

SINH THIẾT LỎNG: CÁC DẤU ẤN SINH HỌC, CÁC ỨNG DỤNG LÂM SÀNG VÀ TRIỂN VỌNG TƯƠNG LAI

Nguyễn Nghiêm Luật¹

TÓM TẮT

1. Sinh thiết lỏng (LB) là một kỹ thuật xâm lấn tối thiểu được thực hiện trên các dịch cơ thể, chủ yếu là máu, để tìm các tế bào khối u lưu thông (CTCs), DNA khối u lưu thông (ctDNA), microRNA hoặc thành phần khối u khác, được giải phóng từ khối u vào các dịch cơ thể.

2. Các ưu điểm của sinh thiết lỏng: So với sinh thiết mô, sinh thiết lỏng ít xâm lấn hơn, ít tổn kém hơn, cho kết quả nhanh hơn, cho phép theo dõi điều trị theo thời gian thực và có thể dễ dàng lặp lại để theo dõi tiến trình của bệnh nhân. Hạn chế chủ yếu của sinh thiết lỏng là không đủ độ nhạy và độ chính xác để phân biệt các loại khối u khác nhau so với sinh thiết mô.

3. Các dấu ấn sinh học liên quan đến khối u của sinh thiết lỏng gồm: các tế bào khối u lưu thông (CTCs), DNA khối u lưu thông (ctDNA), các RNA khối u lưu thông (ctRNAs), các túi ngoại bào có nguồn gốc từ khối u (EVs) (exosomes) và các tiểu cầu bị thay đổi bởi khối u (TEPs). Trong số đó, chỉ có 1 xét nghiệm CTCs và 4 xét nghiệm ctDNA đã được FDA chấp thuận để ứng dụng trong lâm sàng, trong khi ctRNAs, EVs và TEPs là các dấu ấn có tiềm năng đầy hứa hẹn.

4. Các ứng dụng lâm sàng của sinh thiết lỏng gồm: sàng lọc và phát hiện sớm ung thư, chẩn đoán, xác định những thay đổi có thể tác động ở các khối u rắn di căn để lựa chọn điều trị đích, tiên lượng, theo dõi đáp ứng điều trị và kháng thuốc theo thời gian thực, và phát hiện khối u còn sót lại tối thiểu và sự tái phát sau phẫu thuật.

5. Tương lai của sinh thiết lỏng: Trong tương lai gần, sinh thiết lỏng dựa trên đa bộ thông qua phân tích tích hợp trí tuệ nhân tạo và học máy, là một chiến lược hấp dẫn để cải thiện hiệu suất phát hiện ung thư sớm, theo dõi đáp ứng điều trị và kháng thuốc, phát hiện khối u sót lại tối thiểu và sự tái phát. Do đó, sinh thiết lỏng có thể được sử dụng như một công cụ mới lạ trong y học chính xác.

SUMMARY

LIQUID BIOPSY: BIOMARKERS, CLINICAL APPLICATIONS AND FUTURE PERSPECTIVES

1. Liquid biopsy (LB) is a minimally invasive technique performed on body fluids, primarily blood, to look for circulating tumor cells (CTCs), circulating tumor DNA (ctDNA), microRNAs, or other tumor components that are released by tumors into body fluids.

2. The advantages and limitations of liquid biopsies: compared to the tissue biopsy, liquid biopsy is less invasive, less costly, available earlier, may allow for the real-time monitoring of therapies, and may be easily repeated to monitor the patient's progress. The major limitation of LB is the lack of sensitivity and precision to identify various tumor types compared to tissue biopsy.

¹*Đại học Y Hà Nội*

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Nghiêm Luật

SĐT: 0949300868

Email: luatnn@gmail.com

Ngày nhận bài: 13.6.2023

Người phản biện khoa học: PGS TS Hoàng Văn Sơn

Ngày duyệt bài: 15.6.2023

3. Cancer-related biomarkers of liquid biopsy include: Circulating tumor cells (CTCs), circulating tumor DNA (ctDNA), circulating tumor RNAs (ctRNAs), tumor-derived extracellular vesicles (EVs) (exosomes), and tumor-educated platelets (TEPs). Among them, only one CTC test and 4 ctDNA tests have been approved by FDA in the clinical application, while ctRNAs, EVs and TEPs are biomarkers with promising potential.

4. Clinical applications of liquid biopsy include: Screening and early detection of cancer, diagnosis, determining actionable alterations in metastatic solid tumors for a targeted therapy selection, prognosis, real-time monitoring of treatment response and drug resistance, and detection of minimal residual disease and recurrence after surgery.

5. Future perspectives of liquid biopsy: In the near future, multi-omics-based liquid biopsy through integrative analysis of artificial intelligence (AI) and machine learning is an appealing strategy to improve the performance of early cancer detection, monitoring of treatment response and drug resistance, detection of minimal residual disease and recurrence. Thus, liquid biopsy could be used as a novel tool in precision medicine.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), ung thư gây ra gần 10 triệu ca tử vong vào năm 2020. Con số này được ước tính sẽ tiếp tục tăng trong những thập kỷ tiếp theo và sẽ đạt 27 triệu ca mắc mới vào năm 2040. Là yếu tố gây tử vong thứ hai, ung thư chiếm 1/6 số ca tử vong trên toàn thế giới mỗi năm.

Việc phát hiện sớm và điều trị kịp thời đóng một vai trò quan trọng và có thể làm giảm tỷ lệ tử vong của bệnh nhân ung thư. Mặc dù sinh thiết mô (tissue biopsy) hiện là

tiêu chuẩn vàng (gold standard) để chẩn đoán, phân tích hình thái và hóa mô miễn dịch của ung thư nhưng nó có các hạn chế là xâm lấn, phụ thuộc vào tình trạng bệnh và vị trí của khối u. Trong hơn 10 năm qua, sinh thiết lỏng (liquid biopsy), có thể được thực hiện trên máu và các dịch sinh học khác, là một phương pháp không xâm lấn, an toàn và hiệu quả, có tiềm năng ứng dụng trong chẩn đoán sớm, tiên lượng và theo dõi điều trị ung thư [2, 3, 4].

Trong bài viết này, chúng tôi giới thiệu các khái niệm cơ bản về sinh thiết lỏng, các ưu điểm và hạn chế, các dấu ấn sinh học, các ứng dụng và tương lai của sinh thiết lỏng.

II. NHỮNG KHÁI NIỆM CƠ BẢN VỀ SINH THIẾT LỎNG

Sinh thiết lỏng (liquid biopsy) là một kỹ thuật xâm lấn tối thiểu được thực hiện trên các dịch cơ thể, chủ yếu là máu. Các dịch cơ thể có tiềm năng cho sinh thiết lỏng có thể gồm: dịch não tủy, nước bọt, huyết thanh, huyết tương, tinh dịch và nước tiểu. Đặc biệt, các thành phần tế bào khối u của sinh thiết lỏng dựa trên máu có thể gồm: các tế bào khối u lưu thông (CTCs), DNA khối u lưu thông (ctDNA), các RNA khối u lưu thông, các túi ngoại bào (EVs), các tiểu cầu bị thay đổi bởi khối u (tumor-educated platelets: TEPs) [1, 4, 5].

Cho đến nay, một số xét nghiệm CTCs và ctDNA đã được FDA phê chuẩn để sử dụng trong lâm sàng, trong khi các EVs, ctRNAs và TEPs là những dấu ấn sinh học khối u lưu thông có tiềm năng hứa hẹn trong quản lý ung thư [5].

III. NHỮNG ƯU ĐIỂM VÀ HẠN CHẾ CỦA SINH THIẾT LỎNG SO VỚI SINH THIẾT MÔ

3.1. Những ưu điểm của sinh thiết lỏng:

- 1) Sinh thiết lỏng ít xâm lấn hơn đáng kể so với quy trình sinh thiết mô.
- 2) Xét nghiệm nhanh hơn so với sinh thiết mô, có thể giúp chẩn đoán sớm
- 3) Sinh thiết lỏng thường ít tổn kém hơn nhiều so với sinh thiết mô.
- 4) Sinh thiết lỏng có thể sử dụng để dự đoán nguy cơ tái phát hoặc di căn.
- 5) Sinh thiết lỏng có thể giúp phân tầng, theo dõi đáp ứng điều trị theo thời gian thực và có thể xác định tốt hơn các đích điều trị.
- 6) Có thể dễ dàng lặp lại xét nghiệm để theo dõi tiến trình của bệnh [4, 5].

3.2. Những hạn chế của sinh thiết lỏng:

- 1) Hạn chế chủ yếu của sinh thiết lỏng là không đủ độ nhạy và độ chính xác để phân biệt các loại khối u khác nhau so với sinh thiết mô [4].
- 2) Sự giải phóng DNA của khối u ở mức độ thấp.

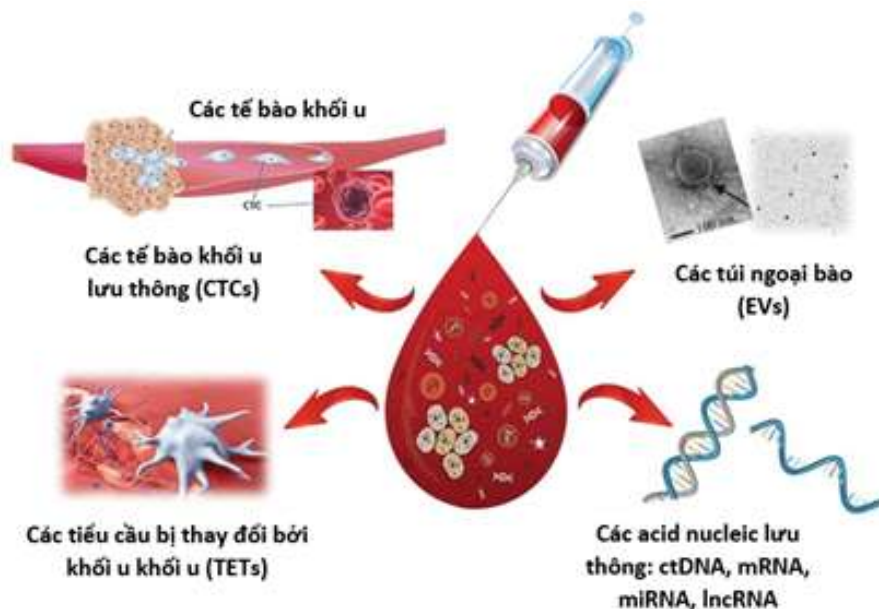
3) Sự chuẩn hóa của các xét nghiệm và nhà cung cấp khác nhau.

4) Sự thay đổi DNA có thể bị nhầm lẫn bởi quá trình tạo máu vô tính tiềm năng không xác định (clonal hematopoiesis of indeterminate potential CHIP).

5) Sự phân lập CTCs cũng còn là một thách thức về mặt kỹ thuật [4, 5].

3.3. Các dấu ấn sinh học liên quan đến khối u của sinh thiết lỏng

Các dấu ấn sinh học liên quan đến khối u của sinh thiết lỏng có thể gồm: các tế bào khối u lưu thông (circulating tumor cells: CTCs), các DNA khối u lưu thông (circulating tumor DNA: ctDNA), các RNA khối u lưu thông (circulating tumor RNAs: ctRNA), các túi ngoại bào (tumor-derived extracellular vesicles: EVs) (còn có tên là exosomes) và các tiểu cầu bị thay đổi bởi khối u (tumor-educated platelets: TEPs) [1] (Hình 1).



Hình 1. Các dấu ấn sinh học của sinh thiết lỏng

(nguồn: Mader & Pantel. *Oncol Res Treat* 2017; 40: 404-408)

3.4. Các tế bào khối u lưu thông (CTCs)

Các tế bào khối u lưu thông (CTCs) là các tế bào khối u từ khối u nguyên phát hoặc di căn xâm nhập vào hệ thống tuần hoàn. Một số CTC có thể vào máu, hình thành “mầm bệnh” để phát triển tại chỗ hoặc di căn. Các kỹ thuật làm giàu các CTCs: vì số lượng các CTCs trong máu rất ít, chỉ có khoảng 1 CTC/ 10^7 tế bào bạch cầu và từ 1 đến 10 CTC/mL máu khối u di căn nên các CTCs cần được phân lập bằng sự bắt giữ tế bào dựa trên dấu ấn sinh học và làm giàu dựa trên các tính chất lý sinh (kích thước, tỷ trọng, ...) [4, 5]. Cho đến nay chỉ có 1 xét nghiệm về CTCs là CellSearch CTC test được FDA phê chuẩn để sử dụng trong ung thư học lâm sàng (2000) [6].

3.5. DNA khối u lưu thông (ctDNA)

DNA được giải phóng từ các tế bào ung thư được gọi là các DNA khối u lưu thông (ctDNA), là các đoạn DNA sợi kép, có khối lượng phân tử từ 0,18 đến 21 Kb, được thấy chủ yếu trong máu. Nhiều kỹ thuật được sử dụng để phát hiện ctDNA gồm giải trình tự thế hệ mới (NGS-based sequencing), PCR kỹ thuật số (digital PCR : dPCR), PCR kỹ thuật số dạng giọt (droplet digital PCR: ddPCR) [1, 5]. Đến nay, 4 xét nghiệm về ctDNA gồm cobas EGFR v2 (2016), PCR PIK3CA RGQ kit (2019), Foundation One Liquid CDx và Guardant360 CDx (2021), đã được FDA phê chuẩn để ứng dụng trong y học lâm sàng [5].

3.6. Các RNA khối u lưu thông (ctRNAs)

Các RNA khối u lưu thông (ctRNAs)

thuộc nhóm RNA sợi đơn nhỏ không mã hóa, có độ dài khoảng 20-24 nucleotid, đóng vai trò điều hòa sau phiên mã, tăng sinh tế bào, biệt hóa và sự chết tế bào theo chương trình (apoptosis). Có 3 kỹ thuật chủ yếu để đo nồng độ của miRNA gồm PCR sao chép ngược định lượng (qRT-PCR), định lượng DNA trên toàn bộ gen (microarrays) và giải trình tự thế hệ mới (NGS) [4].

3.7. Các túi ngoại bào (EVs)

Các túi ngoại bào có nguồn gốc khối u (extracellular vesicles: EVs), còn gọi là exosomes, là các túi nhỏ, có màng kép lipid, đường kính 30-100 nm, được tiết ra từ các tế bào khối u vào các dịch sinh học. Các EVs có thể chứa các DNA, miRNA, các RNA dài không mã hóa (long non-coding RNAs: lncRNAs), các protein, ... Việc phân lập các EVs từ các dịch cơ thể được thực hiện dựa trên các đặc tính lý sinh (kích thước, hình thái, mật độ) như siêu ly tâm. Sự kết hợp của các kỹ thuật như siêu lọc (ultrafiltration) và ly tâm gradient tỷ trọng (density gradient centrifugation), có thể làm tăng chất lượng của các EVs [1, 4].

3.8. Các tiểu cầu bị thay đổi bởi khối u (TEPs)

Trong quá trình tương tác với các tế bào khối u, các RNA của tiểu cầu bị thay đổi, tạo nên các tiểu cầu bị thay đổi bởi khối u (tumor-educated platelets: TEPs). Các TEPs có thể sử dụng để phân biệt bệnh nhân ung thư phổi với người khỏe mạnh hoặc với người bị viêm phổi. Để giải trình tự RNA của các TEPs, TEPs được phân lập từ máu toàn phần, RNA được chiết xuất, DNA bổ

sung (cDNA) được tổng hợp và khuếch đại dựa trên kỹ thuật SMARTer và được giải trình tự cDNA dựa trên kỹ thuật Illumina TruSeq. Sự phân tích trình tự chuỗi RNA nguồn gốc tiểu cầu (platelet-derived RNA) có khả năng phát hiện sớm ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) với độ chính xác gần 80% [4].

IV. NHỮNG ỨNG DỤNG LÂM SÀNG TIỀM NĂNG CỦA SINH THIẾT LÔNG

Các ứng dụng lâm sàng tiềm năng của sinh thiết lỏng bao gồm: sàng lọc và phát hiện sớm ung thư, chẩn đoán, xác định sự thay đổi phân tử để lựa chọn điều trị đích, theo dõi theo thời gian thực của sự đáp ứng và kháng thuốc, dự đoán khối u sót lại sau phẫu thuật, tái phát, di căn và dự đoán tiên lượng [4, 5].

4.1. Sàng lọc và phát hiện sớm ung thư

Việc sàng lọc ở những người có nguy cơ không triệu chứng có thể giúp phát hiện sớm ung thư để điều trị kết quả hơn. Trong 17 nghiên cứu về sinh thiết lỏng để phát hiện sớm ung thư về ctDNA, CTCs và microRNA, người ta thấy rằng độ nhạy, độ đặc hiệu và diện tích dưới đường cong ROC chung để phát hiện sớm ung thư tương ứng là 0,76 (95%CI: 0,67-0,83), 0,92 (95%CI: 0,86-0,96) và 0,91 (95%CI: 0,88-0,93). Như vậy, sinh thiết lỏng có độ nhạy tương đối thấp và có độ đặc hiệu cao trong phát hiện sớm ung thư [2].

4.2. Chẩn đoán ung thư

Sinh thiết lỏng có thể được sử dụng để chẩn đoán xác định ung thư ở những người có dấu hiệu hoặc triệu chứng của bệnh. Tổng

kết 19 nghiên cứu về ung thư tụy gồm 1872 bệnh nhân, với 7 nghiên cứu về ctDNA, 7 về CTCs và 6 về các túi ngoại bào, độ nhạy chẩn đoán của ctDNA, CTCs và các túi ngoại bào tương ứng là 0,64, 0,74 và 0,93; độ đặc hiệu tương ứng là 0,92, 0,83 và 0,92 [8].

4.3. Phát hiện các đột biến để lựa chọn điều trị đích

Việc xác định những thay đổi về gen có thể tác động ở khối u rắn di căn là rất quan trọng đối với điều trị đích. Một số xét nghiệm chẩn đoán dựa trên ctDNA từ máu đã được FDA phê chuẩn cho điều trị đích gồm xét nghiệm đột biến của thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGFR) cobas V2 để phát hiện các đột biến của EGFR trong ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) và bộ kit PIK3CA RGQ PCR để phát hiện đột biến PIK3CA trong ung thư vú [5].

4.4. Tiên lượng

Các CTC và ctDNA trong máu có thể được sử dụng để đánh giá tiên lượng (prognosis) ung thư [7]. Những bệnh nhân NSCLC bị mất đoạn exon 19 hoặc bị đột biến L858R trên gen EGFR có thời gian sống sót không tiến triển (progression-free survival: PFS) trung bình là 13,7 tháng, trong khi những bệnh nhân có các đột biến hiếm gặp khác có PFS ngắn hơn (3,7 tháng). Những bệnh nhân ung thư vú di căn thuộc phân nhóm (subtype) có bộ ba âm tính (các thụ thể ER, PR và HER2 âm tính) có mức >5 CTCs/7,5 mL (n=124) có thời gian sống trung bình (overall survival: OS) ngắn hơn rõ rệt so với bệnh nhân có mức <5 CTCs/7,5 mL (10,4 so với 17,8 tháng [1]).

4.5. Theo dõi theo thời gian thực của sự đáp ứng và kháng thuốc

Ưu điểm chính của sinh thiết lỏng là có thể lấy mẫu máu lặp lại theo thời gian thực (real-time) để phân tích ctDNA, nhằm phát hiện những thay đổi phân tử trong quá trình điều trị, phát hiện sớm sự đáp ứng hoặc kháng thuốc [1]. Ở bệnh nhân ung thư vú hoặc tuyến tiền liệt tiến triển, việc theo dõi số lượng các CTCs trong điều trị có thể giúp tiên lượng sớm. Sự biến mất của CTCs hoặc ctDNA cho phép đánh giá hiệu quả thử nghiệm lâm sàng của một thuốc mới.

4.6. Dự đoán khối u sót lại sau phẫu thuật, tái phát và di căn

Sinh thiết lỏng còn có vai trò trong dự đoán khối u sót lại tối thiểu sau phẫu thuật, tái phát và di căn [1]. Trong ung thư phổi, sự tái phát sau phẫu thuật được thấy khi bệnh nhân có CTCs tăng trở lại trong máu. Việc phát hiện ctDNA sau khi cắt bỏ khối u cho phép dự đoán sự tái phát sớm hơn 6,5 tháng so với chụp X quang. Trong ung thư đại trực tràng, nồng độ ctDNA, CTCs và miRNAs cao có liên quan với sự tiến triển và sự di căn của khối u [2, 7].

V. CÁC TRIỂN VỌNG TƯƠNG LAI CỦA SINH THIẾT LỎNG

Trong tương lai gần, sinh thiết lỏng dựa trên đa bộ (multi-omics), như bộ gen (genomics), bộ biểu sinh (epigenomics), bộ sao mã (transcriptomics), bộ protein (proteomics) và bộ chuyển hóa (metabolomics), thông qua việc phân tích tích hợp (integrative analysis) của trí tuệ

nhân tạo (artificial intelligence: AI) và máy học (machine learning) sẽ là một chiến lược hấp dẫn để cải thiện hiệu suất phát hiện ung thư sớm, theo dõi đáp ứng điều trị và kháng thuốc, phát hiện khối u sót lại tối thiểu và sự tái phát. Sự đổi mới và những tiến bộ của sinh thiết lỏng trong các quy trình thử nghiệm và các phương pháp tin sinh học (bioinformatics) sẽ dần dần làm thay đổi cách quản lý lâm sàng và làm giảm tỷ lệ tử vong và tình trạng bệnh của các loại ung thư khác nhau. Do đó, sinh thiết lỏng có thể được sử dụng như một công cụ mới lạ trong y học chính xác (precision medicine) [1, 3].

Tóm lại, sinh thiết lỏng là một kỹ thuật xâm lấn tối thiểu để phân tích các dịch lỏng cơ thể nhằm phát hiện các tế bào hoặc các thành phần khối u lưu thông. Các ưu điểm của sinh thiết lỏng là ít xâm lấn hơn, giá rẻ hơn, cho kết quả nhanh hơn, dễ dàng lặp lại để theo dõi tiến trình bệnh, đáp ứng điều trị theo thời gian thực. Hạn chế chính của sinh thiết lỏng là thiếu độ nhạy và độ chính xác. Các dấu ấn sinh học của sinh thiết lỏng gồm các CTCs, ctDNA, ctRNAs, EVs và các TEPs. Cho đến nay mới có 1 xét nghiệm CTC và 4 xét nghiệm ctDNA được FDA phê chuẩn để ứng dụng trong lâm sàng. Sinh thiết lỏng có thể ứng dụng để sàng lọc, chẩn đoán, xác định các thay đổi phân tử để lựa chọn điều trị đích, tiên lượng, theo dõi đáp ứng điều trị và kháng thuốc theo thời gian thực, phát hiện khối u còn sót lại tối thiểu và sự tái phát sau phẫu thuật. Trong tương lai gần, sinh thiết lỏng dựa trên đa bộ thông qua phân tích tích hợp trí tuệ nhân tạo và học máy, là

một chiến lược hấp dẫn để cải thiện hiệu suất phát hiện ung thư sớm, theo dõi đáp ứng điều trị và kháng thuốc, phát hiện khối u sót lại tối thiểu và sự tái phát. Do đó, sinh thiết lỏng có thể được sử dụng như một công cụ mới lạ trong y học chính xác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Caputo V, Ciardiello F, Corte CMD, et al.** Diagnostic value of liquid biopsy in the era of precision medicine: 10 years of clinical evidence in cancer. *Explor Target Antitumor Ther* 2023; 4:102-138.
2. **Jia S, Li Xie L, Li L, et al.** Values of Liquid Biopsy in Early Detection of Cancer: Results from Meta-Analysis. *Expert Rev Mol Diagn* 2021 Apr; 21(4): 417-427.
3. **Liu L, Chen X, Petinrin OO, et al.** Machine Learning Protocols in Early Cancer Detection Based on Liquid Biopsy: A Survey. *Life (Basel)* 2021 Jul; 11(7): 638.
4. **Lone SN, Nisar S, Masoodi T, et al.** Liquid biopsy: a step closer to transform diagnosis, prognosis and future of cancer treatments. *Mol Cancer* 2022; 21: 79.
5. **Nikanjam M, Kato S, and Kurzrock R.** Liquid biopsy: current technology and clinical applications. *J Hematol Oncol* 2022; 15: 131.
6. **Rushton AJ, Nteliopoulos G, Shaw JA, and Coombes RC.** A Review of Circulating Tumour Cell Enrichment Technologies. *Cancers (Basel)* 2021 Mar; 13(5): 970.
7. **Vellanki PJ, Soma Ghosh, Anand Pathak, et al.** Regulatory implications of ctDNA in immuno-oncology for solid tumors. *J Immunother Cancer* 2023; 11(2): e005344.
8. **Zhu Y, Zhang H, Chen N, et al.** Diagnostic value of various liquid biopsy methods for pancreatic cancer. A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2020 Jan; 99(3): e18581.