của ccfDNA (DI) ở nhóm bệnh là $0,1 \pm 0,06$ cao hơn so với nhóm chứng là $0,07 \pm 0,08$. Trung bình DI thấp nhất ở bệnh nhân UTV giai đoạn I so với các giai đoạn còn lại (II, III, IV) và có xu hướng tăng theo mức độ nghiêm trọng và giai đoạn bệnh (II, III, IV). DI của nhóm bệnh nhân có ER (+) thấp hơn nhóm ER (-). Chưa tìm thấy mối liên quan giữa nồng độ và tính toàn vẹn của ccfDNA ALU-115 và ALU-247 với các yếu tố lâm sàng như đặc điểm hạch vùng, di căn xa, nhóm bệnh, cũng như với các protein CA15-3, PR, HER-2, Ki67. Nghiên cứu ban đầu cho thấy tính toàn vẹn của ccfDNA có tiềm năng góp phần vào theo dõi tiến triển bệnh và đáp ứng điều trị của bệnh nhân UTV khi thực hiện với mức độ sâu và rộng hơn.

Từ khóa: Ung thư vú, ALU-115, ALU-247, tính toàn vẹn.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo GLOBOCAN 2020, ung thư được xem là nguyên nhân gây tử vong đứng hàng thứ hai trên toàn cầu và có khả năng gây tử vong cho khoảng 9,9 triệu người mỗi năm. Năm 2020 trên toàn thế giới có khoảng 19,2 triệu ca ung thư mới mắc, trong đó ung thư vú (UTV) chiếm tỷ lệ cao nhất là 11,7% (2,2 triệu ca). Ung thư vú đứng thứ 5 trong tổng số các loại ung thư gây tử vong chiếm 6,9% tổng số tử vong các loại ung thư.¹ Tại Việt Nam, theo báo cáo mới nhất GLOBOCAN 2020 cho thấy ung thư vú vẫn đứng hàng đầu về tỷ lệ mới mắc và tỷ lệ tử

vong do ung thư ở phụ nữ, ca mới mắc chiếm 25,8 % và số ca tử vong chiếm 19,4 %.¹

Hiện nay, để chẩn đoán và theo dõi điều trị bệnh ung thư vú đã có nhiều dấu ấn sinh học như protein (CA15-3), các gen đặc hiệu (BRCA1, BRCA2, p53)... Tuy nhiên, đây là các dấu ấn protein, để các protein này cho thấy sự thay đổi về nồng độ thường đã muộn hơn nhiều so với các dấu ấn phân tử, cùng với sự tiến bộ của sinh học phân tử, các nhà khoa học trên thế giới đã có phát hiện mới về vai trò của ccfDNA trong bệnh ung thư vú như một dấu ấn sinh học mới không xâm lấn cho thấy vai trò như phát hiện DNA của tế bào ung thư, giám sát sự phát triển của khối u và di căn. Việc sử dụng ccfDNA để tiên lượng và theo dõi đáp ứng điều trị bệnh ung thư vú là một phát hiện mới

Tác giả liên hệ: Nguyễn Trọng Tuệ

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: Trongtue@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 19/09/2024

Ngày được chấp nhận: 09/10/2024

đáng quan tâm trong y học trên thế giới.^{2,3} Sự thay đổi của nồng độ ccfDNA ở bệnh nhân ung thư vú có thể liên quan đến số lượng và kích thước của khối u, giai đoạn bệnh, liệu pháp điều trị và hiệu quả điều trị.^{4,5}

ALU-115 chính là các đoạn ccfDNA ngắn có kích thước đồng đều (115 bp) chỉ do quá trình apoptosis được coi là ccfDNA tổng số. Còn ALU-247 là các đoạn ccfDNA kích thước dài hơn (247 bp) được giải phóng từ các quá trình khác apoptosis như hoại tử, NETosis... Tỷ lệ ALU-247/ALU-115 chính là tính toàn vẹn của ccfDNA (DI).^{6,7} Tính toàn vẹn của ccfDNA được phát hiện là có khả năng báo trước sự tiến triển của khối u và di căn hạch bạch huyết khu vực ở bệnh nhân ung thư vú nguyên phát.^{8,9} Vai trò của ccfDNA trong ung thư vú là rất hữu ích và đã được chứng minh trong nhiều nghiên cứu trên thế giới, tuy nhiên ở Việt Nam chưa có một nghiên cứu nào về vấn đề này. Vì vậy, với hy vọng góp phần chẩn đoán, theo dõi điều trị và tiên lượng bệnh ung thư vú chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài này với mục tiêu khảo sát nồng độ và tính toàn vẹn của ccfDNA ALU-115 và ALU-247 từ đó đánh giá vai trò của nó với một số yếu tố lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân UTV.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Bệnh nhân đã được chẩn đoán ung thư vú theo kết quả giải phẫu bệnh, nhóm chứng là người khám sức khỏe định kỳ, có kết quả không mắc bất kỳ bệnh ung thư nào tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội trong thời gian từ tháng 01/2023 đến tháng 09/2023.

Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân

- Bệnh nhân đã được chẩn đoán xác định ung thư vú bằng lâm sàng và mô bệnh học tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội.

- Bệnh nhân đã phẫu thuật và đang được điều trị định kỳ tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội.

- Bệnh nhân có hồ sơ ghi chép đầy đủ thông tin đáp ứng cho nội dung nghiên cứu.

- Bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân mắc ung thư khác phối hợp

- Bệnh nhân không có đầy đủ hồ sơ bệnh án

2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu

- Nghiên cứu bệnh chứng.

- Nghiên cứu khảo sát lựa chọn cỡ mẫu 50 cho mỗi nhóm.

Các bước nghiên cứu

Thu thập mẫu máu và chuẩn bị huyết tương

Thu thập mẫu máu và chuẩn bị huyết tương như theo nghiên cứu của Umetani (2006) và Iqbal (2015).^{8,9} Lấy 2mL máu tĩnh mạch của mỗi người tham gia nghiên cứu vào ống có chất chống đông EDTA, tiến hành ly tâm với tốc độ 1000 vòng/ phút trong 15 phút để thu được huyết tương. Các mẫu huyết tương được mã hoá theo nghiên cứu. Sau đó thực hiện tách chiết ccfDNA ngay sau khi thu thập để đảm bảo thu được lượng sản phẩm lớn nhất.

Tách chiết ccfDNA

Tách chiết ccfDNA theo quy trình của Umetani (2006) và Iqbal (2015)^{8,9}:

Sử dụng đệm Tween-20: 2,5%, Tris: 50 mmol/L, EDTA: 1 mmol/L.

Bảo quản ccfDNA thu được ở -20°C đến khi tiến hành phản ứng realtime PCR.

Định lượng ccfDNA ALU-115 và ALU-247 bằng phương pháp Realtime PCR

Chuẩn bị Master mix theo nghiên cứu của Umetani (2006) và Iqbal (2015) và khuyến cáo của nhà sản xuất hoá chất Vazyme Biotech.^{8,9}

Sử dụng các cặp mồi có trình tự như sau:

ALU115-F: 5'-CCTGAGGTCAGGAGTTCGAG-3'

ALU115-R: 5'-CCCGAGTAGCTGGGATTACA-3'

ALU247-F: 5'-GTGGCTCACGCCTGTAATC-3'

ALU247-R: 5'-CAGGCTGGAGTGCAGTGG-3'

Phản ứng realtime PCR được thực hiện theo chu trình nhiệt: 95°C/5 phút, 40 chu kỳ (95°C/30 giây, 60°C/30 giây, 72°C/30 giây).

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

Phân tích và xử lý số liệu

Thiết kế và nhập số liệu bằng phần mềm

Microsof Excel 2021. Các số liệu được phân tích và xử lý bằng phần mềm SPSS 20.0. Sử dụng test χ^2 để so sánh các tỷ lệ, T-test và One-Way ANOVA so sánh các giá trị trung bình. Tất cả các kiểm định thống kê đều có hai mặt và $p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê. Các giá trị $\bar{X} \pm SD$ làm tròn đến hai chữ số thập phân.

3. Đạo đức nghiên cứu

Đề tài nghiên cứu được Hội đồng đạo đức của Trường Đại học Y Hà Nội chấp thuận nhằm đảm bảo tính đạo đức, khoa học và khả thi của đề tài. Nghiên cứu được sự chấp thuận triển khai của Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, của Trung tâm Nghiên cứu Gen-Protein, Trường Đại học Y Hà Nội. Các thông tin liên quan đến đối tượng được mã hoá và giữ bảo mật an toàn. Đề tài nghiên cứu này được thực hiện hoàn toàn vì mục đích khoa học chứ không vì mục đích nào khác.

III. KẾT QUẢ

1. Đặc điểm của nhóm nghiên cứu

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

Tên biến	Nhóm bệnh	Nhóm chứng
Tuổi	51,4 ± 11,8	36,28 ± 7,7
Giai đoạn ung thư		
I	6 (12%)	-
II	25 (50%)	-
III	12 (24%)	-
IV	7 (14%)	-
Nhóm bệnh theo hoá mô miễn dịch		
Luminal A	6 (12,77%)	-
Luminal B-HER-2(-)	10 (21,28%)	-
Luminal B-HER-2(+)	18 (38,3%)	-
HER-2 (+)	11 (23,4%)	-
Basal-like	2 (4,26%)	-

Tên biến	Nhóm bệnh	Nhóm chứng
Hạch vùng		
Có	29 (58%)	-
Không	21 (42%)	-
Di căn xa		
Có	7 (14%)	-
Không	43 (86%)	-
Kích thước khối u		
Đường kính ≤ 2cm	8 (16%)	-
Đường kính 2 – 5 cm	30 (60%)	-
Đường kính > 5 cm	12 (24%)	-
CA 15-3		
Cao (> 25 U/mL)	4 (12,5%)	-
Bình thường (≤ 25 U/mL)	28 (72,5%)	-
ER		
Dương tính	33 (70,2%)	-
Âm tính	14 (29,8%)	-
PR		
Dương tính	31 (66%)	-
Âm tính	16 (34%)	-
HER-2		
Dương tính	29 (66%)	-
Âm tính	18 (38,3%)	-
Ki67		
Dương tính	36 (81,8%)	-
Âm tính	8 (18,2%)	-

Trong đó: CA15-3: Carbohydrate antigen 15 – 3; ER: thụ thể Estrogen; PR: progesterone; HER-2 (Human epidermal growth factor receptor 2): thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì ở người 2; Ki67: chỉ số tăng sinh tế bào thể hiện tốc độ phân chia và phát triển của các tế bào khối u.

Kết quả nghiên cứu, độ tuổi trung bình của nhóm bệnh nhân là $51,4 \pm 11,8$ tuổi, độ tuổi trung bình của nhóm chứng là $36,28 \pm 7,7$ tuổi. Về đặc điểm lâm sàng của các đối tượng bệnh nhân trong nghiên cứu chủ yếu đang ở giai đoạn II, chiếm tỷ lệ 50%, thường có hạch vùng

(58%) và chưa di căn (86%), bệnh nhân có kích thước khối u chủ yếu từ 2 - 5cm. Về đặc điểm cận lâm sàng, nhóm bệnh nhân nghiên cứu đa số có kết quả xét nghiệm CA 15-3 bình thường,

đa phần dương tính với các thụ thể ER (70,2%), PR (66%), HER-2 (66%) và Ki67 (81,8%).

2. Nồng độ và tính toàn vẹn của ccfDNA ALU-115, ALU-247

Bảng 2. Nồng độ ccfDNA ALU-115, ALU-247 và DI trên nhóm bệnh nhân ung thư vú và nhóm chứng

	Nhóm bệnh (X ± SD) ng/mL	Nhóm chứng (X ± SD) ng/mL	p
ALU-115	3,37 ± 3,90	80,46 ± 163,94	0,002*
ALU-247	0,21 ± 0,24	0,87 ± 1,44	0,002*
DI	0,10 ± 0,06	0,07 ± 0,08	0,044*

Trong đó: DI (DNA integrity): Tính toàn vẹn của DNA

Kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ trung bình của ALU-115 và ALU-247 ở nhóm bệnh nhân ung thư vú lần lượt là 3,37 ± 3,90 ng/mL và 0,21 ± 0,24 ng/mL thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng là 80,46 ± 163,94 ng/mL và

0,87 ± 1,44 ng/mL. Mặt khác, tính toàn vẹn có sự tăng có ý nghĩa ở nhóm bệnh là 0,10 ± 0,06 so với nhóm chứng là 0,07 ± 0,08 (p < 0,05).

3. Mối liên quan giữa nồng độ, tính toàn vẹn của ccfDNA ALU-115 và ALU-247 với một số yếu tố lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân UTV

Bảng 3. Nồng độ ALU-115, ALU-247 và DI liên quan với một số yếu tố lâm sàng

		ALU-115 (ng/mL)	p	ALU-247 (ng/mL)	p	DI	p
Giai đoạn bệnh	I	6,31 ± 3,76	0,151	0,24 ± 0,11	0,344	0,03 ± 0,02	-
	II	3,11 ± 3,92		0,23 ± 0,29		0,11 ± 0,07	0,000* (I&II)
	III	4,09 ± 4,89		0,1 ± 0,07		0,1 ± 0,07	0,019* (I&III)
	IV	3,36 ± 3,91		0,28 ± 0,27		0,08 ± 0,03	0,02* (I&IV)
Hạch vùng	Có	3,11 ± 4,13	0,608	0,22 ± 0,27	0,661	0,1 ± 0,05	0,79
	Không	3,73 ± 3,63		0,19 ± 0,19		0,09 ± 0,08	
Di căn xa	Có	4,09 ± 4,89	0,597	0,28 ± 0,27	0,396	0,08 ± 0,03	0,267
	Không	3,25 ± 3,77		0,19 ± 0,23		0,1 ± 0,07	

		ALU-115 (ng/mL)	<i>p</i>	ALU-247 (ng/mL)	<i>p</i>	DI	<i>p</i>
Nhóm bệnh theo hoá mô miễn dịch	Luminal A	3,0 ± 3,5		0,17 ± 0,1		0,07 ± 0,06	
	Luminal B HER2 (-)	3,98 ± 4,82		0,22 ± 0,25		0,1 ± 0,08	
	Luminal B HER2 (+)	2,4 ± 3,27	0,232	0,14 ± 0,11	0,36	0,1 ± 0,7	0,346
	HER-2 (+)	5,56 ± 4,39		0,37 ± 0,38		0,08 ± 0,04	
	Basal-like	0,55 ± 0,39		0,1 ± 0,06		0,17 ± 0,002	

Theo kết quả nghiên cứu trong bảng 3, nồng độ ALU-115 của bệnh nhân ở giai đoạn II thấp nhất là $3,11 \pm 3,92$ ng/mL và cao nhất ở giai đoạn I là $6,31 \pm 3,76$ ng/mL. Nồng độ ALU-115 ở bệnh nhân có hạch và không hạch chưa có sự khác biệt lần lượt là $3,11 \pm 4,13$ ng/mL và $3,73 \pm 3,63$ ng/mL. Đối với bệnh nhân có di căn xa nồng độ ALU-115 ($4,09 \pm 4,89$ ng/mL) cao hơn không di căn xa ($3,25 \pm 3,77$ ng/mL) tuy nhiên khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê. Trong nhóm bệnh theo hoá mô miễn dịch nồng độ ALU-115 cao nhất ở nhóm HER-2 (+) là $5,56 \pm 4,39$ ng/mL và thấp nhất ở nhóm Basal-like là $0,55 \pm 0,39$ ng/mL.

Đặc điểm nồng độ ALU-247, bệnh nhân giữa các giai đoạn I, II, III, IV không có sự khác

biệt đáng kể cụ thể lần lượt là $0,24 \pm 0,11$ ng/mL; $0,23 \pm 0,29$ ng/mL; $0,1 \pm 0,07$ ng/mL; $0,28 \pm 0,27$ ng/mL. Ở nhóm có di căn xa là $0,28 \pm 0,27$ ng/mL cao hơn nhóm không có di căn là $0,19 \pm 0,23$ ng/mL. Ở nhóm có hạch ($0,22 \pm 0,27$ ng/mL) cao hơn nhóm không có hạch ($0,19 \pm 0,19$ ng/mL).

Tính toàn vẹn ở bệnh nhân giai đoạn I ($0,03 \pm 0,02$) có thấp hơn so với các giai đoạn II ($0,11 \pm 0,07$), III ($0,1 \pm 0,07$), IV ($0,08 \pm 0,03$) với *p* lần lượt là 0,000, 0,019 và 0,02. DI ở nhóm có di căn thấp hơn nhóm không di căn lần lượt là $0,08 \pm 0,03$ và $0,1 \pm 0,07$ với *p* > 0,05. DI ở nhóm có hạch vùng và nhóm bệnh theo hoá mô miễn dịch chưa tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa.

Bảng 4. Nồng độ ALU-115, ALU-247 và DI liên quan với một số yếu tố cận lâm sàng

		ALU-115 ng/mL	<i>p</i>	ALU-247 ng/mL	<i>p</i>	DI	<i>p</i>
CA 15-3	Cao	5,03 ± 6,54	0,44	0,31 ± 0,35	0,42	0,08 ± 0,04	0,86
	Bình thường	3,34 ± 3,69		0,2 ± 0,24		0,09 ± 0,07	
ER	Dương tính	3,11 ± 4,13	0,608	0,22 ± 0,27	0,661	0,1 ± 0,05	0,79
	Âm tính	3,73 ± 3,63		0,19 ± 0,19		0,09 ± 0,08	
PR	Dương tính	3,0 ± 3,89	0,261	0,17 ± 0,17	0,163	0,1 ± 0,07	0,476
	Âm tính	4,4 ± 4,17		0,3 ± 0,33		0,09 ± 0,05	

		ALU-115 ng/mL	p	ALU-247 ng/mL	p	DI	p
HER-2	Dương tính	3,6 ± 3,98	0,783	0,23 ± 0,27	0,565	0,09 ± 0,06	0,785
	Âm tính	3,27 ± 4,14		0,19 ± 0,2		0,1 ± 0,07	
Ki67	Dương tính	3,35 ± 3,85	0,426	0,23 ± 0,27	0,513	0,1 ± 0,06	0,27
	Âm tính	4,64 ± 5,18		0,16 ± 0,12		0,07 ± 0,07	

Theo kết quả nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy nồng độ ALU-115, ALU-247 và DI có sự thay đổi ở các nhóm CA 15-3 cao, ER dương tính, PR dương tính, HER-2 dương tính và Ki67 dương tính nhưng khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

IV. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu này, độ tuổi trung bình của nhóm bệnh nhân ung thư vú là $51,4 \pm 11,8$ tuổi hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu trước đó như nghiên cứu của Umetani (2006) là 58 ± 12 tuổi, nghiên cứu của Arko-Boham (2019) là $50,6 \pm 10,2$ tuổi.^{8,10}

Bệnh nhân ung thư vú ở giai đoạn II chiếm tỷ lệ cao nhất là 50%, tương tự nghiên cứu của Nair (2023).¹¹ Nhóm bệnh nhân có hạch vùng chiếm tỷ lệ cao 58% và 86% bệnh nhân có di căn. Bệnh nhân thuộc nhóm Luminal B – HER2 (+) chiếm tỷ lệ cao nhất 38,3 %, kết quả tương tự nghiên cứu của Adusei (2021).¹²

Nồng độ trung bình của ALU-115 ở nhóm bệnh là $3,37 \pm 3,90$ ng/mL thấp hơn so với nhóm chứng là $80,46 \pm 163,94$ ng/mL, khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,002$. Kết quả nghiên cứu của Umetani (2006): nồng độ trung bình của ALU-115 ở bệnh nhân ung thư vú giai đoạn II ($2,77 \pm 0,06$ ng/mL) và giai đoạn III ($2,89 \pm 0,13$ ng/mL) cao hơn nhóm phụ nữ khỏe mạnh ($2,43 \pm 0,1$ ng/mL) với $p = 0,01$ và $p < 0,0001$ tương ứng.⁸ Nghiên cứu của Iqbal (2015), nồng độ trung bình của ALU-115 ở bệnh nhân ung thư vú là $136,3 \pm 272,50$ ng/mL cao

hơn ở nhóm chứng là $39,1 \pm 22,96$ ng/mL với $p = 0,05$.⁹ Sự khác biệt giữa kết quả nghiên cứu của chúng tôi với các nghiên cứu trước đó có thể do đối tượng nghiên cứu của chúng tôi đã điều trị, dẫn đến nồng độ ALU-115 bị giảm đi so với bệnh nhân chưa điều trị. Kết quả này đã được chứng minh trong nghiên cứu của Adusei (2021): nồng độ ALU-115 ở bệnh nhân ung thư vú giảm sau khi điều trị là $1,67 \pm 0,662$ ng/mL so với trước điều trị $2,24 \pm 0,8$ ng/mL với $p = 0,003$.¹²

Nồng độ trung bình của ALU-247 ở nhóm bệnh là $0,21 \pm 0,24$ ng/mL thấp hơn so với nhóm chứng là $0,87 \pm 1,44$ ng/mL, khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Kết quả nghiên cứu của Iqbal (2015), nồng độ ALU-247 cao nhất ở bệnh nhân ung thư vú giai đoạn I-III ($63,8 \pm 154,77$ ng/mL) và thấp nhất ở nhóm chứng khỏe mạnh ($11,4 \pm 9,01$ ng/mL) với $p < 0,001$.⁹ Kết quả của chúng tôi có sự khác biệt có thể do đối tượng nghiên cứu là bệnh nhân ung thư vú đã điều trị khiến nồng độ ALU-247 giảm. Kết quả này đã được chứng minh trong nghiên cứu của Adusei (2021), nồng độ ALU-247 ở bệnh nhân sau điều trị là $2,12 \pm 0,69$ ng/mL thấp hơn trước điều trị là $2,73 \pm 0,11$ ng/mL với $p < 0,0001$.¹²

Trung bình DI của nhóm bệnh là $0,10 \pm 0,06$ cao hơn nhóm chứng là $0,07 \pm 0,08$, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Kết quả của chúng tôi phù hợp với các nghiên cứu trước đó như nghiên cứu của Umetani (2006), trung bình DI ở bệnh nhân ung thư vú giai đoạn

II, III, IV cao hơn nhóm phụ nữ khoẻ mạnh với $p = 0,005$, $p < 0,001$ và $p = 0,002$ tương ứng.⁸ Kết quả nghiên cứu của Iqbal (2015), DI trung bình của nhóm ung thư vú giai đoạn I-III là $0,53 \pm 0,23$ và giai đoạn IV là $0,60 \pm 0,26$ cao hơn nhóm chứng là $0,35 \pm 0,27$. DI của nhóm bệnh nhân tái phát ($0,65 \pm 0,23$) cao hơn đáng kể những bệnh nhân không tái phát ($0,49 \pm 0,21$), với $p = 0,005$.⁹ Nghiên cứu của Adusei (2021), DI của nhóm sau hoá trị chu kỳ thứ 3 ($1,27 \pm 1,04$) cao hơn nhóm chưa hoá trị ($1,22 \pm 0,14$) với $p=0,788$ và nhóm chưa hoá trị cao hơn nhóm chứng ($1,07 \pm 1,31$) với $p = 0,522$.¹² Nghiên cứu của Elhelaly (2021), DI của nhóm bệnh nhân ung thư vú (0,44) cao hơn nhóm bệnh vú lành tính (0,24) và nhóm chứng (0,21), với $p < 0,001$.¹³ Như vậy, DI thấp ở nhóm chứng khoẻ mạnh có thể do hoạt động hoại tử thấp trong các mô cơ thể, do đó làm giảm nồng độ các đoạn DNA dài hơn (ALU-247) lưu hành trong máu.

Trung bình DI ở giai đoạn I ($0,03 \pm 0,02$) thấp nhất so với các giai đoạn còn lại, cụ thể giai đoạn II ($0,11 \pm 0,07$), giai đoạn III ($0,1 \pm 0,07$) và giai đoạn IV ($0,08 \pm 0,03$) với p lần lượt là 0,000; 0,019 và 0,02. Kết quả hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của Nair (2023): DI giai đoạn 0 là 0,287 thấp hơn giai đoạn I là 1,126 ($p = 0,961$), thấp hơn giai đoạn II là 1,34 ($p = 0,513$) và thấp hơn giai đoạn III là 1,038 ($p = 0,903$).¹¹

Như vậy, những kết quả thu được từ nghiên cứu này chỉ ra rằng tính toàn vẹn ccfDNA có ý nghĩa hơn so với nồng độ đơn lẻ từng ccfDNA, tính toàn vẹn có xu hướng tăng theo mức độ nghiêm trọng và giai đoạn muộn của bệnh nhân. Bệnh nhân giai đoạn II, III, IV có DI tăng cao so với giai đoạn I và cao hơn nhóm chứng khoẻ mạnh. Sự thay đổi của DI do DNA của tế bào ung thư có xu hướng bị phân mảnh thành

các đoạn dài hơn, điều này có thể liên quan đến sự chết tế bào không kiểm soát và sự phân hủy nhanh chóng của DNA trong quá trình bệnh lý. Điều này có thể chứng minh rằng nồng độ ALU-247 tăng lên do được giải phóng nhiều hơn từ tế bào khối u vào tuần hoàn do sự xâm lấn bạch huyết, tăng lên do quá trình hoại tử tăng. Do đó, tính toàn vẹn của ccfDNA có thể được dùng để theo dõi tiến trình phát triển bệnh và tiên lượng hiệu quả điều trị bệnh UTV.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi chưa tìm thấy mối liên quan giữa nồng độ ALU-115, ALU-247, tính toàn vẹn của ccfDNA với các yếu tố lâm sàng và cận lâm sàng như hạch vùng, di căn, nhóm bệnh theo hoá mô miễn dịch, CA 15-3, PR, HER-2, Ki67.

Tuy nhiên, trong nghiên cứu này vẫn còn tồn tại những mặt hạn chế như cỡ mẫu nghiên cứu còn nhỏ, các bệnh nhân được lấy mẫu theo cách thuận tiện, do đó tỷ lệ bệnh nhân các giai đoạn chưa đồng đều dẫn đến chưa phản ánh toàn diện cho nhóm bệnh nhân UTV. Chúng tôi hy vọng với các nghiên cứu tiếp theo, mục tiêu được mở rộng và hoàn thiện hơn cho phần thiết kế chọn mẫu đầy đủ góp phần khẳng định vai trò các ccfDNA và đưa vào ứng dụng.

V. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu khảo sát này, kết quả cho thấy nồng độ ALU-115, ALU-247 ở nhóm bệnh nhân UTV thấp hơn nhóm chứng. Tính toàn vẹn của ccfDNA ở nhóm bệnh nhân UTV cao hơn nhóm chứng và có xu hướng tăng theo mức độ nghiêm trọng của giai đoạn ung thư từ I đến II, III, IV. Tính toàn vẹn của ccfDNA càng cao thì bệnh nhân càng nặng, mức độ hoại tử càng cao và tiên lượng càng xấu. Tính toàn vẹn của ccfDNA có tiềm năng trở thành chỉ thị sinh học góp phần quan trọng vào theo dõi điều trị và tiên lượng của bệnh nhân UTV.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Global Cancer Observatory, <http://gco.iarc.fr/>, Accessed Jan 21, 2023,
2. Fleischhacker M, Schmidt B, Circulating nucleic acids (CNAs) and cancer-a survey. *Biochim Biophys Acta*. 2017; 1775: 181-232,
3. Cicchillitti L, Corrado G, De Angeli M, et al. Circulating cell-free DNA content as blood based biomarker in endometrial cancer. *Oncotarget*. 2017; 8(70): 115230-43.
4. Thakur ZH, Becker A, Matei I, Huang Y, Costa-Silva B, Double-stranded DNA in exosomes: a novel biomarker in cancer detection. *Cell Research*. 2014; 24(6): 766-9,
5. Stoetzer OJ, Fersching DM, Salat C, Steinkohl O, Gabka CJ, Hamann U, Braun M, Feller AM, Heinemann V, Siegele B, Nagel D, Holdenrieder S, Prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients by circulating apoptotic biomarkers nucleosomes, DNase, cytokeratin-18 fragments and survivin. *Cancer Letters*. 2013; 336(1): 140-8,
6. Jahr S, Hentze H, Englisch S, Hardt D, Fackelmeyer FD, Hesch RD, Knippers RI, DNA fragments in the blood plasma of cancer patients: quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells. *Cancer Res*. 2001; 61: 1659-65,
7. Hussein NA, Mohamed SN, Ahmed MA. Plasma ALU-247, ALU-115, and cfDNA Integrity as Diagnostic and Prognostic Biomarkers for Breast Cancer. *Appl Biochem Biotechnol*. 2019; 187(3): 1028-1045. doi:10.1007/s12010-018-2858-4.
8. Umetani N, Giuliano AE, Hiramatsu SH, Amersi F, Nakagawa T, Martino S, Hoon DS, Prediction of breast tumor progression by integrity of free circulating DNA in serum. *J Clin Oncol*. 2006; 24(26): 4270-6,
9. Iqbal, Raina V, et al, Circulating cell-free DNA and its integrity as a prognostic marker for breast cancer. *SpringerPlus*. 2015; 4,
10. Arko-Boham B, et al, Circulating cell-free DNA integrity as a diagnostic and prognostic marker for breast and prostate cancers. *Cancer Genetics*. 2019: 235-236.
11. Nair MG et al, Estimation of ALU Repetitive Elements in Plasma as a Cost-Effective Liquid Biopsy Tool for Disease Prognosis in Breast Cancer. *Cancers*. 2023; 15(4): 1054,
12. Adusei E, et al, Reduced Serum Circulation of Cell-Free DNA Following Chemotherapy in Breast Cancer Patients. *Medical sciences*. 2021; 9(2): 37,
13. Elhelaly R, et al, Circulating Cell Free DNA and DNA Integrity Index as Discriminating Tools between Breast Cancer and Benign Breast Disease. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2022; 23(2): 545-552,

Summary

STUDY OF THE INTEGRITY OF CCFDNA ALU-115, ALU-247 IN PATIENTS WITH BREAST CANCER

ccfDNA (cell-free circulating DNA) is free DNA circulating in the blood, originating from dead or damaged cells. ALU-115 and ALU-247 are small DNA fragments that can be used to assess the integrity of ccfDNA, especially in cancer. Therefore, this study aims to investigate the concentration and integrity of ccfDNA ALU-115 and ALU-247, thereby evaluating their role in various clinical and preclinical factors of breast cancer patients. The study used a case-control method with a patient/control ratio of 50/50. The results showed that in the disease group, the average concentration of ALU-115 was 3.37 ± 3.9 ng/mL and ALU-247 was 0.21 ± 0.24 ng/mL, lower than the corresponding control group of 80.46 ± 163.94 ng/mL and 0.87 ± 1.44 ng/mL, respectively. The integrity of ccfDNA (DI) in the disease group was 0.1 ± 0.06 , higher than the control group of 0.07 ± 0.08 . The average DI was lowest in stage I breast cancer patients compared to the remaining stages (II, III, IV) and tended to increase with the severity and stage of the disease (II, III, IV). The DI of the patient group with ER (+) was lower than the ER (-) group. No correlation was found between the concentration and integrity of ccfDNA ALU-115 and ALU-247 with clinicopathological factors such as regional lymph node characteristics, distant metastasis, disease stage, as well as with proteins CA15-3, ER, PR, HER-2, Ki67. The initial study suggests the integrity of ccfDNA has a potential contribution to monitoring disease progression and treatment response in breast cancer patients. Further research performed on a larger scale is recommended to support this hypothesis.

Keywords: Breast cancer, ALU-115, ALU-247, integrity.