

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



LÊ HỒNG CÔNG

**SỰ PHÂN BỐ KIỂU GEN CYP1A1,
CYP2D6 Ở BỆNH NHÂN
UNG THƯ PHỔI**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2017

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

LÊ HỒNG CÔNG

**SỰ PHÂN BỐ KIỂU GEN CYP1A1,
CYP2D6 Ở BỆNH NHÂN
UNG THƯ PHỔI**

Chuyên ngành : Hóa Sinh

Mã số : 62720112

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

GS.TS. Tạ Thành Văn

HÀ NỘI - 2017

LỜI CẢM ƠN

Trong quá trình thực hiện đề tài này, Tôi đã nhận được rất nhiều sự giúp đỡ, tạo điều kiện của tập thể lãnh đạo, các nhà khoa học, cán bộ, chuyên viên, tập thể Ban Giám hiệu, Phòng Sau Đại học, Bộ môn Hóa sinh, Trung tâm nghiên cứu gen-protein, cán bộ các phòng, ban chức năng Trường Đại học Y Hà Nội. Tôi xin bày tỏ lòng cảm ơn chân thành về sự giúp đỡ đó.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới GS.TS Tạ Thành Văn thầy giáo trực tiếp hướng dẫn và chỉ bảo cho Tôi hoàn thành luận án này.

Tôi xin chân thành cảm ơn bạn bè, đồng nghiệp của Tôi đang công tác tại Khoa Hóa sinh Bệnh viện Bạch Mai và gia đình đã động viên, khích lệ, tạo điều kiện giúp đỡ Tôi trong suốt quá trình thực hiện và hoàn thành luận án này.

TÁC GIẢ LUẬN ÁN

Lê Hồng Công

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là **Lê Hồng Công**, nghiên cứu sinh khóa 31 Trường Đại học Y Hà Nội, chuyên ngành hóa sinh, xin cam đoan:

1. Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của Thầy **GS.TS. Tạ Thành Văn**.
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.
3. 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 nhận của cơ sở nơi nghiên cứu.

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

Hà Nội, ngày 20 tháng 05 năm 2017

Người viết cam đoan

Lê Hồng Công

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

AC:	Adenocarcinoma
BN:	Bệnh nhân
CYP:	Cytochrome
CYP1A1:	Cytochrome1A1
CYP2D6:	Cytochrome2D6
DNA:	Deoxyribo Nucleic Acid
EGFR:	Epidermal Growth Factor Receptor
KRAS:	Kirsten rat sarcoma vius
NCBI:	National Centrer for Biotechnology Information
NNK:	Nitrosoamine 4-(methylnitrosoamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone
NSCLC:	Non-small cell lung carcinoma
NST:	Nhiễm sắc thể
PAHs:	Polycyclic aromatic hydrocacbons
PCR:	Polymerase Chian Reaction (Phản ứng tổng hợp chuỗi)
RFLP:	Restriction fragment length polymorphism
RNA:	Ribonucleic Acid
SCC:	Squamous cell carcinoma
SCLC:	Small cell lung carcinoma
SNP:	Single Nucleotide Polymorphism
Taq:	Thymus Aquaticus
TNM:	Tumor Lympho Node Metastasis (ung thư hạch lympho di căn)
UT:	Ung thư
UTP:	Ung thư phổi
UTPKTBN:	Ung thư phổi không tế bào nhỏ
UTPTBN:	Ung thư phổi tế bào nhỏ
WHO:	World Health Organization (Tổ chức y tế thế giới)

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN.....	3
1.1. Định nghĩa ung thư phổi	3
1.2. Dịch tễ học ung thư phổi	3
1.2.1. Tình hình ung thư phổi trên thế giới	3
1.2.2. Tình hình ung thư phổi tại Việt Nam	5
1.3. Các yếu tố nguy cơ liên quan đến ung thư phổi	6
1.3.1. Thuốc lá.....	7
1.3.2. Các yếu tố nguy cơ khác	10
1.4. Chẩn đoán và phân loại ung thư phổi	12
1.5. Chiến lược mới trong điều trị ung thư phổi.....	17
1.5.1. Điều trị bằng thuốc ức chế Tyrosin kinase trong ung thư phổi.	18
1.5.2. Điều trị ung thư phổi bằng thuốc chống sinh mạch.	18
1.5.3. Liệu pháp điều trị gen.....	18
1.5.4. Điều trị miễn dịch trong ung thư phổi.....	19
1.6. Sinh học phân tử ung thư phổi.....	19
1.6.1. Những gen liên quan đến ung thư phổi	22
1.6.2. Gen áp chế khối u.....	23
1.7. Dấu ấn sinh học phân tử các gen CYP1A1, CYP2D6 trong chu trình chuyển hóa Cytochrome P450 và ung thư phổi.....	26
1.7.1. Tổng quan về gen CYP1A1	30
1.7.2. Tổng quan về CYP2D6	35
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	40
2.1. Đối tượng nghiên cứu	40
2.1.1. Bệnh nhân ung thư phổi	40

2.1.2. Nhóm đối chứng.....	40
2.1.3. Chọn cỡ mẫu nghiên cứu.....	41
2.2. Phương pháp nghiên cứu.	41
2.2.1. Thiết kế nghiên cứu.....	41
2.2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	41
2.2.3. Quy trình lấy mẫu.....	42
2.3. Quy trình tách chiết, kiểm tra nồng độ và độ tinh sạch DNA từ máu ngoại vi.....	42
2.4. Kỹ thuật PCR khuếch đại DNA.....	43
2.5. Kỹ thuật PCR-RFLP xác định tính đa hình của gen CYP1A1 và gen CYP2D6.	44
2.6. Xác định các SNPs bằng phương pháp giải trình tự trực tiếp	50
2.7. Đạo đức trong nghiên cứu	51
2.8. Xử lý số liệu và sơ đồ nghiên cứu.	51
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ.....	53
3.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu	53
3.1.1. Đặc điểm về giới nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng.	53
3.1.2. Đặc điểm về tuổi nhóm bệnh nhân ung thư phổi	53
3.1.3. Một số đặc điểm chung của nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng.....	55
3.2. Xác định sự phân bố kiểu gen các đa hình gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng	56
3.2.1. Xác định sự phân bố kiểu gen của đa hình T6235C trên gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng	56
3.2.2. Phân bố kiểu gen của đa hình T6235C (m1) trên gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng.	58

3.2.3. Xác định sự phân bố kiểu gen của đa hình A4889G (m2) trên gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng.	65
3.2.4. Xác định sự phân bố kiểu gen của đa hình T5639C (m3) trên gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng	75
3.2.5. Xác định sự phân bố kiểu gen của đa hình C4887A (m4) trên gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng	75
3.3. Xác định sự phân bố kiểu gen các đa hình gen CYP2D6 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng	76
3.3.1. Xác định sự phân bố kiểu gen của đa hình G4268C trên gen CYP2D6 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng	76
3.3.2. Xác định sự phân bố kiểu gen của đa hình C188T trên gen CYP2D6 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng.	85
3.3.3. Xác định sự phân bố kiểu gen của đa hình G1846T/A trên gen CYP2D6 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng.	93
3.3.4. Xác định sự phân bố kiểu gen của đa hình G1934A trên gen CYP2D6 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng	94
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN	95
4.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu	95
4.1.1. Phân bố bệnh theo tuổi	95
4.1.2. Phân bố bệnh theo giới	97
4.1.3. Phân bố bệnh theo nguy cơ hút thuốc lá	98
4.1.4. Phân bố theo giải phẫu bệnh	99
4.2. Mối liên quan giữa CYP P450 và ung thư phổi	99
4.2.1. Tính đa hình thái và sự phân bố kiểu gen CYP1A1 với ung thư phổi	101
4.2.2. Tính đa hình thái và sự phân bố kiểu gen CYP2D6 với ung thư phổi.	107
4.3. Sự tác động của các yếu tố nguy cơ lên ung thư phổi	112
4.3.1. Yếu tố về tuổi	112

4.3.2. Yếu tố về giới	112
4.3.3. Thói quen hút thuốc lá với sự phân bố kiểu gen CYP1A1, CYP2D6 và ung thư phổi	113
4.4. Phân bố kiểu gen các đa hình gen CYP1A1, CYP2D6 theo phân loại giải phẫu bệnh	117
KẾT LUẬN	119
KIẾN NGHỊ	121
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU ĐÃ ĐƯỢC CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN TÀI LIỆU THAM KHẢO PHỤ LỤC	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1:	Các đa hình thái của gen CYP1A1 liên quan đến UTP.....	29
Bảng 1.2:	Các đa hình thái của gen CYP2D6 liên quan đến UTP.....	29
Bảng 1.3:	Một số allele của gen CYP2D6 có tần suất cao có thể gây UTP .	38
Bảng 2.1:	Danh sách môi được sử dụng trong nghiên cứu	43
Bảng 2.2:	Kết quả tính toán lý thuyết sản phẩm điện di xác định các SNPs của gen CYP1A1, CYP2D6 bằng kỹ thuật PCR-RFLP	45
Bảng 3.1:	Phân bố giới ở hai nhóm ung thư phổi và nhóm đối chứng	53
Bảng 3.2:	Tuổi trung bình của nhóm bệnh nhân ung thư phổi và đối chứng	53
Bảng 3.3:	Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu.....	55
Bảng 3.4:	Kiểu gen T6235C trên gen CYP1A1 ở nhóm UTP và đối chứng.	58
Bảng 3.5:	Phân bố kiểu gen TT, TC – CC trên gen CYP1A1 với nguy cơ mắc UTP ở nhóm bệnh nhân UTP so với nhóm đối chứng.....	59
Bảng 3.6:	Phân bố kiểu gen TT, TC - CC trên gen CYP1A1 với nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm bệnh nhân UTP so với nhóm đối chứng..	60
Bảng 3.7:	Phân bố kiểu gen TT, TC - CC trên gen CYP1A1 với nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm BN UTP biểu mô tuyến so với nhóm đối chứng	61
Bảng 3.8:	Phân bố kiểu gen TT, TC - CC trên gen CYP1A1 với nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm BN UTP tế bào vảy so với nhóm đối chứng ..	62
Bảng 3.9:	Phân bố kiểu gen TT với kiểu gen TC - CC trên gen CYP1A1 theo giới ở nhóm bệnh nhân UTP và nhóm đối chứng.....	63
Bảng 3.10:	Phân bố kiểu gen TT với kiểu gen TC - CC trên gen CYP1A1 theo nhóm tuổi ở nhóm bệnh nhân UTP so với nhóm đối chứng.....	64
Bảng 3.11:	Phân bố kiểu gen của đa hình A4889G (m2) trên gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi với nhóm đối chứng.....	67
Bảng 3.12:	Phân bố kiểu gen AA, AG - GG trên gen CYP1A1 với nguy cơ mắc UTP ở nhóm bệnh nhân UTP so với nhóm đối chứng.....	68

Bảng 3.13:	Phân bố kiểu gen AA, AG - GG trên gen CYP1A1 với nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm bệnh nhân UTP so với nhóm đối chứng..	69
Bảng 3.14:	Phân bố kiểu gen AA, AG - GG trên gen CYP1A1 với nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm BN UTP biểu mô tuyến so với nhóm đối chứng	70
Bảng 3.15:	Phân bố kiểu gen AA, AG - GG trên gen CYP1A1 với nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm BN ung thư phổi tế bào vảy so với nhóm đối chứng	71
Bảng 3.16:	Phân bố kiểu gen AA với kiểu gen AG - GG trên gen CYP1A1 theo giới ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng	72
Bảng 3.17:	Phân bố kiểu gen AA với kiểu gen AG - GG trên gen CYP1A1 theo nhóm tuổi ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng.....	73
Bảng 3.18:	So sánh các kiểu gen của đa hình T6235C (m1) với các kiểu gen của đa hình A4889G (m2) trên gen CYP1A1	74
Bảng 3.19:	Phân bố kiểu gen của đa hình T5639C (m3) trên gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng	75
Bảng 3.20:	Phân bố kiểu gen của đa hình C4887A (m4) trên gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng	76
Bảng 3.21:	Phân bố kiểu gen của đa hình G4268C trên gen CYP2D6 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng	78
Bảng 3.22:	Phân bố kiểu gen CC, GC - GG trên gen CYP2D6 với nguy cơ mắc UTP ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng.....	79
Bảng 3.23:	Phân bố kiểu gen CC, GC - GG trên gen CYP2D6 với nguy cơ hút thuốc ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng.....	80
Bảng 3.24:	Phân bố kiểu gen CC, GC - GG trên gen CYP2D6 với nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm BN UTP biểu mô tuyến so với nhóm đối chứng..	81
Bảng 3.25:	Phân bố kiểu gen CC, GC - GG trên gen CYP2D6 với nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm BN ung thư phổi tế bào vảy so với nhóm đối chứng	82

Bảng 3.26:	Phân bố kiểu gen CC với kiểu gen GC - GG trên gen CYP2D6 theo giới ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng	83
Bảng 3.27:	Phân bố kiểu gen CC với kiểu gen GC - GG trên gen CYP2D6 theo nhóm tuổi ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng	84
Bảng 3.28:	Phân bố kiểu gen của đa hình C188T trên gen CYP2D6 ở nhóm ung thư phổi so với nhóm đối chứng	85
Bảng 3.29:	Phân bố kiểu gen TT, CT - CC trên gen CYP2D6 với nguy cơ mắc UTP ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng.....	86
Bảng 3.30:	Phân bố kiểu gen TT, CT - CC trên gen CYP2D6 với nguy cơ hút thuốc ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng.....	87
Bảng 3.31:	Phân bố kiểu gen TT, CT - CC trên gen CYP2D6 với nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm BN UTP biểu mô tuyến so với nhóm đối chứng ...	88
Bảng 3.32:	Phân bố kiểu gen TT, CT - CC trên gen CYP2D6 với nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm BN ung thư phổi tế bào vảy so với nhóm đối chứng	89
Bảng 3.33:	Phân bố kiểu gen TT với kiểu gen CT và CC trên gen CYP2D6 theo giới ở nhóm bệnh nhân UTP so với nhóm đối chứng.....	90
Bảng 3.34:	Phân bố kiểu gen TT với kiểu gen CT-CC trên gen CYP2D6 theo nhóm tuổi ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng	91
Bảng 3.35:	So sánh sự phân bố các kiểu gen của đa hình G4268C với các kiểu gen của đa hình C188T trên gen CYP2D6.	92
Bảng 3.36:	Kiểu gen của đa hình G1846T/A trên gen CYP2D6 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng	93
Bảng 3.37:	Kiểu gen của đa hình G1934A trên gen CYP2D6 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng	94

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 1.1:	Tỉ lệ tử vong do ung thư phổi theo báo cáo năm 2016.....	4
Biểu đồ 1.2:	Mối liên quan giữa thuốc lá và UTP tại Hoa Kỳ.....	10
Biểu đồ 3.1:	Phân bố theo nhóm tuổi ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi....	54

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1.	Vai trò các yếu tố nguy cơ gây ung thư phổi.....	7
Hình 1.2.	Cơ chế gây ung thư phổi của khói thuốc	8
Hình 1.3.	Các tế bào ung thư phổi dưới kính hiển vi	17
Hình 1.4.	Cơ chế sinh ung thư phổi.	21
Hình 1.5.	Cấu trúc phân tử Cytochrome p450.....	26
Hình 1.6.	Cơ chế gây ung thư của các chất gây ung thư và vai trò Cytochrome p450.....	28
Hình 1.7.	Vị trí của gen CYP1A1 trên NST 15	31
Hình 1.8.	Mối liên quan giữa chuyển hóa PAH và các chất hóa học gây UT...	32
Hình 1.9.	Hình ảnh minh họa hiện tượng đa hình thái đơn nucleotid SNP	34
Hình 1.10.	Tính đa hình thái của gen CYP1A1	34
Hình 1.11.	Vị trí của gen CYP2D6 trên nhiễm sắc thể 22	35
Hình 1.12.	Cấu trúc của gen CYP2D6.....	36
Hình 1.13.	Vị trí của CYP2D6 và các gen liên kề.....	37
Hình 1.14.	Enzym CYP2D6 chuyển hoá NNK	39
Hình 2.1.	Mô tả hình ảnh điện di xác định vị trí SNP T6235C của gen CYP1A1.....	46
Hình 2.2.	Mô tả hình ảnh điện di xác định vị trí SNP A4889G của gen CYP1A1.....	46
Hình 2.3.	Mô tả hình ảnh điện di xác định vị trí SNP T5639C của gen CYP1A1.....	47
Hình 2.4.	Mô tả hình ảnh điện di xác định vị trí SNP C4887A của gen CYP1A1.....	47
Hình 2.5.	Mô tả hình ảnh điện di xác định vị trí SNP C188T của gen CYP2D6.....	48

Hình 2.6.	Mô tả hình ảnh điện di xác định vị trí SNP G1934A của gen CYP2D6.....	48
Hình 2.7.	Mô tả hình ảnh điện di xác định vị trí SNP T5639C của gen CYP1A1.....	49
Hình 2.8.	Mô tả hình ảnh điện di xác định vị trí SNP G4268C của gen CYP2D6.....	49
Hình 2.9.	Sơ đồ thiết kế nghiên cứu	52
Hình 3.1.	Sản phẩm khuếch đại đoạn vùng T6235C của gen CYP1A1.....	56
Hình 3.2.	Sản phẩm sử dụng enzym cắt vùng T6235C của gen CYP1A1 bằng enzym <i>MspI</i>	57
Hình 3.3.	Kết quả giải trình tự sản phẩm PCR mang đoạn gen T6235C của gen CYP1A1 tương ứng với kiểu gen T/T; T/C; C/C.	57
Hình 3.4.	Sản phẩm khuếch đại đoạn vùng A4889G của gen CYP1A1 ...	65
Hình 3.5.	Sản phẩm sử dụng enzym cắt vùng A4889G của gen CYP1A1 bằng enzym <i>MspI</i>	65
Hình 3.6.	Kết quả giải trình tự sản phẩm PCR mang đoạn gen A4889G của gen CYP1A1 trên DNA của bệnh nhân tương ứng với kiểu gen A/A; A/G; G/G.....	66
Hình 3.7.	Sản phẩm khuếch đại đoạn vùng G4268C của gen CYP2D6. ...	76
Hình 3.8.	Sản phẩm sử dụng enzym cắt vùng G4268C của gen CYP2D6 bằng enzym <i>Eco91I</i>	77
Hình 3.9.	Kết quả giải trình tự sản phẩm PCR mang đoạn gen G4268C của gen CYP2D6 trên DNA của bệnh nhân tương ứng với kiểu gen G/G; C/C; G/C.	77

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư phổi là bệnh ác tính phát triển từ biểu mô phế quản, tiểu phế quản, phế nang hoặc từ các tuyến của phế quản. Đây là loại ung thư thường gặp nhất và là nguyên nhân gây tử vong cao nhất trong các bệnh ung thư ở nhiều nước trên thế giới, cũng như ở Việt Nam. Mỗi năm, trên toàn thế giới ước tính có khoảng 1,8 triệu người mắc và 1,59 triệu người tử vong do ung thư phổi. Tại Mỹ, theo báo cáo mới nhất năm 2016, ước tính mỗi năm có khoảng 221.200 ca mắc mới chiếm 13% tổng số các trường hợp được chẩn đoán ung thư và 160.340 người tử vong do ung thư phổi, chiếm tỷ lệ 28% tổng số người được chẩn đoán ung thư [1],[2]. Tại các nước thuộc liên hiệp Anh, trong năm 2009 có khoảng 41.428 ca mắc mới trong đó có 23.041 (56%) là nam giới và 18.387 (44%) là nữ giới [3]. Tại Việt Nam, ung thư phổi đứng hàng đầu ở nam giới. Ước tính cả nước hàng năm có khoảng 6.905 ca ung thư phổi mới mắc [4]. Tại khoa Hô hấp bệnh viện Bạch Mai, số các trường hợp ung thư phổi nhập viện tăng đều hàng năm, đứng hàng thứ hai chỉ sau bệnh phổi mạn tính tắc nghẽn [5],[6].

Theo phân loại của Tổ chức y tế thế giới (WHO), ung thư phổi được chia làm hai nhóm chính dựa trên đặc điểm mô bệnh học là ung thư phổi không tế bào nhỏ (UTPKTBN) và ung thư phổi tế bào nhỏ (UTPTBN), trong đó UTPKTBN chiếm 80 - 85% [7].

Ngày nay, người ta đã xác định được nhiều nguyên nhân gây ung thư phổi, trong đó đại đa số ung thư phổi là do các chất sinh ung thư và các yếu tố tạo u vào cơ thể theo đường hút thuốc, hóa chất gây ung thư và yếu tố môi trường. Hút thuốc lá là yếu tố nguy cơ cũng như là nguyên nhân rõ ràng nhất liên quan đến ung thư phổi. Theo nghiên cứu của Mỹ, hút thuốc là nguyên nhân của 90% các trường hợp được chẩn đoán ung thư phổi, ở Anh là 87%.

Tuy nhiên, những báo cáo cũng chỉ ra rằng chỉ 20% người hút thuốc bị ung thư phổi, điều đó cho thấy những biến thể di truyền và yếu tố môi trường khác đóng một vai trò quan trọng trong việc hình thành và phát triển của bệnh ung thư phổi [8],[9].

Cytochrome P450 (CYPs) là một liên họ lớn chứa các hemoprotein xúc tác rất nhiều phản ứng enzym khác nhau để chuyển hóa các hợp chất nội và ngoại sinh [10]. Trong đó CYP1A1 và CYP2D6 là những enzym có vai trò hoạt hóa các chất gây ung thư sinh ra từ khói thuốc như nicotine và các hydrocacbon có nhân thơm để giảm nguy cơ gây đột biến DNA [11]. Vì lý do nào đó những người mang gen CYP1A1, CYP2D6 bị đột biến làm giảm khả năng bảo vệ tế bào phổi từ các tác nhân trên dẫn đến bị UTP. Để góp phần hiểu rõ hơn về mối liên quan giữa các dạng đa hình thái đơn các gen CYP1A1, CYP2D6 và một số yếu tố nguy cơ của bệnh ung thư phổi, đề tài **“Sự phân bố kiểu gen CYP1A1, CYP2D6 ở bệnh nhân ung thư phổi”** được tiến hành với 2 mục tiêu:

1. ***Xác định tỷ lệ và sự phân bố kiểu gen của một số đa hình thái đơn trên các gen CYP1A1, CYP2D6 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng.***
2. ***Đánh giá mối tương quan giữa các dạng đa hình thái đơn các gen CYP1A1, CYP2D6 với một số yếu tố nguy cơ ở bệnh ung thư phổi.***

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN

1.1. Định nghĩa ung thư phổi

Ung thư phế quản hay ung thư phổi là bệnh ác tính phát triển từ biểu mô phế quản, tiểu phế quản, phế nang hoặc từ các tuyến của phế quản [5].

1.2. Dịch tễ học ung thư phổi

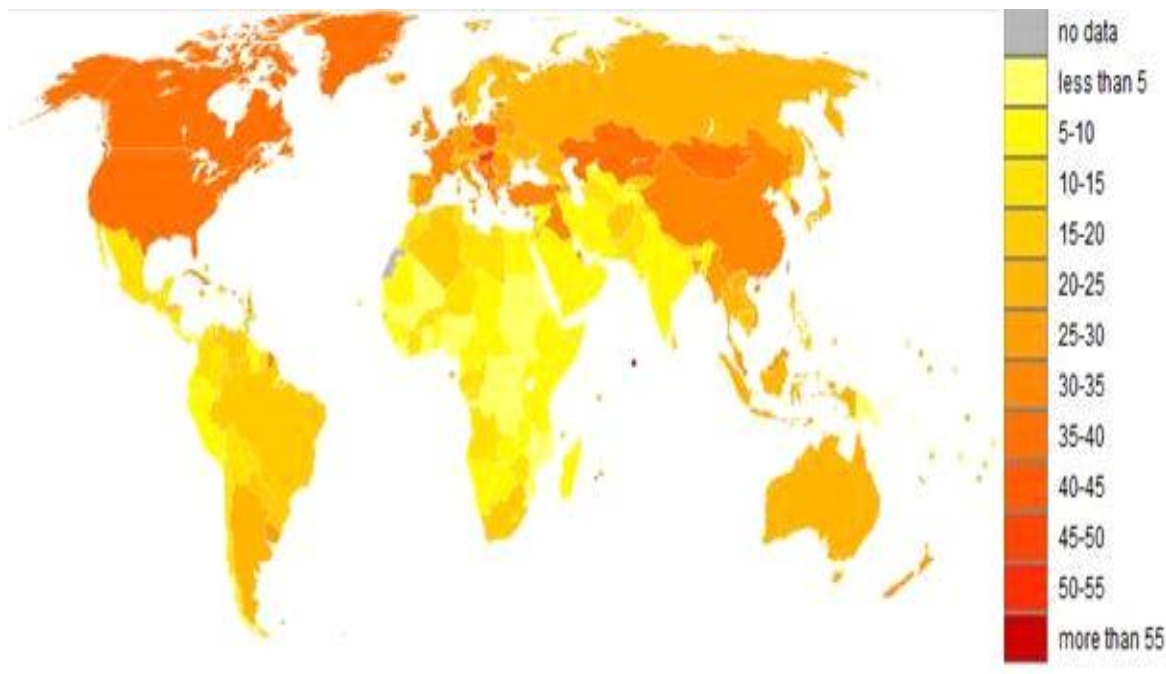
1.2.1. Tình hình ung thư phổi trên thế giới

Các đặc điểm lâm sàng của ung thư phổi được Laennec (1781-1826), một bác sỹ người Pháp mô tả lần đầu tiên trong y văn vào năm 1805. Hơn 100 năm sau (1912), Adler I đã thu thập được 375 trường hợp ung thư phổi.

Năm 1910 Alton Ochner (Đại học Washington) ghi nhận 1 trường hợp ung thư phổi qua mổ tử thi, 17 năm sau ghi nhận trường hợp thứ 2 tại bệnh viện Charity ở New Orleans (Mỹ), 6 tháng sau đó thêm 8 trường hợp khác, tất cả đều là nam giới nghiện thuốc lá. Khi đó, tác giả gọi bệnh này như là một bệnh dịch.

Theo WHO ung thư phổi đứng hàng đầu ở nam (17,6%), đứng hàng thứ năm ở nữ (5,8%) trong tổng số các ung thư. Mỗi năm, có khoảng 660.000 trường hợp ung thư phổi mới được phát hiện. Theo thống kê của WHO (2012), ung thư phổi là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trong các bệnh ung thư trên toàn thế giới, chiếm gần 1/5 tổng số ca tử vong do ung thư. Số ca bệnh ung thư phổi cũng ngày càng gia tăng, khoảng gần 1,61 triệu bệnh nhân được chẩn đoán ung thư phổi trên toàn thế giới tại thời điểm 2012, trong số đó có hơn một nửa là số ca bệnh nhân ung thư phổi ở các nước đang phát triển

[1]. Gần đây, theo báo cáo mới nhất năm 2016 trên toàn thế giới có khoảng 1,8 triệu ca ung thư phổi mới phát hiện và 1,59 triệu ca tử vong do UTP [2].



Biểu đồ 1.1: Tỷ lệ tử vong do ung thư phổi theo báo cáo năm 2016

(Global Cancer Facts & Figures 2016)

Tuổi và giới của ung thư phổi: Theo số liệu các ghi nhận ung thư trên thế giới, tỉ lệ mắc ung thư phổi của nam giới cao hơn ở nữ giới, xét riêng về yếu tố gây ung thư phổi là thuốc lá thì phơi nhiễm với yếu tố này của nam và của nữ cũng rất khác nhau, nam giới có tỉ lệ hút thuốc và nghiện thuốc lá cao hơn nữ, tuy nhiên trong những năm gần đây tỉ lệ hút thuốc ở nam giảm trong khi đó tỉ lệ hút thuốc ở nữ lại có xu hướng gia tăng, vì vậy làm thay đổi tỉ lệ mới mắc ung thư. Ở Mỹ năm 2000 tỉ lệ mắc mới ung thư phổi ở nữ cao gấp 2 lần năm 1975, từ năm 1973 đến năm 1990 mỗi năm trung bình tỉ lệ mới mắc theo tuổi tăng 4,1% trong khi từ năm 1990 đến năm 2000 trung bình chỉ tăng 0,2%. Theo báo cáo mới nhất năm 2016 của Hoa Kỳ, tỷ lệ mắc UTP của nam và nữ là 2,5/1 [2].

Tại Hoa Kỳ

Ung thư phổi là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong cho cả hai giới ở Hoa Kỳ, chiếm khoảng 28% tổng số các trường hợp tử vong do ung thư hàng năm. Năm 1999, có 171.600 trường hợp ung thư phổi mắc mới. Năm 2007, ước tính có 213.380 trường hợp phát hiện mới, trong đó ước tính có khoảng 114.760 ca ung thư phổi mới phát hiện ở nam giới và khoảng 98.620 ca ung thư phổi mới phát hiện là nữ giới. Năm 2008 ước tính có 215.020 trường hợp mắc mới. Năm 2010, ước tính có 222.520 trường hợp phát hiện mới, trong đó ước tính có khoảng 116.750 ca ung thư phổi mới phát hiện ở nam giới và khoảng 105.770 ca ung thư phổi mới phát hiện là nữ giới. Năm 2012 ước tính có 226.160 trường hợp mắc mới chiếm khoảng 14% tổng số các loại ung thư được chẩn đoán. Báo cáo mới nhất năm 2016, ước tính có khoảng 221.200 trường hợp mắc mới ung thư phổi, chiếm khoảng 13% tổng số các loại ung thư được chẩn đoán [1],[2].

1.2.2. Tình hình ung thư phổi tại Việt Nam

Các cố gắng để tìm hiểu ung thư phổi nói riêng và ung thư nói chung đã có từ những năm 50 của thế kỷ trước, kết quả nghiên cứu của các tác giả đều có chung một nhận định những loại ung thư hay gặp nhất ở nam giới là ung thư phổi, dạ dày, gan...

Hiện nay đã có những số liệu ghi nhận về ung thư tương đối chính xác và có thể đại diện cho tình hình ung thư của cả nước. Theo số liệu về ung thư ở Hà Nội và Thành phố Hồ Chí Minh giai đoạn 1995-1996, và từ đó ước tính chung tỷ lệ mắc ung thư. Ở Việt Nam năm 2000, nam giới có khoảng 36.021 người mắc ung thư phổi chiếm tỷ lệ 91,5/100.000 dân và ở nữ giới có khoảng 32.786 người, chiếm tỷ lệ 81,5/100.000. Ung thư phổi đứng hàng đầu ở nam giới. Ước tính hàng năm có khoảng 6.905 ca ung thư phổi mới mắc [4].

Cho tới năm 2004, theo các ghi nhận về dịch tễ học ung thư, ung thư phổi là loại ung thư đứng hàng đầu ở nam giới với tỷ lệ mắc bệnh ở Hà Nội là 39,8/100.000. Trong số các trường hợp ung thư phổi phải nhập viện thì có tới 62,5% không có khả năng phẫu thuật [6].

Tại khoa Hô Hấp Bệnh viện Bạch Mai, số các trường hợp ung thư phổi nhập viện tăng đều hàng năm: 1969 đến 1972 có 89 trường hợp ung thư phổi, từ 1974 đến 1978 có 186 trường hợp, từ 1981 đến 1985 có 285 trường hợp, từ 1996 đến 2000 có 639 trường hợp, chiếm 16.6% tổng số các bệnh điều trị, đứng hàng thứ hai chỉ sau bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính [5].

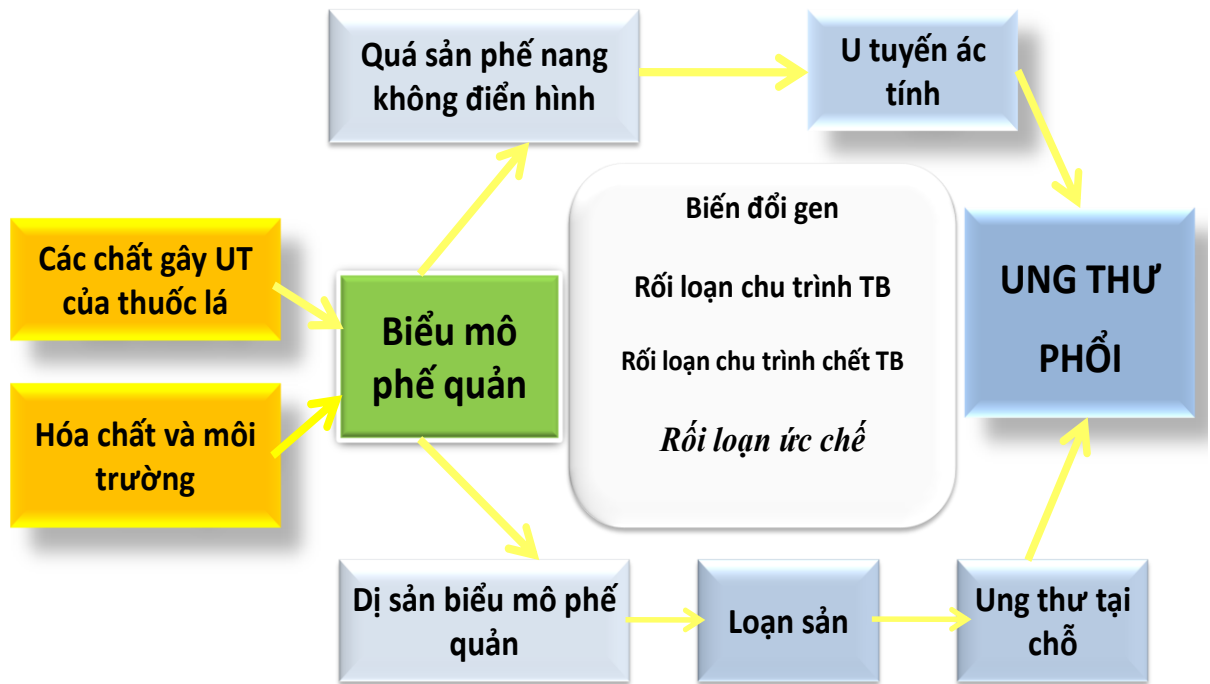
Theo báo cáo mới nhất của WHO, năm 2016, ở Việt Nam, ung thư phổi đứng hàng thứ 2 chỉ đứng sau ung thư gan ở nam giới cả tỷ lệ mắc và tỷ lệ tử vong. Ở nữ ung thư phổi có tỷ mắc đứng thứ 2 sau ung thư vú nhưng có tỷ lệ tử vong đứng đầu trên tổng số các loại ung thư [2].

Tóm lại, ung thư phổi trên thế giới nói chung và ở Việt Nam nói riêng là bệnh phổ biến trong tất cả các loại ung thư. Đây là bệnh có tiên lượng xấu bởi tiến triển nhanh, di căn sớm, phát hiện bệnh thường ở giai đoạn muộn. Do vậy khả năng điều trị ngoại khoa cũng như các biện pháp điều trị khác rất hạn chế. Việc điều trị ung thư phổi vẫn còn là vấn đề nan giải, ít tiến bộ so với các loại ung thư khác. Chính điều này chúng ta cần quan tâm phát triển các phương pháp, kỹ thuật chẩn đoán sớm cho người bệnh và tăng cường công tác dự phòng [7].

1.3. Các yếu tố nguy cơ liên quan đến ung thư phổi

Ngày nay, người ta đã xác định được nhiều nguyên nhân gây ung thư phổi, trong đó đại đa số ung thư phổi là do các chất sinh ung thư và các yếu tố tạo u vào cơ thể theo đường hút thuốc, hóa chất gây ung thư và yếu tố môi trường, được thể hiện ở hình dưới [12].

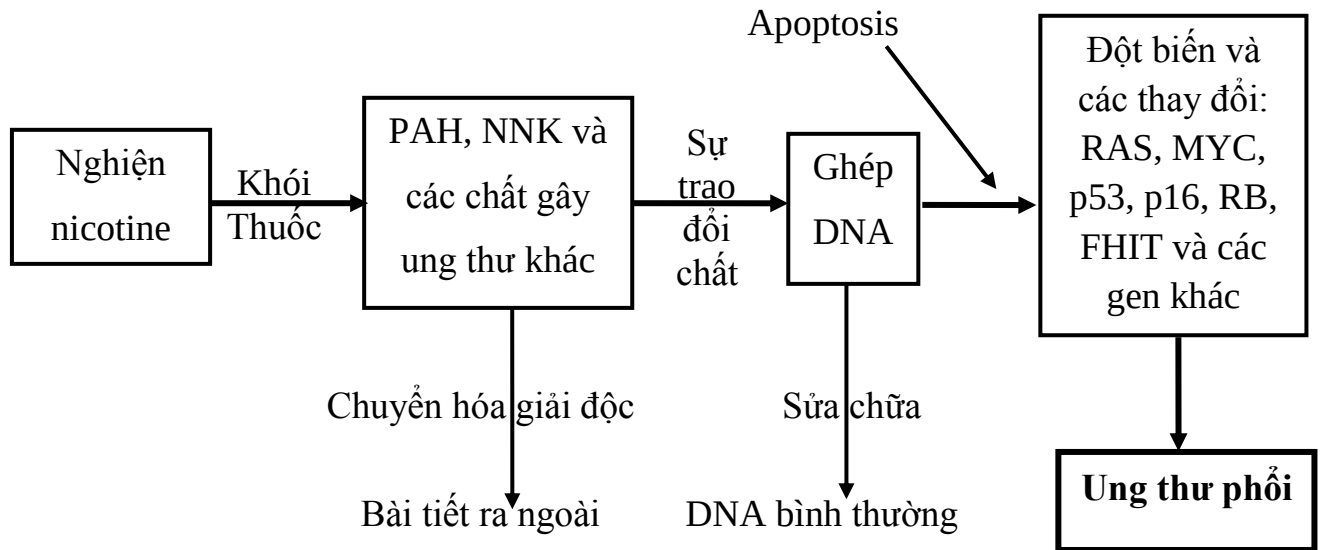
Các yếu tố nguy cơ



Hình 1.1. Vai trò các yếu tố nguy cơ gây ung thư phổi [12]

1.3.1. Thuốc lá

Từ “hút thuốc lá” dùng ở đây bao gồm cả hút thuốc lá và các hình thức tương tự. Tất cả các loại thuốc lá đều có tác hại như nhau kể cả những loại thuốc có lượng nicotine thấp, thuốc lá không khói hay thuốc ít hắc ín... Thuốc lá ngày nay đang là vấn đề y tế công cộng nghiêm trọng và đây cũng là nguyên nhân gây tử vong cần được ngăn chặn hàng đầu. Có bằng chứng thuyết phục về mối liên quan giữa hút thuốc làm tăng nguy cơ ung thư phổi. Hút thuốc có liên quan đến 90% các trường hợp ung thư phổi và là yếu tố nguy cơ liên quan nhất của bệnh ung thư này. So với người chưa từng hút thuốc, thì người hút thuốc có nguy cơ bị ung thư phổi cao hơn 10 - 20 lần phụ thuộc vào thói quen và thời gian hút [13],[14].



PAH = polycyclic aromatic hydrocarbons; NNK = 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone

Hình 1.2. Cơ chế gây ung thư phổi của khói thuốc
(Nguồn www.dissertationtonic.net)

Khói thuốc lá chứa hơn 4000 loại hóa chất, 200 loại có hại cho sức khỏe, khoảng 60 chất gây ung thư trong số đó có hợp chất thơm có vòng đóng như: 3-4 benzopyren, các dẫn chất hydrocacbon đa vòng có khí nitơ, aldehyt, nitrosamine, ceton...[5]. Trong vòng 40 năm gần đây, mặc dù hàm lượng hắc ín và nicotine đã giảm xấp xỉ 3 lần, nhưng lại có tăng thêm các chất gây ung thư khác như các loại nitrosamine trong thuốc lá. Ngày nay, chủ yếu các loại thuốc lá nhẹ chiếm lĩnh thị trường, gần đây chúng được xem là ít độc hại hơn các loại thuốc lá thông thường. Tuy nhiên, vì những người hút thuốc phải duy trì lượng nicotine gây nghiện, nên hút các loại thuốc lá nhẹ chứa ít nicotine sẽ phải dùng nhiều điếu hơn trong ngày. Thành phần hóa học của thuốc lá nhẹ và thuốc lá thông thường cũng khác nhau, nên gây ra loại hắc ín gây đột biến gen cũng khác nhau và gây ung thư cũng nhiều hơn. Kết quả là các loại thuốc lá nhẹ không kém độc hại hơn và được xem như lý do tại sao mô UTP biến đổi

từ các loại ung thư tế bào vảy thành hầu hết các loại ung thư biểu mô tuyến ngoại vi [15],[16].

Hút thuốc lá được coi là yếu tố nguy cơ chính gây ung thư phổi, khoảng 90% trong số các ca được chẩn đoán ung thư phổi trên Thế giới là người hút thuốc lá [5]. Khoảng 87% ung thư phổi được nghĩ là do hút thuốc lá hoặc phơi nhiễm khói thuốc lá bị động. Các nghiên cứu ở Việt Nam từ đầu thập kỷ 90 của thế kỷ trước đã khẳng định kết quả tương tự [17],[18],[19]. Mức độ tăng nguy cơ phụ thuộc vào: tuổi bắt đầu hút (hút càng sớm nguy cơ càng cao), số bao-năm (càng lớn nguy cơ càng cao), thời gian hút (càng dài nguy cơ mắc bệnh càng lớn). Những người hút thuốc không bỏ được có nguy cơ ung thư phổi cao gấp 20 lần so với người không hút thuốc [5].

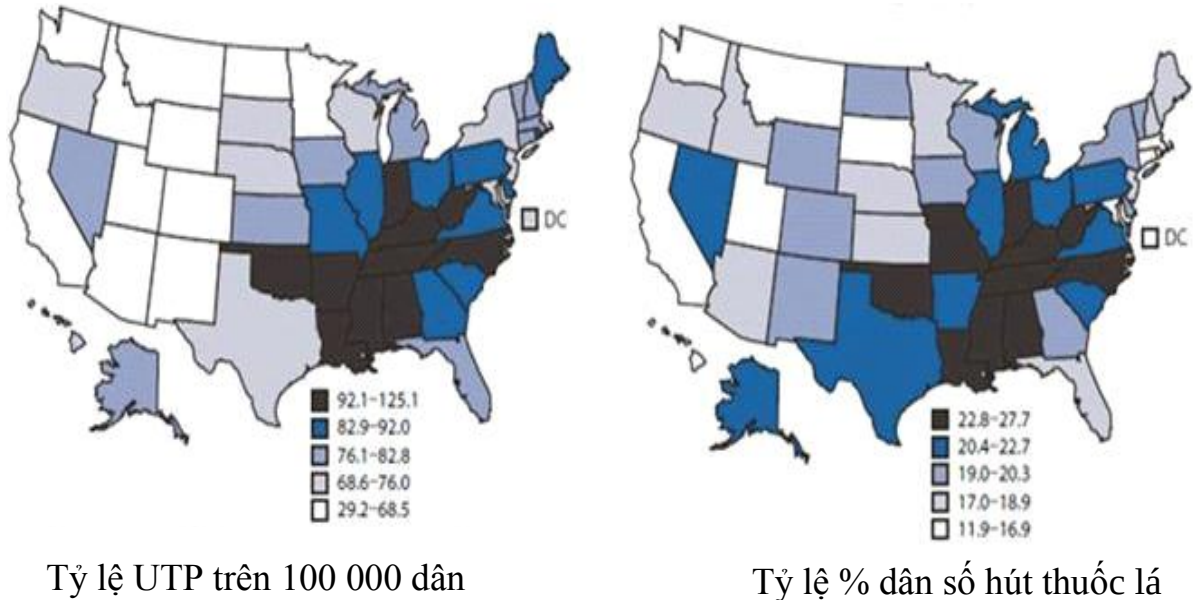
Theo Kthryn E. (2000), những người hút thuốc lá 01bao/ngày trong 40 năm có nguy cơ bị ung thư phổi cao hơn người hút 02 bao/ngày trong 20 năm. Các nghiên cứu cũng chỉ ra rằng, ngay cả những người không trực tiếp hút thuốc lá nhưng thường xuyên tiếp xúc với người hút thuốc (hút thuốc lá thụ động) cũng có nguy cơ ung thư phổi rất cao.

Những người hút thuốc lá nhiều năm, nay ngừng hút sẽ dần dần giảm được nguy cơ bị ung thư. Tuy nhiên, nguy cơ bị ung thư phổi ở những người hút thuốc lá, thậm chí đã bỏ hút thuốc đến hơn 40 năm vẫn cao hơn nhiều so với những người không hút thuốc lá [18].

Nguy cơ bị ung thư phổi tăng cao không chỉ ở người hút thuốc lá mà cả ở những người hút thuốc lá thụ động, người bị hít hơi khói thuốc lâu ngày có nguy cơ ung thư phổi cao hơn 1,5 lần so với người không hút [19].

Theo thống kê của Hiệp hội ung thư Hoa Kỳ, phụ nữ hút thuốc lá có nguy cơ mắc ung thư phổi cao gấp 25,7 lần so với những phụ nữ không hút thuốc lá. Với nam giới hút thuốc lá có nguy cơ mắc ung thư phổi so với người không hút thuốc lá cao gấp 25 lần. Hút thuốc lá là nguyên nhân gây 87% ca tử

vong do ung thư phổi ở nam giới và 70% ca tử vong do ung thư phổi ở nữ giới [1].



Biểu đồ 1.2: Mối liên quan giữa thuốc lá và UTP tại Hoa Kỳ

(National Cancer Institute's Surveillance of US)

1.3.2. Các yếu tố nguy cơ khác

Ô nhiễm không khí

Nguy cơ mắc ung thư phổi ngày càng tăng theo quá trình công nghiệp hóa và ô nhiễm môi trường. Người ta nhận thấy rằng ung thư phổi phát sinh nhiều hơn ở những nước có nền công nghiệp và giao thông vận tải phát triển, trong từng nước tỷ lệ ung thư phổi ở thành thị cao hơn ở vùng nông thôn. Nghiên cứu thực nghiệm và phân tích hóa học đã chứng minh nguyên nhân gây ung thư của những chất thải ra của công nghiệp [20]. Các bụi amiante, berylli khi hít vào phổi làm tăng khả năng mắc ung thư phổi. Các công nhân khai thác hoặc tiếp xúc thường xuyên với amiante có nguy cơ ung thư phổi cao gấp 7 lần người không tiếp xúc. Sự tiếp xúc với nickel, crom, thạch tín, than, nhựa, khí đốt, dầu mỏ, khói động cơ diezen cũng góp phần làm tăng nguy cơ mắc bệnh.

Coyle HG và cộng sự (2006) nghiên cứu trên 81.132 trường hợp ung thư phổi ở Texas - Mỹ từ năm 1995-2000, nhận thấy hít phải không khí có chứa kẽm, đồng và crom có liên quan đến tỷ lệ ung thư phổi [21].

Bên cạnh đó, gần đây, Hung HS và cộng sự (2007) đã chỉ ra rằng hơi bốc lên từ dầu nấu làm ức chế các protein trong chu trình chết theo chương trình, do vậy làm tốc độ phát triển của các tế bào ung thư phổi nhanh hơn [22]

Raymanakumar AV và cộng sự (2007) nhận thấy, những phụ nữ có tiếp xúc thường xuyên với các chất đốt sưởi ấm hoặc đun nấu có nguy cơ ung thư phổi cao gấp 2,5 lần so với những đối tượng không tiếp xúc thường xuyên [23].

Bức xạ ion hóa

Bức xạ ion hóa có thể gây ung thư ở hầu như tất cả các cơ quan trong đó có ung thư phổi. Nguồn bức xạ chính là từ bức xạ thiên nhiên, các tia vũ trụ, đất, vật liệu xây dựng, nguồn do chính con người tạo ra trong chẩn đoán y học

Theo Revich B và cộng sự (2001), những công nhân tiếp xúc với phóng xạ có nguy cơ UTP cao hơn, tuy nhiên tác giả cũng nhấn mạnh, nguy cơ ung thư tăng cao còn liên quan một phần với lối sống của công nhân ở những vùng thợ mỏ [24].

Các bệnh ở phế quản phổi

Chấn thương xơ sẹo ở phổi, lao phổi có thể phối hợp với ung thư. Người ta cho rằng lao phổi làm giảm miễn dịch, trên các sẹo nhồi máu cũ, đặc biệt là viêm phế quản mạn tính có dị dạng biểu bì làm tăng nguy cơ ung thư phổi [5].

Tuổi và giới

Các nghiên cứu đã chỉ ra ung thư phổi thường gặp nhiều nhất ở tuổi 40 đến 60 tuổi, dưới 40 tuổi ít gặp và trên 70 tuổi tỷ lệ cũng thấp. Tuy nhiên, ung thư phổi có thể gặp ở bất kỳ tuổi nào [5].

Chế độ ăn uống

Một vài báo cáo chỉ ra rằng: bữa ăn ít rau và hoa quả có thể làm tăng khả năng ung thư phổi nếu có phơi nhiễm với khói thuốc lá. Có bằng chứng ngày càng rõ ràng là hoa quả tươi và rau sạch bảo vệ con người chống ung thư [23]. Cũng theo Revich B và cộng sự thì phơi nhiễm với dioxin qua tiếp xúc trực tiếp hoặc qua ăn uống cũng làm tăng nguy cơ mắc ung thư phổi [24]. Ăn nhiều những thực phẩm nướng, chiên có nguy cơ bị ung thư cao hơn.

1.4. Chẩn đoán và phân loại ung thư phổi

Chẩn đoán xác định.

- Chẩn đoán xác định ung thư phổi dựa vào các triệu chứng lâm sàng, thăm dò chẩn đoán hình ảnh (X quang, cắt lớp vi tính, nội soi phế quản), xét nghiệm mô bệnh học và tế bào học.

- Tuy nhiên, kết quả mô bệnh học, tế bào học từ các bệnh phẩm lấy qua soi phế quản, sinh thiết, chọc hút qua thành ngực, dịch màng phổi, hạch thượng đòn... có tế bào, tổ chức ung thư. Đây là tiêu chuẩn vàng để chẩn đoán xác định ung thư phổi [5].

Phân loại ung thư phổi

Phân loại TNM, xếp giai đoạn ung thư phổi không tế bào nhỏ. Bảng phân loại này được áp dụng từ năm 2007 tại khoa Hô Hấp Bệnh viện Bạch Mai [25].

Phân loại TNM của Mountain CF [26] dựa trên ba tiêu chí: T: Khối u, N: Xâm lấn hạch, M: Di căn xa

T: khối u

- TX: không đánh giá được khối u nguyên phát, hoặc tìm thấy tế bào ung thư ở đờm hoặc ở dịch rửa phế quản nhưng không tìm thấy ở chẩn đoán hình ảnh hoặc nội soi phế quản.

- To: không phát hiện được bằng chứng nào của u nguyên phát ở phổi.

- Tis: ung thư biểu mô tại chỗ.

- T1: khối u có kích thước lớn nhất $< 3\text{cm}$, được bao quang bởi nhu mô phổi hoặc màng phổi lá tạng, khi soi phế quản không xâm lấn tới phế quản gốc.

- T2: khối u có một trong các đặc điểm về kích thước hoặc mức lan :

+ Kích thước lớn nhất $> 3\text{cm}$

+ Xâm lấn vào phế quản gốc, nhưng cách cửa khí phế quản $> 2\text{cm}$

+ Xâm lấn vào màng phổi lá tạng

+ Xẹp hoặc viêm phổi sau tắc PQ đi kèm có thể vượt quá vùng rốn phổi nhưng không chiếm toàn bộ một phổi

- T3: khối u kích thước bất kỳ nhưng có xâm lấn vào một trong các thành phần sau: thành ngực, cơ hoành, màng phổi trung thất, lá thành màng tim, hoặc khối u ở trong PQ gốc cách cửa khí quản $< 2\text{cm}$ nhưng không xâm lấn vào nó, hoặc kèm với xẹp hoặc viêm toàn bộ một phổi do tắc PQ.

- T4: khối u kích thước bất kỳ nhưng có xâm lấn vào một trong các thành phần sau: trung thất, tim, các mạch máu lớn, khí quản, thực quản, thân đốt sống, cửa khí phế quản, một hoặc vài nốt u ở cùng thùy với khối u chính, khối u với TDMP có TB ác tính.

N: hạch vùng

- NX: không đánh giá được hạch vùng

- No: không có di căn vào hạch vùng.

- N1: di căn hạch quang phế quản cùng bên và / hoặc hạch rốn phổi và hạch trong phổi cùng bên, bao gồm cả sự xâm lấn trực tiếp của khối u vào các hạch đó.

N2: di căn đến hạch trung thất cùng bên và / hoặc hạch dưới cửa khí phế quản.

N3: di căn đến hạch trung thất đối bên, hạch rốn phổi đối bên, hạch cơ bậc thang cùng bên hoặc đối bên hoặc hạch thượng đòn.

M: di căn

- MX: không đánh giá được di căn xa

- Mo: không có di căn xa
- M1: có di căn xa, bao gồm cả việc có các khối u nhỏ thùy phổi khác.

Xếp giai đoạn ung thư phổi không tế bào nhỏ.

- Ung thư biểu mô ứn: TxNoMo
- Giai đoạn 0: TisNoMo
- Giai đoạn IA: T1NoMo
- Giai đoạn IB: T2NoMo
- Giai đoạn IIA: T1N1Mo
- Giai đoạn IIB: T2N1Mo, T3NoMo
- Giai đoạn IIIA: T1N2Mo, T2N2Mo, T3N1, 2Mo
- Giai đoạn IIIB: mọi T, N3Mo ; T4, mọi N, Mo
- Giai đoạn IV: mọi T, mọi N, M1

Giai đoạn I: gồm các bệnh nhân không có bằng chứng xâm lấn hoặc di căn xa. Các bệnh nhân này là các ứng viên tốt nhất cho phẫu thuật.

Giai đoạn II: gồm các bệnh nhân có bằng chứng xâm lấn hạch nằm trong phổi: hạch trong nhu mô, quang phế quản hoặc rốn phổi nhưng các hạch này còn nằm bên trong lá tạng màng phổi, không có di căn xa.

Giai đoạn III: gồm các bệnh nhân ung thư phổi đã tiến triển trong lồng ngực. Có bằng chứng xâm lấn hạch nằm trong phổi: hạch trong nhu mô, quang phế quản hoặc rốn phổi nhưng các hạch này còn nằm bên trong lá tạng màng phổi, không có di căn xa.

Giai đoạn IV: gồm các bệnh nhân UTP đã di căn xa.

Phân loại ung thư phổi theo tế bào mô bệnh học.

Theo phân loại mô bệnh học của Tổ chức Y tế Thế giới năm 2004 cho các khối u phổi và màng phổi, các tổn thương được chia thành 9 type và các biến thể như sau [27]:

1. Ung thư biểu mô vảy

Các biến thể:

- 1.1. Dạng nhú
- 1.2. Tế bào sáng
- 1.3. Tế bào nhỏ
- 1.4. Tế bào dạng đáy
2. Ung thư biểu mô tế bào nhỏ
3. Ung thư biểu mô tuyến
 - 3.1. Dạng nang
 - 3.2. Dạng nhú
 - 3.3. Tiêu phế quản phế nang
 - 3.3.1. Không chế nhày
 - 3.3.2. Chế nhày
 - 3.3.3. Hỗn hợp chế nhày và không chế nhày hay loại tế bào trung gian
 - 3.4. Ung thư biểu mô tuyến đặc với chất nhày
 - 3.5. Ung thư biểu mô tuyến với các dưới nhóm phức hợp
 - 3.6. Các biến thể:
 - 3.6.1. Ung thư biểu mô tuyến bào thai biệt hoá cao
 - 3.6.2. Ung thư biểu mô tuyến chế nhày "dạng keo"
 - 3.6.3. Ung thư biểu mô tuyến túi chế nhày (Cystadenocarcinoma)
 - 3.6.4. Ung thư biểu mô tuyến dạng nhẫn khắc
 - 3.6.5. Ung thư biểu mô tuyến tế bào sáng
4. Ung thư biểu mô tế bào lớn

Biến thể

 - 4.1. Ung thư biểu mô tế bào lớn thần kinh nội tiết
 - 4.1.1. Ung thư biểu mô tế bào lớn thần kinh nội tiết phối hợp
 - 4.2. Ung thư biểu mô tế bào dạng đáy
 - 4.3. Ung thư biểu mô dạng biểu mô lympho
 - 4.4 Ung thư biểu mô tế bào sáng

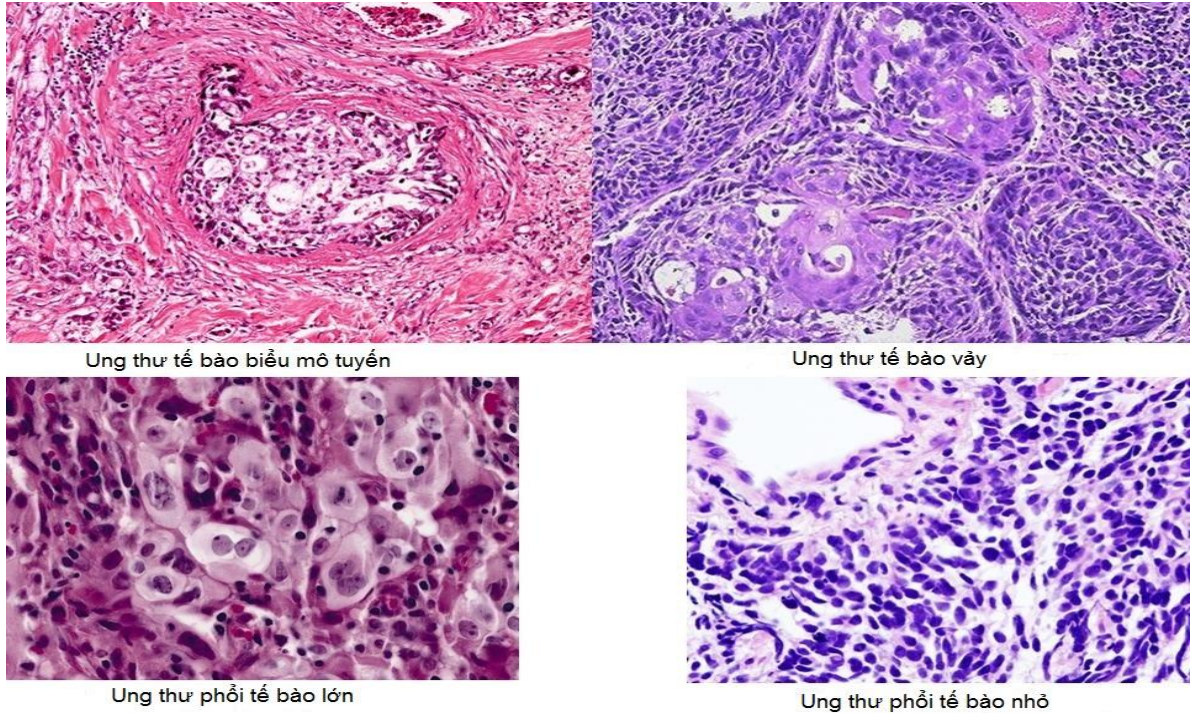
- 4.5. Ung thư biểu mô tế bào lớn với kiểu hình dạng u cơ trơn
- 5. Ung thư biểu mô tuyến- vảy
- 6. Ung thư biểu mô với các thành phần đa hình thể, sarcome và dạng sarcome
 - 6.1. Ung thư biểu mô với các tế bào hình thoi và / hoặc tế bào khổng lồ
 - 6.1.1. Ung thư biểu mô đa hình thể
 - 6.1.2. Ung thư biểu mô tế bào hình thoi
 - 6.1.3. Ung thư biểu mô tế bào khổng lồ
 - 6.2. Ung thư biểu mô- sarcome
 - 6.3. Ung thư nguyên bào phôi
 - 6.4. Các loại khác
- 7. U carcinoid
 - 7.1. U carcinoid điển hình
 - 7.2. U carcinoid không điển hình
- 8. Ung thư biểu mô dạng tuyến nước bọt
 - 8.1. Ung thư biểu mô dạng biểu bì-nhày
 - 8.2. Ung thư biểu mô túi dạng tuyến bạch huyết
 - 8.3. Các nhóm khác
- 9. Ung thư biểu mô không xếp loại

Theo mô học, ung thư phổi được chia làm hai loại chính đó là: ung thư phổi tế bào nhỏ (SCLC: small cell lung carcinoma) và ung thư phổi không tế bào nhỏ (NSCLC: non-small cell lung carcinoma).

Ung thư phổi tế bào nhỏ (SCLC: small cell lung carcinoma): loại ung thư này chiếm từ 15-20% các trường hợp ung thư phổi. Loại ung thư này thường xảy ra trên những người hút thuốc, rất hiếm đối với những người chưa hút thuốc bao giờ.

Ung thư phổi không tế bào nhỏ (NSCLC: non-small cell lung carcinoma): chiếm 80-85% các trường hợp ung thư phổi. Có rất nhiều loại tế bào ung thư trong ung thư phổi không tế bào nhỏ nhưng có ba loại chính hay

gặp trên lâm sàng đó là: ung thư tế bào vảy, ung thư tế bào biểu mô tuyến và ung thư tế bào biểu mô lớn. Ung thư tế bào vảy là loại thường gặp nhất của ung thư phổi nguyên phát.



Hình 1.3. Các tế bào ung thư phổi dưới kính hiển vi

(Nguồn: www.cancergrace.org)

Ung thư phổi có thể không phải bắt nguồn từ phổi (ung thư phổi nguyên phát) mà còn có thể là do các tế bào ung thư ở cơ quan khác di căn đến phổi, được gọi là ung thư phổi thứ phát.

1.5. Chiến lược mới trong điều trị ung thư phổi

Hơn 10 năm qua người ta đã nhận thấy rằng việc sử dụng các thuốc hóa chất truyền thống đã đạt đến mức cao nhất có thể trong điều trị UTP. Hóa chất không thể phân biệt giữa tế bào ung thư và tế bào lành nên việc sử dụng những thuốc này thường bị hạn chế bởi độc tính toàn thân và thường gặp là các tác dụng phụ ảnh hưởng tới liều và liệu trình điều trị. Mặc dù hóa chất là một biện pháp điều trị thích hợp cho nhiều bệnh nhân UTP nhưng vẫn còn nhiều vấn đề cần cải tiến.

Những hiểu biết của con người về sinh học ung thư đã tăng lên, nhiều đích mới cho điều trị đã được phát hiện. Trong khuôn khổ luận án này chúng tôi xin phép đưa ra một số chiến lược mới trong điều trị ung thư phổi.

1.5.1. Điều trị bằng thuốc ức chế Tyrosin kinase trong ung thư phổi.

Bộ gen người mã hóa cho hơn 500 protein kinase có liên quan đến một số bệnh khác nhau, trong đó có ung thư. Phương pháp điều trị bằng thuốc ức chế Tyrosin kinase là phương pháp dùng thuốc tác động vào thành phần Tyrosin kinase của các thụ thể trên bề mặt tế bào nhằm phá vỡ đường dẫn truyền tín hiệu nội bào. Hiện nay, các thuốc ức chế EGFR tyrosin kinase là một bước tiến mới đã được thử nghiệm có hiệu quả trên lâm sàng [28].

1.5.2. Điều trị ung thư phổi bằng thuốc chống sinh mạch.

Mạch máu có vai trò quan trọng máu chốt sống còn của tế bào khối u, trong phát triển và di căn. Các khối u, giống như bất kỳ các mô khác, có thể nhận oxy và các chất dinh dưỡng bởi khuếch tán tới khi chúng phát triển đến đường kính 1-2mm. Phát triển hơn nữa đòi hỏi phải tạo thành các mạch máu mới. Không có cung cấp máu đầy đủ, các khối u không thể phát triển quá kích thước tiêu chuẩn này cũng như không thể di căn xa được. Những nguyên lý này gợi ý rằng phát triển mạch máu có vai trò chủ chốt trong nhiều bước và theo lần lượt của tiến triển và di căn của ung thư. Hai chiến lược mới bao gồm: điều trị kháng mạch và kháng tạo mạch, trong đó điều trị kháng mạch nhằm vào và phá hủy có chọn lọc các mạch máu hiện có của khối u bằng cách khai thác khác biệt về cấu trúc và sinh lý học giữa mạch máu khối u và của mô lành. Trái lại, các tác nhân ức chế tạo mạch sẽ ức chế tạo thành mạch máu mới từ cấu trúc mạch có trước [28].

1.5.3. Liệu pháp điều trị gen

Liệu pháp điều trị gen là một thử nghiệm trực tiếp dùng kỹ thuật di truyền học phân tử trong điều trị UTP. Những cách tiếp cận cơ bản liệu pháp gen rất đa dạng và được quy vào ba nhóm.

- Cải biến đáp ứng vật chủ với khối u, như gây ra miễn dịch hoặc thay đổi những đáp ứng gen tạo mạch
- Gây tác động chống khối u trực tiếp hoặc gián tiếp bằng các giới thiệu vật chất di truyền tác động trực tiếp đến tế bào ung thư để dùng tăng trưởng hoặc tiêu diệt tế bào đó.
- Nhân virus sống trong tế bào u lên để trực tiếp phân hủy khối u [28].

1.5.4. Điều trị miễn dịch trong ung thư phổi.

Những bằng chứng về gen học đã chỉ ra là ung thư xuất hiện từ thay đổi của một loạt các phân tử dẫn đến biến đổi và không còn khả năng hạn chế sinh sản, tế bào trở thành bất tử, nhân lên vô hạn không kiểm soát được dẫn đến hậu quả là chết người do các khối u phát triển - đó là ung thư. Những thay đổi này thường được thể hiện bằng biểu lộ các protein bất thường (đột biến, biểu lộ quá mức, hoặc biểu lộ ở những cái bình thường không có) qua đánh dấu những tế bào khối u ngoại lai, hoặc ít biến đổi tế bào xuất hiện tại khối u đó khác biệt giữa người mắc bệnh và người khỏe mạnh, sau đó là các tế bào bình thường và ác tính. Do đó, những protein được mã hóa bởi các gen biểu lộ bất thường sẽ được trình diện cho hệ thống miễn dịch, để làm giảm các kháng nguyên hoặc loại bỏ khối u. Từ đó người ta đã tập trung nghiên cứu cơ chế đáp ứng miễn dịch với những khối u trong lĩnh vực lâm sàng. Truyền những tế bào miễn dịch và tiêm chủng là đại diện của hai lĩnh vực nghiên cứu tích cực sử dụng các phương pháp tạo ra các tế bào lympho đặc hiệu với kháng nguyên biểu lộ bất thường bởi tế bào ung thư [28].

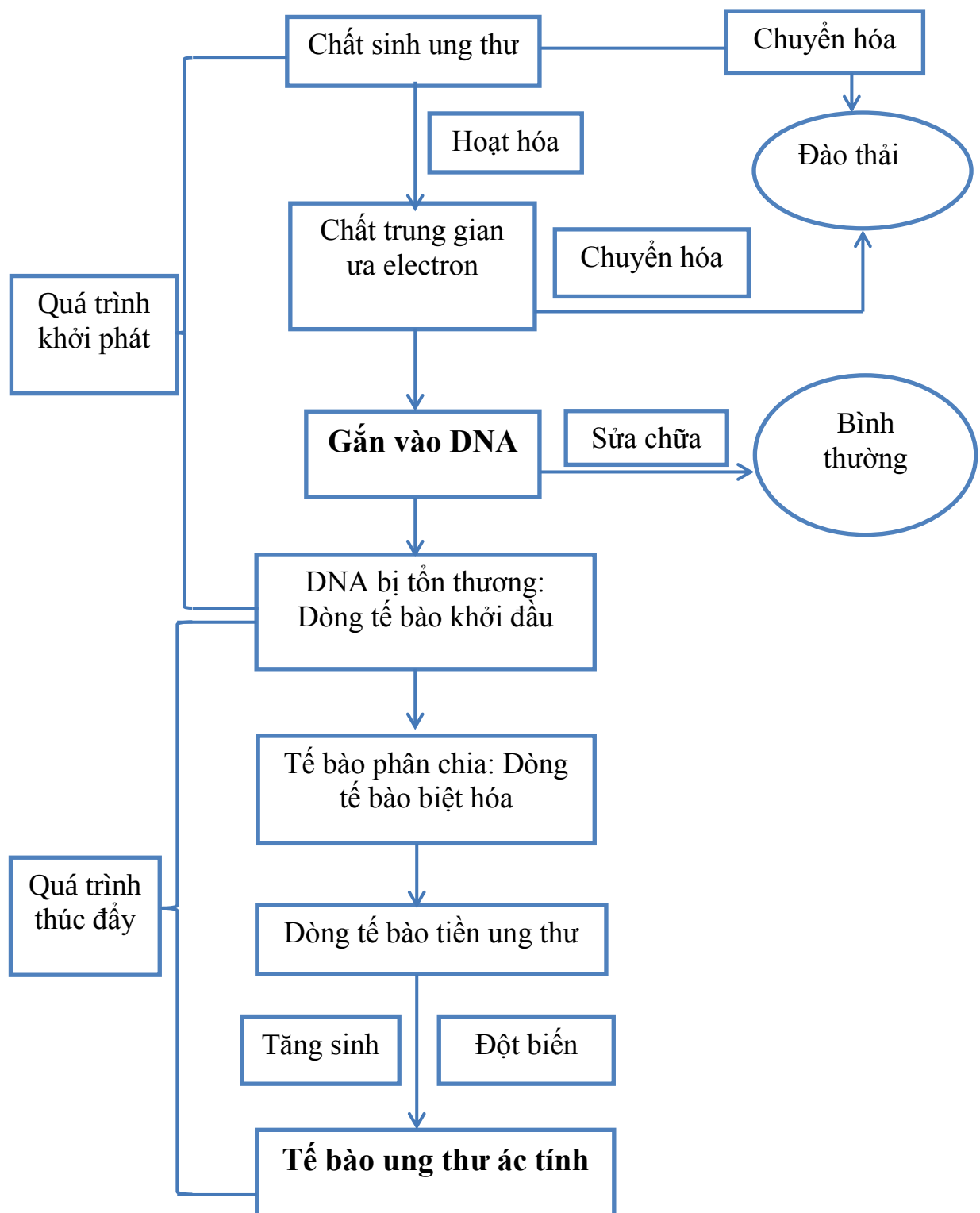
1.6. Sinh học phân tử ung thư phổi

Nói chung người ta thường chấp nhận rằng, sự phát sinh ung thư ở người có liên quan đến sự tích tụ nhiều bất thường phân tử theo thời gian. Những biến đổi đó dẫn đến sự thay đổi ở mức tế bào học, có thể phân thành 6 con đường dưới đây [29]

1. Sự tích tụ những bất thường do đột biến trong các gen tiền ung thư tới ung thư.
2. Mất tính nhạy cảm với các tín hiệu kháng ung thư do kết quả của các đột biến gây ảnh hưởng đến các gen kiểm chế khối u.
3. Sự lẩn tránh chết theo chương trình do điều hòa lên các phân tử kháng apoptosis hoặc điều hòa đến các phân tử tiền apoptosis.
4. Tiềm năng sao chép không giới hạn do kích hoạt telomerase
5. Duy trì sự tạo mạch cho các tế bào tiền ung thư
6. Khả năng xâm lấn mô và khả năng lẩn tới những vị trí xa

Những biến đổi phân tử có thể xảy ra ở mức điều hòa gen lên hoặc xuống, biến đổi trình tự DNA (đột biến điểm), mất tính dị hợp tử (tức là bị xóa đi một bản sao trình tự DNA của allele), khuếch đại các đoạn DNA hoặc toàn bộ nhiễm sắc thể có thể thu được hoặc mất đi tính bất ổn hệ gen một cách đồng thời cũng như những thay đổi ở DNA.

Những tiến bộ trong sinh học phân tử và di truyền học đã tác động đáng kể đến những tiến bộ trong việc làm sáng tỏ cơ chế bệnh sinh của ung thư phổi. Nhiều nghiên cứu cho thấy, rõ ràng là có trên 20 biến đổi di truyền khác nhau đã được tích lũy trong quá trình sinh bệnh của ung thư phổi đã rõ ràng về lâm sàng, đó là một quá trình phân dòng với nhiều bước. Như vậy, cho đến nay hầu hết các biến đổi đã được phát hiện là các đột biến bất hoạt và mất các gen kiểm chế khối u cũng như biểu hiện quá mức các gen ung thư thúc đẩy tăng trưởng. Gần đây hơn, sự bất hoạt của các gen kiểm chế khối u do cường methyl hóa được phát hiện. Những bất thường di truyền dòng đầu xảy ra ở biểu mô phế quản tiền ung thư bị tổn hại do hút thuốc hoặc các gen sinh ung thư khác đã được xác định. Những sự phân biệt phân tử giữa ung thư phổi tế bào nhỏ và ung thư phổi không tế bào nhỏ cũng như giữa các khối u có khác nhau về kết quả lâm sàng cũng đã được mô tả [29]. Dưới đây là cơ chế phân tử gây UTP.



Hình 1.4. Cơ chế sinh ung thư phổi.
 (Nguồn: <http://vi.wikipedia.org/wiki/Ungthu>)

1.6.1. Những gen liên quan đến ung thư phổi

❖ KRAS: (Kirsten rat sarcoma virus)

KRAS là thành viên của họ các tiền gen ung thư RAS (bao gồm KRAS, HRAS và NRAS ở người) và mã hóa cho một protein G có vai trò quan trọng trong việc kiểm soát con đường truyền tín hiệu điều hòa sự tăng sinh, sự biệt hóa và sự sống sót của tế bào. Là các gen tiền ung thư quan trọng trong phát triển ung thư phổi. Protein RAS được liên kết với guanosine diphosphate (GDP) và làm bất hoạt trong các tế bào yên ngựa bình thường. Có một sự chuyển đổi nhằm kích hoạt dạng liên kết guanosin triphosphate (GTP) sau khi hoạt hóa các receptor yếu tố tăng trưởng thượng nguồn.

Khoảng 20 - 30% các trường hợp ung thư phổi biểu mô tuyến và khoảng 15 - 20% các trường hợp ung thư phổi không tế bào nhỏ nói chung có đột biến các gen RAS tại các codon 12,13 hoặc codon 61 nhưng các đột biến này hiếm gặp trong ung thư phổi tế bào nhỏ. Trong ung thư biểu mô tuyến của phổi, đột biến gen KRAS chiếm khoảng 90% các đột biến của họ gen RAS. Khoảng 85% các đột biến gen xảy ra ở codon 12 [30],[31].

❖ EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor)

Sự biến đổi của gen EGFR có liên quan đến sinh bệnh học của nhiều ung thư, bao gồm cả ung thư phổi không tế bào nhỏ. Gen EGFR mã hóa cho vùng tyrosine kinase vận chuyển qua màng. Gen EGFR có liên quan đến sự điều hòa nhiều chức năng tế bào ung thư như sự tăng sinh, sự sống sót và biệt hóa tế bào, sự tạo mới mạch, sự xâm lấn và di căn.

Sự kích hoạt các đột biến gen EGFR đã được báo cáo với khoảng 10 đến 15% bệnh nhân ở các nước châu Âu và 30 đến 40% các nước khu vực châu Á. Sự khác biệt trong các báo cáo về tỷ lệ các đột biến gen này có thể liên quan đến chủng tộc, địa dư khác nhau, nhưng cũng còn phụ thuộc vào độ nhạy của các kỹ thuật phân tích đột biến gen được sử dụng trong các nghiên

cứu. Ở ung thư phổi không tế bào nhỏ, những đột biến gen EGFR xảy ra đầu tiên ở 4 exon của domain tyrosine nội bào, thông thường nhất là exon 19 trong khung xóa (khoảng 45%), trong đó có trên 20 biến thể, phổ biến nhất là delE746-A750. Các đột biến EGFR phổ biến tiếp theo là các đột biến sai nghĩa, đặc biệt là L858R, một đột biến điểm nucleotide đơn ở exon 21 dẫn đến sự thay đổi một acid amin đơn từ leucine thành arginine ở codon 585 (khoảng 40%).

Trong ung thư phổi, hầu hết các đột biến gen EGFR xảy ra ở ung thư biểu mô tuyến mặc dù cũng được phát hiện trong ung thư tế bào vảy. Đột biến gen EGFR là khá phổ biến chứ không phải chỉ phát hiện thấy ở các bệnh nhân là nữ trẻ và không có tiền sử hút thuốc. Các đột biến gen EGFR rất hiếm xảy ra ở ung thư phổi loại tế bào vảy. Tuy nhiên phân tích hệ gen toàn diện của 188 mẫu SCC đã xác định được 2 đột biến gen EGFR ở 2 trường hợp [30].

❖ Các gen tiền ung thư MYC:

Các gen tiền ung thư MYC thuộc họ các gen liên quan (C-MYC, N-MYC, L-MYC) chúng mã hóa cho các yếu tố sao chép, kích hoạt các gen liên quan đến kiểm soát tăng trưởng và apoptosis. Những bất thường phân tử có liên quan đến gen MYC hoặc mất điều hòa sao chép của chúng được phát hiện là một cơ chế phân tử quan trọng trong bệnh sinh học ung thư phổi ở người. Bất thường phổ biến nhất có liên quan đến các thành viên MYC trong ung thư phổi là sự khuếch đại gen hay chỉ biểu hiện quá mức gen mà không có sự khuếch đại gen [30]. Richardson và Johnson, qua 17 công trình nghiên cứu kết luận rằng 36/200 khối ung thư phổi tế bào nhỏ (18%) và 38/122 khối ung thư phổi không tế bào nhỏ (31%) có khuếch đại gen họ MYC.

1.6.2. Gen áp chế khối u

Các gen áp chế khối u là nhân tố điều hòa âm quan trọng đối với sự tăng trưởng bình thường của TB. Mất chức năng gen áp chế khối u là một cơ

chế quan trọng sinh ung thư, nó đòi hỏi bất hoạt cả hai allele. Trong một allele thì gen cá lẻ thường bị bất hoạt do đột biến, yên lặng epigenetic hoặc các sai lệch khác, trong khi đó allele thứ 2 thường bị bất hoạt thông qua mất dị hợp, theo đó một vùng của NST bị mất đi do đứt đoạn, chuyển vị không tương hỗ hoặc tái tổ hợp phân bào. Trong ung thư phổi, các gen áp chế khối u thường bị bất hoạt là TP53, retinoblastoma 1 (RB1), serine-threonin kinase 11 (STK11, CDKN2A, FHIT, RASSF1A và PTEN) [30].

❖ Gen áp chế khối u TP53 (P53)

TP53 định vị trên nhiễm sắc thể 17p13, mã hóa cho một phosphoprotein nhân 53kDa và gắn với vùng DNA bị tổn hại, đồng thời tác động như một yếu tố sao chép, kiểm soát sự biểu hiện của nhiều gen khác nhau. Sự tổn hại DNA là một nguyên nhân gây ung thư. Bất hoạt TP53 là một trong những bất thường di truyền quan trọng nhất trong UTP. Hiện tượng mất một allele 17p13, có chứa locus TP53, xảy ra trong 90% ung thư phổi tế bào nhỏ và khoảng 65% trong ung thư phổi không tế bào nhỏ. Các đột biến bất hoạt ở TP53 (chủ yếu là các đột biến sai nghĩa bên trong vùng gắn DNA) đã được báo cáo chiếm khoảng 80-100% ung thư phổi tế bào nhỏ. Các đột biến TP53 phát hiện được ít nhất là 81% ở ung thư phổi tế bào vảy nhờ phân tích toàn diện về di truyền. Phổ đột biến của TP53 cũng khác nhau giữa người hút thuốc và không hút thuốc liên quan đến các ung thư có tần số chuyển đổi G thành T cao đáng kể so với chuyển đổi G thành C và sự chuyển đổi G thành A. Các đột biến của gen TP53 có thể xảy ra cùng với các đột biến gen EGFR và gen KRAS. Gen TP53 đóng vai trò quan trọng trong ung thư phổi và những ung thư khác với hàng nghìn điểm đột biến được ghi nhận [32].

❖ Gen áp chế PTEN (Phosphatase Tesin Homolog Deleted on Chromosome Ten)

Gen PTEN mã hóa cho một phosphatase protein và lipid trên nhiễm sắc thể số 10q23 ức chế con đường tín hiệu PI3K/AKT/mTOR do sự dephosphoryl hóa P1-(3,4,5)-triphosphate. Sự mất chức năng của gen áp chế khối u PTEN dẫn đến kích hoạt liên tục AKT/protein kinase B không phụ thuộc liên kết ligand. Các đột biến gen PTEN xảy ra rất hiếm, chỉ khoảng 5% ở ung thư phổi không tế bào nhỏ, ở ung thư phổi tế bào vảy thì phổ biến hơn (10,2%), còn ở ung thư phổi biểu mô tuyến là (1,7%) và có liên quan đến tiền sử hút thuốc lá [32].

❖ Gen áp chế p21:

Gen p21 (WAF1 hoặc CIP1) được coi là gen đích của gen p53 trong quá trình ức chế khối u, chúng ức chế sự tăng trưởng tế bào ung thư ở phase G1 trong chu trình nhân lên của tế bào. Mặc dù không đột biến trong ung thư phổi, nhưng sự biểu hiện quá mức của p21 được thấy ở 65% - 75% của ung thư phổi không tế bào nhỏ, đặc biệt ở những khối u đã được biệt hóa rõ. Tỷ lệ thường gặp cao này gợi ý rằng p21 có biểu hiện độc lập với sự thay thế của p53. Trong một nghiên cứu khác về ung thư phổi không tế bào nhỏ, sự hiện diện đồng thời của p21 và TGF-B1 dự báo thời gian sống kéo dài hơn so với sự hiện diện đơn lẻ của riêng từng yếu tố này [33].

❖ Gen áp chế khối u RB (retinoblastom gene - RB).

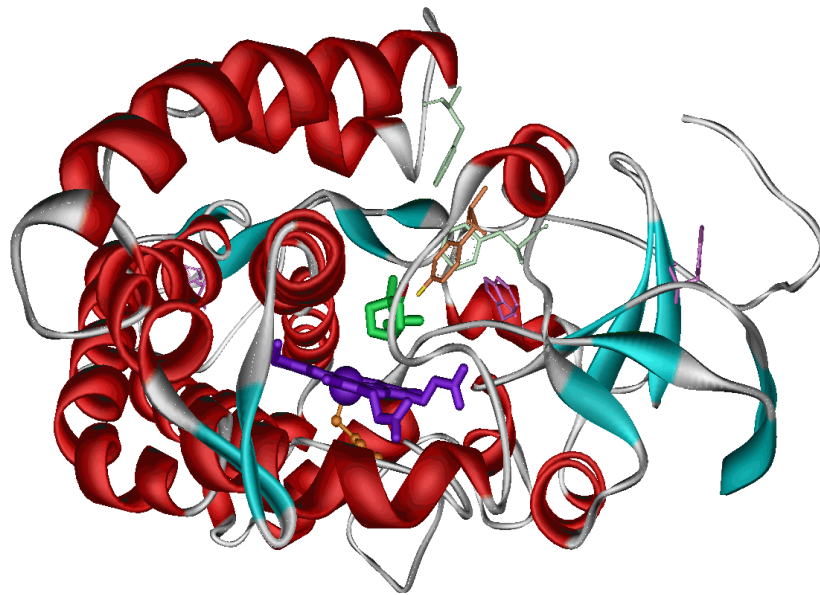
Gen RB, nằm trên vị trí 14 cánh dài nhiễm sắc thể 13 (13q14) và sản phẩm protein của nó là một phosphoprotein nhân được xác định trước tiên ở u nguyên bào võng mạc ở trẻ. Protein RB kết hợp với p53 trong việc điều hòa và kiểm soát tiến trình chu kỳ tế bào, mức độ sao chép và sự cân bằng giữa tăng sinh và biệt hóa TB. Các đột biến RB bao gồm cắt xóa, đột biến âm thầm và ghép đoạn, thường dẫn đến việc xóa gen RB. Một vài nghiên cứu về đột

biến gen RB cho thấy hầu hết các đột biến xảy ra ở cắt đoạn RB. Bất hoạt cả hai alen RB thường gặp trong ung thư phổi. Các bất thường về protein RB thấy trong khoảng 90% các UTPTBN và 15-30% các UTPKTBN. Không hoạt động gen RB liên quan tới tiên lượng xấu trong UTPKTBN, đặc biệt giai đoạn I và II [34],[35].

1.7. Dấu ấn sinh học phân tử các gen CYP1A1, CYP2D6 trong chu trình chuyển hóa Cytochrome P450 và ung thư phổi

Cấu trúc phân tử.

Cytochrome p450 (CYPs) là một liên họ lớn chứa các hemoprotein, có cấu trúc phức tạp.



Hình 1.5. Cấu trúc phân tử Cytochrome p450

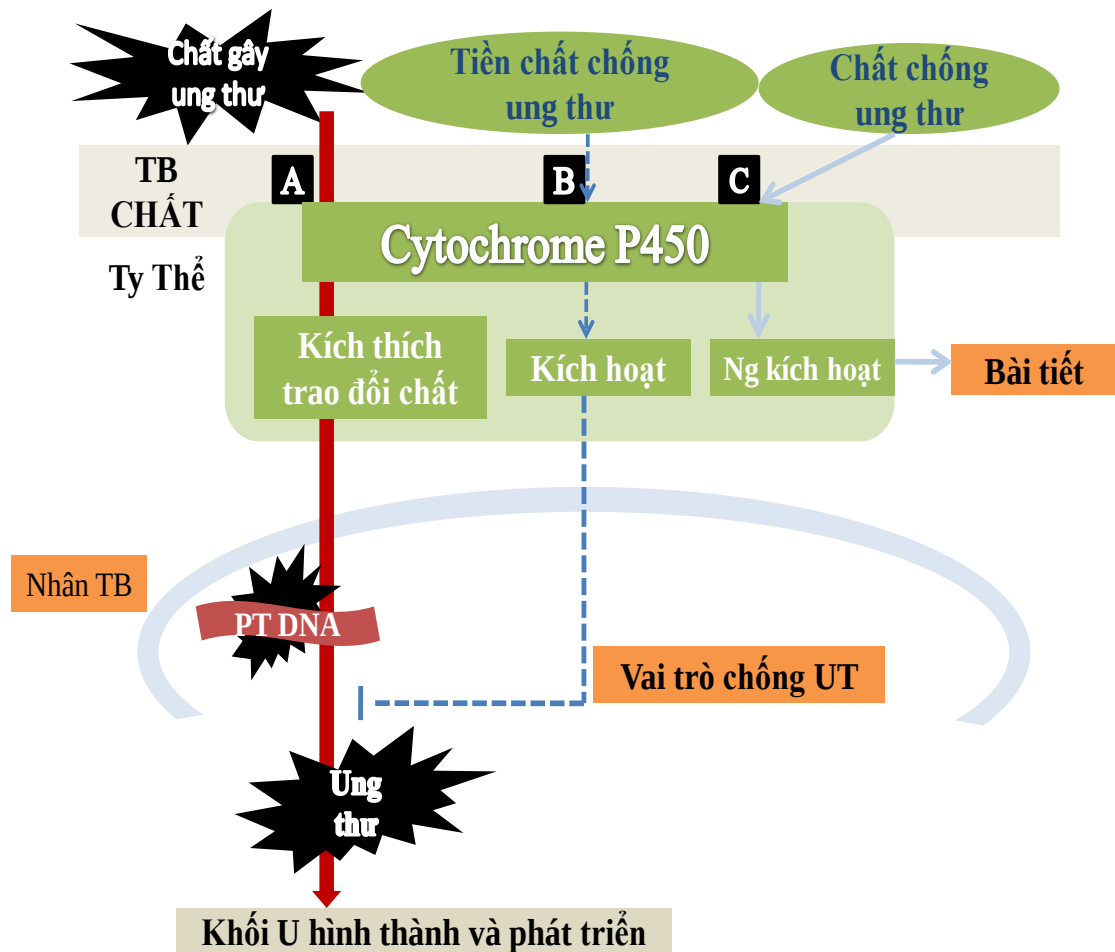
Nguồn: www.tifr.res.in

Cơ chế phân tử

Cytochrome P450 (CYPs) là một liên họ lớn chứa các hemoprotein xúc tác rất nhiều phản ứng enzym khác nhau để chuyển hóa các hợp chất nội và ngoại sinh [10]. Các CYPs nhóm 1-3 (CYP1-3) chủ yếu chuyển hóa các hợp

chất xenobiotic, trong đó có các chất gây ung thư. Các nhóm CYPs khác tham gia vào việc chuyển hóa các hợp chất nội sinh như vitamin D, retinoic acid, cholesterol và steroid hormon. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng hoạt tính enzym của hầu hết thành viên trong các nhóm CYP1-3 có tính chất cá thể. Điều này được giải thích bởi tính đa hình thái của CYP tạo ra các kiểu gen khác nhau và mức độ biểu hiện của mỗi kiểu gen đó tương ứng với từng cá thể sinh sống trong cộng đồng [36],[37]. Trong các CYPs nhóm 1-3 thì CYP1A1 và CYP2D6 là những enzym chính hoạt hóa các chất gây ung thư sinh ra từ khói thuốc như nicotine và các hydrocarbon có nhân thơm. Khi mức độ biểu hiện và hoạt tính của các enzym này được tăng cường sẽ làm tăng khả năng hoạt hoá các chất gây ung thư. Các chất gây ung thư này (đã được hoạt hóa) có thể gắn vào và làm tổn thương DNA, gây đột biến gen, đặc biệt là trên vùng nhiễm sắc thể 15q24–15q25.1 chứa 2 gen mã hóa các tiểu đơn vị của thụ thể nicotinic acetylcholine alpha điều hòa quá trình phơi nhiễm với nicotine [38],[39]. Cơ chế gây bệnh của các CYPs liên quan đến tính đa hình thái của chúng có thể được tóm tắt như sau, cũng như sơ đồ dưới.

- SNPs trên vùng mã hóa của gen dẫn tới thay đổi trình tự acid amin và thay đổi hoạt tính enzym và khả năng gắn vào cơ chất của enzym đó như ở gen CYP2D6.
- SNPs tại vùng không mã hóa ảnh hưởng đến quá trình điều hòa sao chép gen làm thay đổi mức độ biểu hiện và hoạt tính enzym: CYP1A1.
- Sự sao chép gen làm tăng cường mức độ biểu hiện của enzym: CYP2D6
- Sự tương tác giữa các enzym hay giữa enzym của gen CYP1A1 và cơ chất thúc đẩy sự hoạt hóa các chất gây ung thư phổi.



Hình 1.6. Cơ chế gây ung thư của các chất gây ung thư và vai trò Cytochrome p450 [39]

Tính đa hình thái của gen CYP1A1, CYP2D6 và ung thư phổi

Cho đến nay, ngoài dạng “nguyên thủy-wild type” của CYP1A1 (CYP1A1*1) và CYP2D6 (CYP2D6*1), người ta đã xác định được nhiều kiểu gen tương ứng với mỗi SNPs của những gen này liên quan đến ung thư. Bảng 1 và bảng 2 liệt kê những kiểu gen của CYP1A1, CYP2D6 liên quan đến nguy cơ mắc một số loại hình ung thư cũng như liên quan đến yếu tố nguy cơ hút thuốc và ung thư phổi.

Bảng 1.1: Các đa hình thái của gen CYP1A1 liên quan đến UTP

Dạng SNP	Vị trí thay đổi	Acid amin tương ứng
CYP1A1*1	Wild type	
CYP1A1*2A	3801 T → C	Vùng không mã hóa
CYP1A1*2B	2455 A → G	462 Ile → Val
CYP1A1*4	2453 C → A	461 Thr → Asn
CYP1A1*5	2461 C → A	464 Arg → Ser

Bảng 1.2: Các đa hình thái của gen CYP2D6 liên quan đến UTP

Dạng SNP	Vị trí thay đổi	Acid amin tương ứng
CYP2D6*1	Wild type	
CYP2D6*3	1749A>G; 2549A>del	N166D; Frameshift
CYP2D6*4	100C>T, 974C>A; 984A>G;	P34S; L91M; H94R
CYP2D6*5	<i>CYP2D6 deleted</i>	<i>CYP2D6 deleted</i>
CYP2D6*6A	1707T>del	Frameshift
CYP2D6*7	2935A>C	H324P

Mối liên quan giữa kiểu gen CYP1A1 và ung thư phổi lần đầu tiên được báo cáo bởi Kawajiri và đồng nghiệp vào năm 1990 trong một quần thể người châu Á [40]. Theo các nghiên cứu của Cosma và cộng sự (1993), Gaste và Cộng sự (1993) kiểu gen CYP1A1 ở cộng đồng người châu Á có nguy cơ mắc ung thư phổi cao hơn so với cộng đồng người da trắng và châu Mỹ [41], [42].

Ở Nhật Bản và Trung Quốc, theo các nghiên cứu của Hong và cộng sự (1998), Sugimura và cộng sự (1998), Bastsch và cộng sự (2000), Song và cộng sự năm (2001) phát hiện thấy có mối liên quan giữa kiểu gen CYP1A1 với nguy cơ ung thư phổi, đặc biệt liên quan đến hút thuốc [43],[44],[45],[46].

Theo nghiên cứu của Sobti và cộng sự (2003, 2004) ở cộng đồng người Ấn Độ cũng thấy mối liên quan giữa kiểu gen CYP1A1 với nguy cơ mắc ung thư phổi và cũng tương tự nghiên cứu của Sreeja và cộng sự. (2005) ở cộng đồng người dân ở phía Nam của Ấn Độ [47],[48].

Nghiên cứu gần đây của Chen và CS. (2011) phát hiện thấy có mối liên quan chặt chẽ giữa ung thư phổi với các kiểu gen CYP1A1*2A và CYP1A1*2B; trong đó kiểu gen CYP1A1*2B với sự thay đổi acid amin tại vị trí 462 (Ile → Val) được chỉ ra là yếu tố nguy cơ cao gây ung thư phổi trên các đối tượng người châu Á [49]. Đối với quần thể người châu Âu thì bên cạnh kiểu gen CYP1A1*2B, kiểu gen CYP1A1*4 (461 Thr → Asn) cũng đóng vai trò quan trọng đối với nguy cơ phát sinh ung thư phổi, CYP1A1*2B với ung thư phổi thể tế bào nhỏ và CYP1A1*4 với ung thư phổi thể không tế bào nhỏ [50]. Nghiên cứu trên quần thể người gốc Bắc Mỹ cho thấy nguy cơ của kiểu gen CYP1A1*2A đối với sự phát sinh, phát triển ung thư phổi tế bào nhỏ. Nguy cơ này tăng cao hơn rất nhiều nếu các đối tượng đồng thời mang kiểu gen CYP2D6* (HEM). Kiểu gen này cũng gây ra mối nguy cơ đối với ung thư phổi cao gấp 7 lần trên các đối tượng hút thuốc lá lâu năm so với những người không hút thuốc [51],[52]. Bên cạnh đó nhiều nghiên cứu cũng đã được thực hiện để đánh giá mối tương quan giữa các kiểu gen khác nhau của CYP2D6 với sự hình thành ung thư phổi trên các đối tượng hút thuốc lá lâu năm [53],[54].

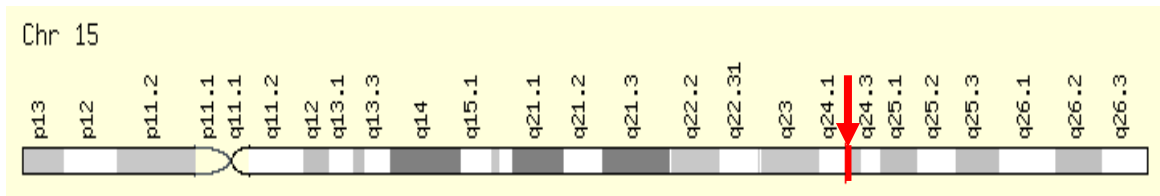
1.7.1. Tổng quan về gen CYP1A1

Vị trí và cấu trúc

Gen *CYP1A1* (Cytochrome P450, họ 1, phân họ A, polypeptid 1) nằm trên NST số 15, nhánh dài, ở vị trí 24.1 (Hình 1.7). Gen *CYP1A1* là gen mã

hóa protein, gồm 6069 base, từ bp 75.011.883 đến bp 75.017.951 với cấu trúc gồm 7 exon và 6 intron [55],[56].

Protein được mã hóa nằm trên màng lưới nội chất hạt, gồm 512 acid amin và có trọng lượng phân tử 58165 Dalton [57],[58].



Hình 1.7. Vị trí của gen CYP1A1 trên NST 15

(Nguồn: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

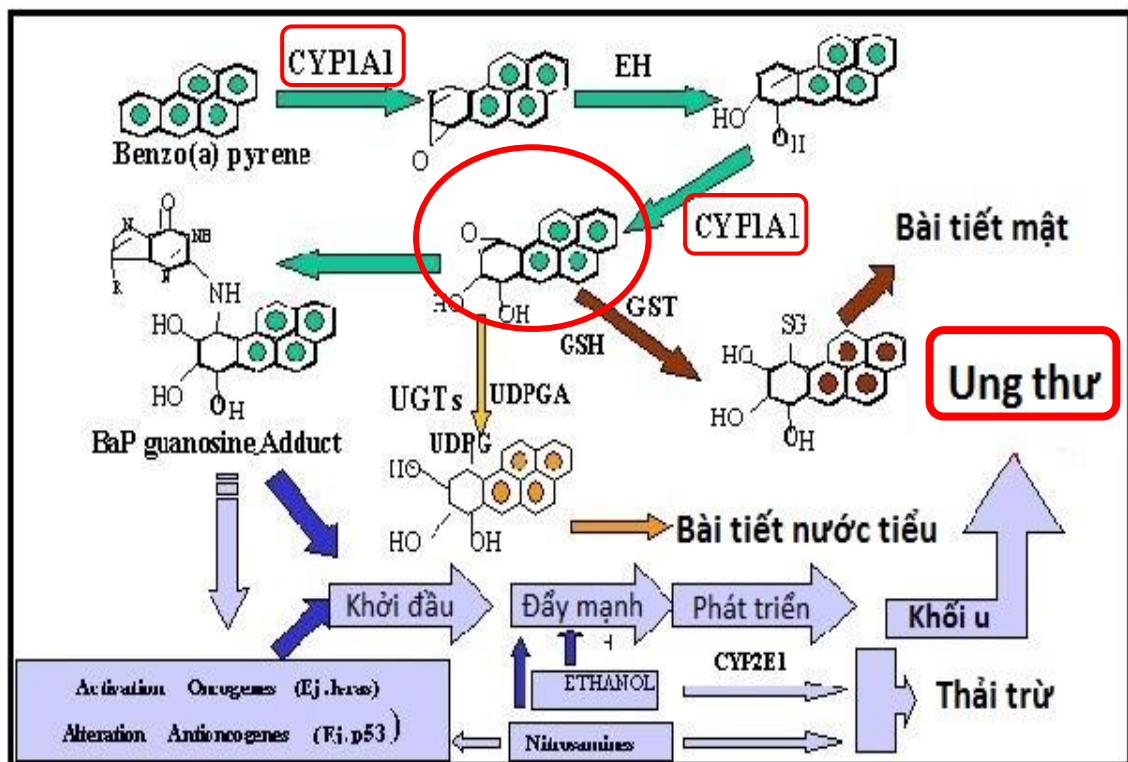
Chức năng

Gen *CYP1A1* thuộc họ Cytochrome P450 (CYPs). CYPs chủ yếu là các protein liên kết màng [59], khu trú ở màng trong của ty thể hoặc ở lưới nội chất của tế bào. CYPs chuyển hóa hàng nghìn các chất nội sinh và ngoại sinh. Một số chỉ chuyển hóa một (hoặc rất ít) chất, ví dụ như CYP19 (enzym chuyển hóa các hợp chất thơm), trong khi một số khác có thể chuyển hóa rất nhiều chất. Cả hai loại này đều rất quan trọng trong y học. Enzym Cytochrome P450 có mặt trong hầu hết các mô của cơ thể, đóng vai trò quan trọng trong quá trình tổng hợp và thoái hóa các hormon (estrogen, testosterone), tổng hợp cholesterol, chuyển hóa vitamin D. Enzym còn có chức năng chuyển hóa các hợp chất độc hại, bao gồm thuốc và các sản phẩm chuyển hóa nội sinh như bilirubin, chủ yếu có mặt ở gan.

Dự án bộ gen người đã xác định được 57 gen mã hóa cho các enzym cytochrome P450 khác nhau, trong đó có *CYP1A1*.

Gen Cytochrome P450 1A1 (*CYP1A1*) mã hoá cho protein CYP1A1, là một enzym monooxygenase, thường biểu hiện ở các mô ngoài gan như biểu mô phổi, da và bộ máy tiêu hóa, ngoài ra còn được tìm thấy trong các giai

đoạn phát triển của thai. CYP1A1 được biết đến như một trong những enzym quan trọng nhất tham gia vào quá trình hoạt hóa tiền chất gây ung thư [60]. Gen CYP1A1 còn tham gia chuyển hóa thuốc và các hợp chất xenobiotic. Ở giai đoạn I của quá trình chuyển hóa xenobiotic, CYP1A1 tham gia hoạt hóa các hydrocarbon thơm đa vòng. Sự oxy hóa của benzo[a]pyrene được xúc tác bởi CYP1A1 sẽ tạo ra BP-7,8-epoxide, chất này có thể tiếp tục bị oxy hóa bởi enzym epoxide hydrolase (EH) để tạo thành BP-7,8-dihydrodiol. Cuối cùng CYP1A1 xúc tác chất trung gian này tạo thành BP-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide. Phần lớn chất này được đào thải qua mật và nước tiểu, tuy nhiên, một phần nhỏ có thể gắn vào phân tử DNA và gây nên ung thư (Hình 1.8) [61]. Do vậy, bất kì các dạng đa hình nào ảnh hưởng đến hoạt tính của enzym CYP1A1 đều có nguy cơ làm tăng khả năng ung thư.



Hình 1.8. Mối liên quan giữa chuyển hóa PAH và các chất hóa học gây UT

(Nguồn: <http://www.ejbiotechnology.info/>)

Mức độ biểu hiện của mRNA và protein CYP1A1 từ gen *CYP1A1* trong tế bào phổi của người hút thuốc lá cao hơn nhiều so với người không hút thuốc [62].

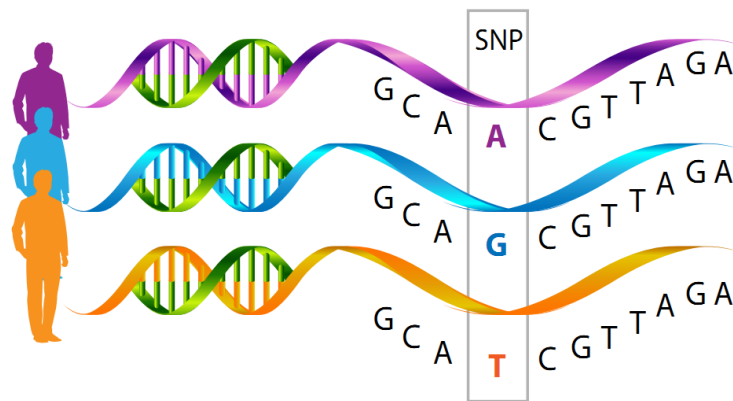
Ngoài ra, hiện nay người ta còn phát hiện ra mối liên quan giữa những biến đổi trên gen *CYP1A1* với khả năng mắc một số loại ung thư như: ung thư đại trực tràng, ung thư dạ dày, ung thư phổi, ung thư vú....[63].

Tính đa hình thái gen CYP1A1

Hiện tượng SNP

Hiện tượng SNP (Single Nucleotide Polymorphism) hay hiện tượng đa hình thái đơn nucleotid là sự khác nhau về trình tự DNA xảy ra khi một nucleotid đơn A, T, C hay G ở trong bộ gen (hay trong các trình tự được phân lập khác) bị thay đổi, khác nhau giữa các cá thể của một loài hay giữa các cặp nhiễm sắc thể (NST) của một người (Hình 1.9) [64]. Bộ gen người với 23 cặp NST (22 cặp NST thường và 1 cặp NST giới tính) chứa khoảng 3,2 tỉ bp. Giống nhau giữa các cá thể đến trên 99% và khoảng 1% sự khác biệt còn lại chủ yếu biểu hiện bởi các SNP.

SNP là một hiện tượng phổ biến, được coi là hậu quả của những đột biến điểm thay thế một cặp nucleotid. Theo ngân hàng dữ liệu của NCBI tính đến ngày 16/10/2014 bộ gen người có 112,736,879 SNP [64]. Tính trung bình, cứ khoảng 3000 bp thì lại xuất hiện một SNP. Những biến thể này được xem như là các đánh dấu sinh học, giúp xác định vị trí các gen liên quan đến bệnh. Khi các SNP xảy ra trong gen hoặc trong một khu vực gần một gen quy định, nó có thể có vai trò trực tiếp đến sự xuất hiện bệnh bằng cách ảnh hưởng đến chức năng của gen [65].



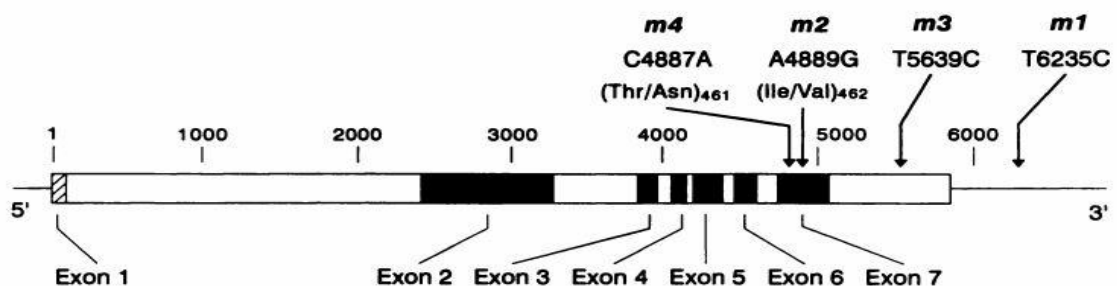
Hình 1.9. Hình ảnh minh họa hiện tượng đa hình thái đơn nucleotid SNP

(Nguồn: <http://biogeniq.ca>)

Sự khác biệt trong trình tự DNA ở người có liên quan đến những khác biệt trong sự phát triển bệnh, đáp ứng với các tác nhân gây bệnh, hóa chất, thuốc, vaccine và các tác nhân khác. Trong nghiên cứu y sinh học, các nhà nghiên cứu tiến hành so sánh trình tự gen của các nhóm người khác nhau (giữa nhóm người bị bệnh và không bị bệnh...) để từ đó xác định mối liên quan giữa các SNP với khả năng mắc bệnh, tìm ra các yếu tố nguy cơ cũng như phương pháp chữa trị [66].

Tính đa hình thái của gen CYP1A1

Hiện nay, các nhà nghiên cứu đã xác định được các đa hình thái đơn nucleotid trên gen *CYP1A1*. Một trong số này làm tăng cường hoạt động của protein được mã hóa và đang được nghiên cứu ảnh hưởng đến nguy cơ gây ung thư [66],[67].



Hình 1.10. Tính đa hình thái của gen CYP1A1 [68]

(Nguồn: www.genecards.org)

Đa hình m1: thay thế T thành C ở nucleotid 6235 ở đầu 3' vùng không mã hóa.

Đa hình m2: thay thế A thành G ở nucleotid 4889 dẫn tới sự thay đổi acid amin Isoleucine thành acid amin Valine ở codon 462.

Đa hình m3: thay thế T thành C ở nucleotid 5639 ở đầu 3' vùng không mã hóa.

Đa hình m4: thay thế C thành A ở nucleotid 4887 dẫn đến sự thay đổi acid amin Threonine thành acid amin Asparagine ở codon 461.

Người hút thuốc lá nhẹ có kiểu gen *CYP1A1* chứa một trong các SNP trên có nguy cơ phát triển bệnh ung thư phổi cao gấp 7 lần so với những người có kiểu gen bình thường [69].

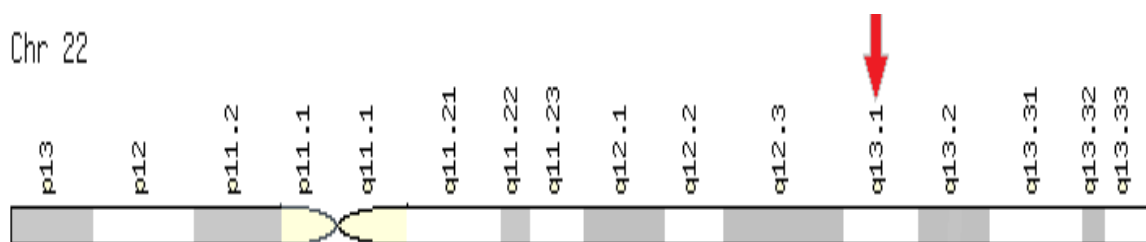
Hiện nay, đa hình này không chỉ được nghiên cứu trên ung thư phổi mà còn trên các bệnh khác như: Ung thư nội mạc tử cung và ung thư đại trực tràng ở phụ nữ tiền mãn kinh... [70],[71].

1.7.2. Tổng quan về *CYP2D6*

Vị trí, cấu trúc

Vị trí

Gen *CYP2D6* nằm trên nhánh dài của nhiễm sắc thể số 22, vị trí 13.1 (22q13.1).

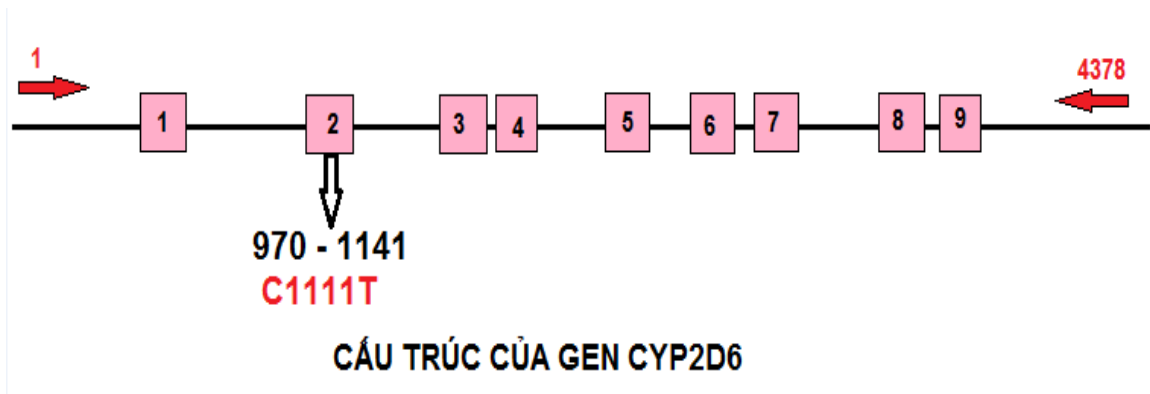


Hình 1.11. Vị trí của gen *CYP2D6* trên nhiễm sắc thể 22

(Nguồn: www.genecards.org)

Cấu trúc

Gen CYP2D6 có kích thước 4378bp. Cấu trúc gen gồm có 9 đoạn exon là vùng gen mã hoá chứa đựng thông tin di truyền và 10 đoạn intron là vùng không mã hoá xen kẽ giữa những exon. Exon 1 có chứa 1 đoạn không mã hóa (từ 1747 đến 1835) [72].



Hình 1.12. Cấu trúc của gen CYP2D6 [73]

Chức năng của enzym CYP2D6

Gen CYP2D6 mã hóa cho chuỗi polypeptide số 6, cytochrome P450 họ 2, họ phụ A. Tên của protein là CYP2D6.

Cytochrome P450 D6 là một protein gồm 497 acid amin, là enzym monooxygenases xúc tác cho nhiều phản ứng trong chuyển hoá thuốc và tổng hợp cholesterol, steroids và các lipid khác.

Protein này tập trung trong lưới nội chất và chuyển hoá tới 25% các thuốc thường được sử dụng trên lâm sàng: thuốc chống trầm cảm, thuốc chống loạn thần, thuốc giảm đau và antitussives, thuốc chẹn beta giao cảm, antiarrhythmics và thuốc chống nôn [74]. Những loại thuốc này thường là các hợp chất có khả năng tan trong dầu cần phải được oxy hoá bởi enzym CYP2D6 trước khi được thải ra trong nước tiểu.

CYP2D6 là một enzym chuyển hóa thuốc có tính đa hình rất lớn. Khả năng hoạt động của enzym do các alen quyết định, cụ thể được chia thành các kiểu hình: chuyển hóa chậm (PM: poor metabolizers), chuyển hóa trung gian (IM: intermediate metabolizers), chuyển hóa nhanh (EM: extensive metabolizers), chuyển hóa cực nhanh (UM: ultrarapid metabolizers) [75]. Cá thể với nhiều bản sao của gen sẽ có kiểu hình chuyển hoá nhanh hơn nên liều lượng thuốc và nồng độ thuốc sẽ phải giảm so với thông thường. Cá thể thiếu chức năng CYP2D6 sẽ chuyển hoá thuốc chậm hơn, đồng thời có nguy cơ cao bị ảnh hưởng bởi tác dụng phụ của thuốc.

Tính đa hình của gen CYP2D6 và liên quan đến bệnh ung thư phổi

Vì gen CYP2D6 nằm trên locus có hai giả gen liền kề đó là CYP2D7 và CYP2D8 [76]. Quá trình tiến hoá đã làm bất hoạt 2 gen CYP2D7p và CYP2D8p và làm bất hoạt một phần của gen CYP2D6. Các giả gen nằm liền kề có thể dễ dàng mang những đột biến mới trên CYP2D6 (ví dụ trong quá trình giảm phân có sự trao đổi chéo không cân) dẫn đến sự hình thành của rất nhiều allele biến thể CYP2D6, với hơn 70 biến thể alen được mô tả cho đến nay [77].



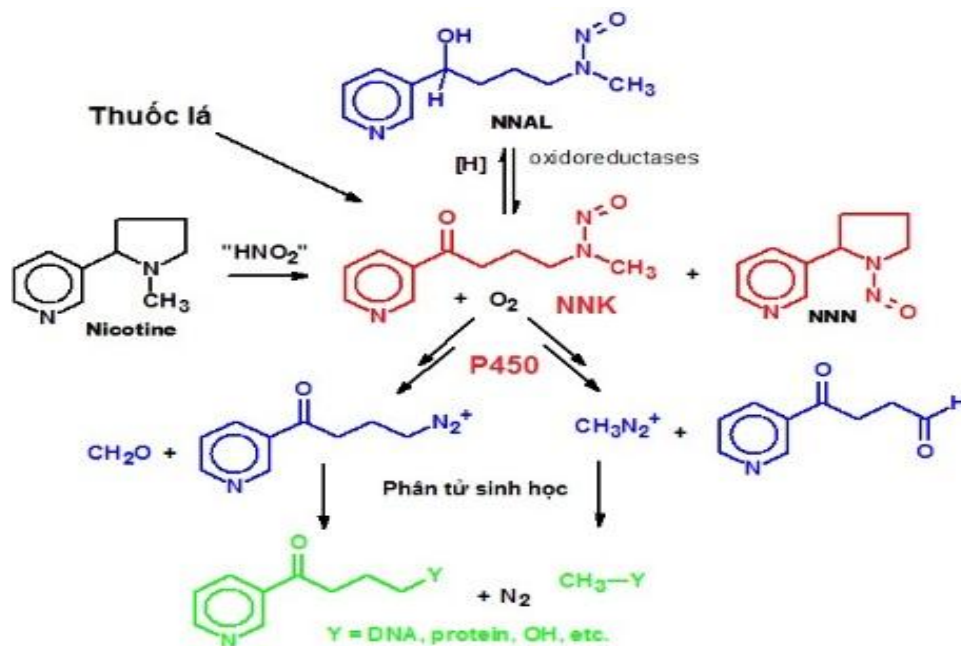
Hình 1.13. Vị trí của CYP2D6 và các gen liền kề [78]

Bảng 1.3: Một số allele của gen CYP2D6 có tần suất cao có thể gây UTP

Allele	Nucleotid thay đổi	Vị trí nucleotid thay đổi	Acid amin thay đổi	Vị trí acid amin	Kiểu hình
CYP2D6*1A	không có	không	không có	không	Bình thường
CYP2D6*3	DelA	2367	dịch khung	259	Không hoạt động
CYP2D6*4	G → A	1934	mất vùng liên kết		Không hoạt động.
CYP2D6*5	Mất gen				Không hoạt động
CYP2D6*6A	DelT	1795	dịch khung	118	Không hoạt động
CYP2D6*9	Del AAG	2703-2705	Del Lys	281	Giảm hoạt động
CYP2D6*10A	G → C	4268	S → T	486	Giảm hoạt động
CYP2D6*17	C → T	1111	T → I	107	Giảm hoạt động

Sự biến đổi nucleotid C thành T tại vị trí 1111 trên DNA trong exon 2, đã làm biến đổi acid amin Threonin tương ứng với alen CYP2D6*1A với kiểu hình chuyển hoá bình thường thành acid amin Isoleucin tương ứng với alen CYP2D6*17 với kiểu hình chuyển hoá chậm (PM).

Hợp chất tiền ung thư có mặt trong thuốc lá là nitrosoamine 4-(methylnitrosoamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) được tìm thấy là chất được chuyển hóa bởi enzym CYP2D6.



Hình 1.14. Enzym CYP2D6 chuyển hoá NNK

(Nguồn: www.mdpi.com)

Tomohiro và các cộng sự (2012) ở Nhật Bản đã tiến hành nghiên cứu khảo sát ảnh hưởng của enzym CYP2D6 đến sự chuyển hóa thuốc Gefitinib và Erlotinib là 2 thuốc được sử dụng điều trị ung thư phổi trên lâm sàng. Nghiên cứu trên 256 bệnh nhân NSCLC được điều trị bằng Gefitinib và 94 bệnh nhân NSCLC được điều trị bằng Erlotinib. Kết quả nghiên cứu cho thấy, những bệnh nhân được điều trị bằng Gefitinib mà có hoạt động của enzym CYP2D6 giảm thì có tần số bị phát ban cao hơn nhiều so với bệnh nhân có hoạt động của enzym CYP2D6 bình thường. Như vậy, kiểu hình của CYP2D6 là một yếu tố nguy cơ gây phát ban trên những bệnh nhân ung thư phổi bằng Gefitinib [79].

Nguy cơ này tăng cao hơn rất nhiều nếu các đối tượng đồng thời mang kiểu gen CYP2D6* (HEM). Kiểu gen này cũng gây ra mối nguy cơ đối với ung thư phổi cao gấp 7 lần trên các đối tượng hút thuốc lá lâu năm so với những người không hút thuốc [39],[40]. Bên cạnh đó nhiều nghiên cứu cũng đã được thực hiện để đánh giá mối tương quan giữa các kiểu gen khác nhau của CYP2D6 với sự hình thành ung thư phổi trên các đối tượng hút thuốc lá lâu năm [41],[42].

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Bệnh nhân ung thư phổi

Đối tượng nghiên cứu của chúng tôi bao gồm 220 bệnh nhân ung thư phổi được khám và điều trị tại Trung tâm Hô hấp, Trung tâm Y học hạt nhân và ung bướu Bệnh viện Bạch Mai, thời gian từ tháng 11/2013 đến tháng 11/2015.

Tất cả các bệnh nhân được thăm khám lâm sàng, phỏng vấn hút thuốc lá, thuốc lào, làm các xét nghiệm cận lâm sàng và giải phẫu bệnh để chẩn đoán xác định bệnh theo trình tự thời gian không phân biệt tuổi, giới (Bệnh án nghiên cứu có trong phần phụ lục). Việc lựa chọn bệnh nhân theo trình tự này giúp phân tích kết quả một cách khách quan và tránh được tối đa các sai số ngẫu nhiên.

Tiêu chuẩn chẩn đoán ung thư phổi

Chẩn đoán xác định ung thư phổi dựa trên [5]:

- Triệu chứng lâm sàng: Ho, khạc đờm, ho máu, khó thở...
- Thăm dò chẩn đoán hình ảnh như X quang, chụp cắt lớp vi tính và nội soi phế quản.
- Kết quả mô bệnh học, tế bào học từ các bệnh phẩm lấy qua soi phế quản, sinh thiết, chọc hút qua thành ngực... Đây là tiêu chuẩn vàng để chẩn đoán xác định ung thư phổi.

2.1.2. Nhóm đối chứng

Gồm 200 người, tương ứng về tuổi và giới với nhóm bệnh từ những người đến khám sức khỏe định kỳ trong chương trình quản lý tăng huyết áp và đái tháo đường tại khoa Khám bệnh Bệnh viện Bạch Mai trong thời gian từ tháng 3/2014 đến tháng 11/2015.

Tiêu chuẩn loại trừ; không mắc bất kỳ loại ung thư nào khác do nhóm đối chứng này hàng tháng được xét nghiệm, chụp X quang tim phổi và siêu âm định kỳ theo chương trình quản lý tăng huyết áp và đái tháo đường.

Bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng đều được lấy 2ml máu vào ống chống đông EDTA.

Nghiên cứu được tiến hành tại Bệnh viện Bạch Mai, Bộ môn Hóa sinh và Trung tâm nghiên cứu Gen-Protein, Trường Đại học Y Hà Nội.

2.1.3. Chọn cỡ mẫu nghiên cứu

Chúng tôi áp dụng công thức:

$$\bar{X} = Z_{(1-\alpha)} \text{£} / \sqrt{n}$$

$$\Rightarrow n = (Z_{(1-\alpha)} \text{£} / \bar{X})^2$$

Với $\bar{X}$ là giá trị TB

$Z_{(1-\alpha)}$ độ tin cậy 95%

£ là độ lệch chuẩn

Dựa vào một nghiên cứu trước đây của tác giả Sugimura Haruhiko của Nhật Bản, với độ tuổi trung bình của nghiên cứu: $\bar{X} = 62,1 \pm 11,2$. Từ đó chúng tôi tính ra $n = 220$ [45].

2.2. Phương pháp nghiên cứu.

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện theo phương pháp mô tả cắt ngang có đối chứng.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thăm khám lâm sàng, các chẩn đoán cận lâm sàng rồi đến chẩn đoán xác định ung thư phổi.

- Các kỹ thuật sinh học phân tử gồm; tách chiết DNA, PCR, phương pháp enzym giới hạn xác định đột biến (PCR-RFLP), kiểm tra lại bằng giải trình tự gen.
- Các kết quả nghiên cứu được xử lý toán thống kê nhằm tìm hiểu sự khác biệt giữa các nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng.

2.2.3. Quy trình lấy mẫu

Bệnh nhân bị ung thư phổi, nhóm đối chứng đều được lấy 2ml máu tĩnh mạch chống đông bằng EDTA với hàm lượng 1,5mg/ml.

2.3. Quy trình tách chiết, kiểm tra nồng độ và độ tinh sạch DNA từ máu ngoại vi

Quy trình tách chiết DNA từ máu ngoại vi được thực hiện theo phương pháp phenol/chloroform gồm các bước sau:

Bước 1: Phá vỡ màng hồng cầu.

Bước 2: Phá vỡ màng bạch cầu.

Bước 3: Loại bỏ tạp chất khác và tủa DNA.

Quy trình kiểm tra nồng độ và độ tinh sạch DNA được thực hiện bằng 2 kỹ thuật:

Điện di DNA tổng số

Đo mật độ quang trên máy Nanodrop 1000

Phương pháp thứ hai để kiểm tra độ tinh sạch của DNA tách chiết dựa trên khả năng hấp thụ quang ở bước sóng 260 và 280nm.

Nguyên lý đo quang:

Dựa vào sự hấp thụ mạnh ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 260nm của các base purin và pyrimidin, hai đơn phân cấu tạo nên DNA mà giá trị mật độ quang ở bước sóng 260nm (OD_{260nm}) của các mẫu cho phép xác định nồng độ acid nucleic trong mẫu.

2.4. Kỹ thuật PCR khuếch đại DNA

Kỹ thuật PCR khuếch đại DNA vùng gen CYP1A1, CYP2D6 bằng phản ứng là đơn môi.

❖ Khuếch đại đoạn gen chứa các SNPs cần nghiên cứu

Đoạn gen chứa các SNPs trên các gen quan tâm được khuếch đại bằng phản ứng PCR với cặp môi đặc hiệu (Bảng 2.1).

Bảng 2.1: Danh sách môi được sử dụng trong nghiên cứu

STT	Đa hình thái	Trình tự môi (5'-3')	Sản phẩm PCR (bp)
1	T6235C gen CYP1A1 (m1)	F: TAG GAGTCTTGTCTCATGCCT R: CAGTGAAGAGGTGTAGCCGCT	340
2	A4889G gen CYP1A1 (m2)	F: CTGTCTCCCTCTGGTTACAGGAAGC R: TTCCACCCGTTGCAGCAGGATAGCC	204
3	T5639C gen CYP1A1 (m3)	F: TGAGCAATCTGACCCTA R: ATCTTCCTAACAACACATGTTTGT	301
4	C4887A gen CYP1A1 (m4)	F: CTGTCTCCCTCTGGTTACAGGAAGC R: TTCCACCCGTTGCAGCAGGATAGCC	204
5	C188T gen CYP2D6	F: CTGGGTAAGGGCCTGGAG R: ACCTGGTCGAAGCATATGG	442
6	G1934A gen CYP2D6	F: ATGAGAGCTGCCAACCTT R: ATGTGAACCAGCTCCCTGTC	334
7	G1846T/A gen CYP2D6	F: GTGGATGGTGGGGCTAATGCCTT R: CAGAGACTCCTCGGTCTCTCGCT	486
8	G4268C gen CYP2D6	F: AGCTCTTCCTCTTCTTCACCTCCCTG R: GCCTCAACGTACCCCTGTCTC	332

Thành phần phản ứng PCR

Thành phần	Thể tích (μl)
Nước cất 2 lần	4,8
Buffer	1,0
dNTP (2,5 mM)	1,0
Môi F (10 pM)	1,0
Môi R (10 pM)	1,0
Taq polymerase (5 u/μl)	0,2
DNA (Nhóm nghiên cứu)	1,0
Tổng	10,0

Chu trình nhiệt của phản ứng PCR

Chu trình	Biến tính	Bắt cặp	Tổng hợp
1	95°C - 10 phút		
2 - 34	95°C - 50 giây	58°C - 50 giây	68°C - 3 phút
35			68°C - 10 phút
Bảo quản ở 10°C			

Sản phẩm PCR sau đó được điện di trên agarose 1,5% để kiểm tra chất lượng.

2.5. Kỹ thuật PCR-RFLP xác định tính đa hình của gen CYP1A1 và gen CYP2D6.

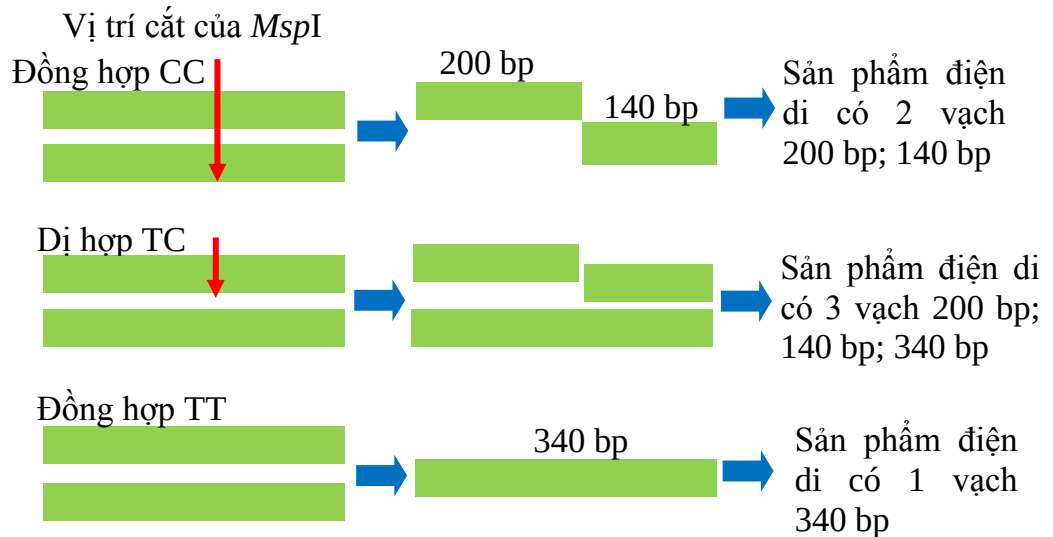
Trong nghiên cứu của chúng tôi có hai gen CYP1A1 và gen CYP2D6, mỗi gen chúng tôi phân tích bốn đa hình. Khi sử dụng kỹ thuật PCR-RFLP để xác định kiểu gen của mỗi đa hình, chúng tôi sử dụng bảng enzym giới hạn ở: Bảng 2.2 dưới đây.

Bảng 2.2: Kết quả tính toán lý thuyết sản phẩm điện di xác định các SNPs của gen CYP1A1, CYP2D6 bằng kỹ thuật PCR-RFLP

SNP	PCR (bp)	Enzym cắt	Kiểu gen	Sản phẩm điện di
T6235C gen CYP1A1 (m1)	340	<i>MspI</i>	TT	Gồm 1 vạch: 340 bp
			TC	Gồm 3 vạch: 340 bp; 200bp; 140bp
			CC	Gồm 2 vạch: 200 bp và 140 bp
A4889G gen CYP1A1 (m2)	204	<i>MspI</i>	AA	Gồm 2 vạch: 149 bp; 55 bp
			AG	Gồm 3 vạch: 204 bp; 149 bp; 55 bp
			GG	Gồm 1 vạch: 204 bp
T5639C gen CYP1A1 (m3)	301	<i>HincII</i>	TT	Gồm 1 vạch 301 bp
			TC	Gồm 3 vạch: 301 bp; 204 bp; 97 bp
			CC	Gồm 2 vạch 204 bp; 97 bp
C4887A gen CYP1A1 (m4)	204	<i>HincII</i>	CC	Gồm 1 vạch: 204 bp
			CA	Gồm 3 vạch: 204 bp; 136 bp; 69 bp
			AA	Gồm 2 vạch: 136 bp; 69 bp
C188T gen CYP2D6	442	<i>HphI</i>	CC	Gồm 1 vạch: 442 bp
			CT	Gồm 3 vạch: 442 bp; 352bp; 90bp
			TT	Gồm 2 vạch: 352 bp; 90 bp
G1934A gen CYP2D6	334	<i>BstNI</i>	GG	Gồm 1 vạch: 334 bp
			GA	Gồm 3 vạch: 334 bp; 200bp; 134bp
			AA	Gồm 2 vạch: 200 bp; 134 bp
G1846T gen CYP2D6	486	<i>MspI</i>	GG	Gồm 1 vạch: 486 bp
			GT	Gồm 3 vạch: 486 bp; 207bp; 279bp
			TT	Gồm 2 vạch: 207 bp; 279 bp
G4268C gen CYP2D6	332	<i>Eco91I</i>	GG	Gồm 1 vạch: 332 bp
			GC	Gồm 3 vạch: 332 bp; 229bp; 103bp
			CC	Gồm 2 vạch: 229 bp; 103 bp

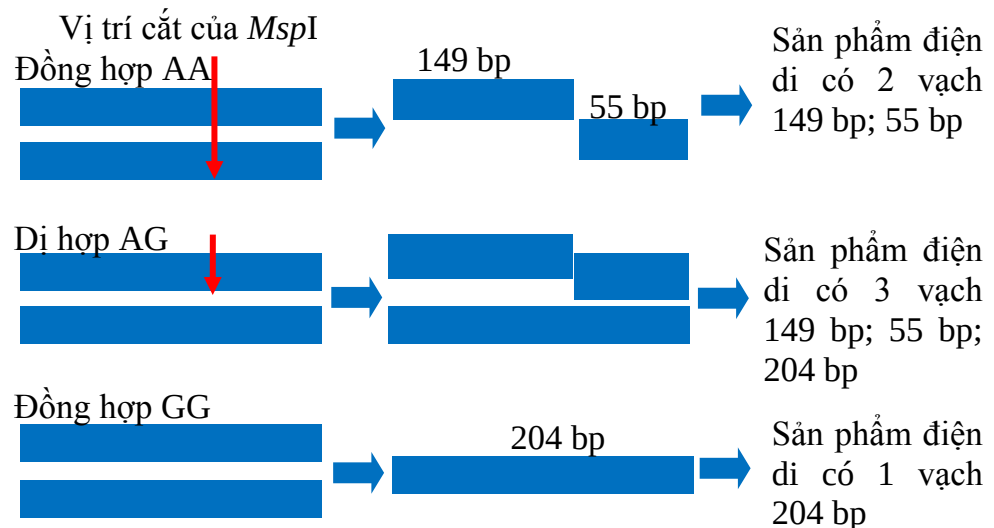
Kết quả phân tích lý thuyết các SNPs gen CYP1A1 được chúng tôi mô tả như sau:

❖ **SNP T6235C gen CYP1A1 (m1)**

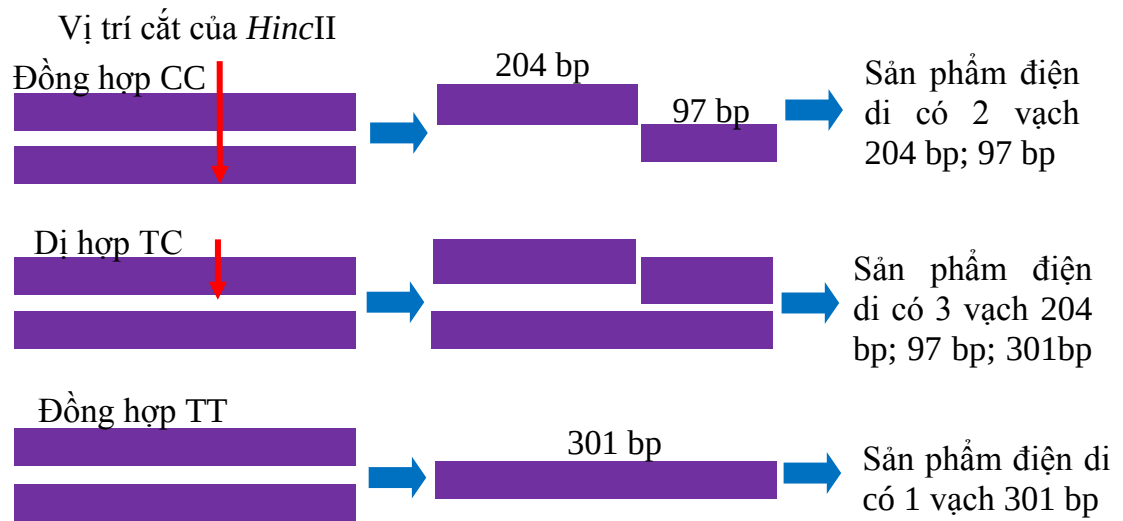


Hình 2.1. Mô tả hình ảnh điện di xác định vị trí SNP T6235C của gen CYP1A1

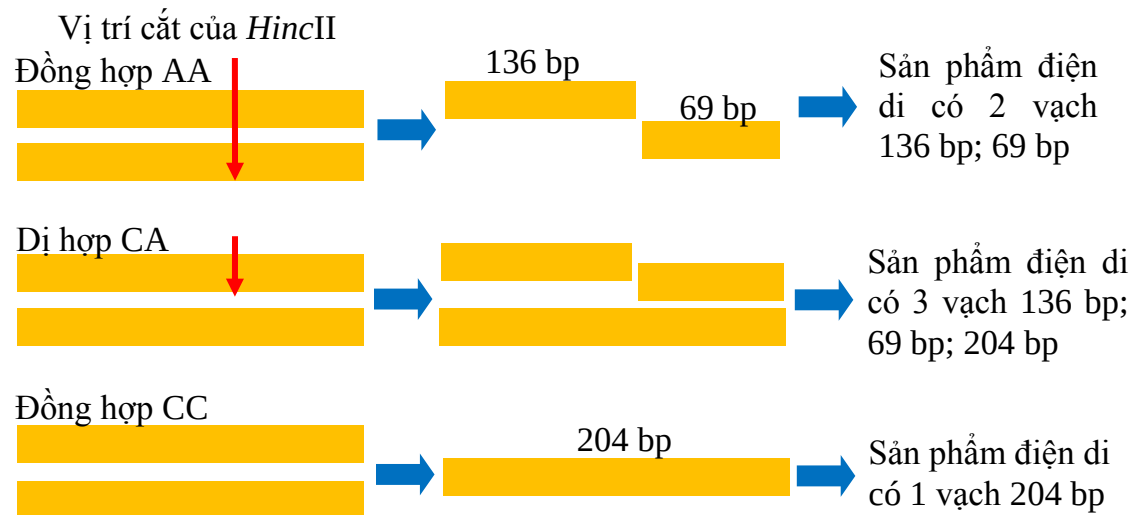
❖ **SNP A4889G gen CYP1A1 (m2)**



Hình 2.2. Mô tả hình ảnh điện di xác định vị trí SNP A4889G của gen CYP1A1

❖ **SNP T5639C gen CYP1A1 (m3)**

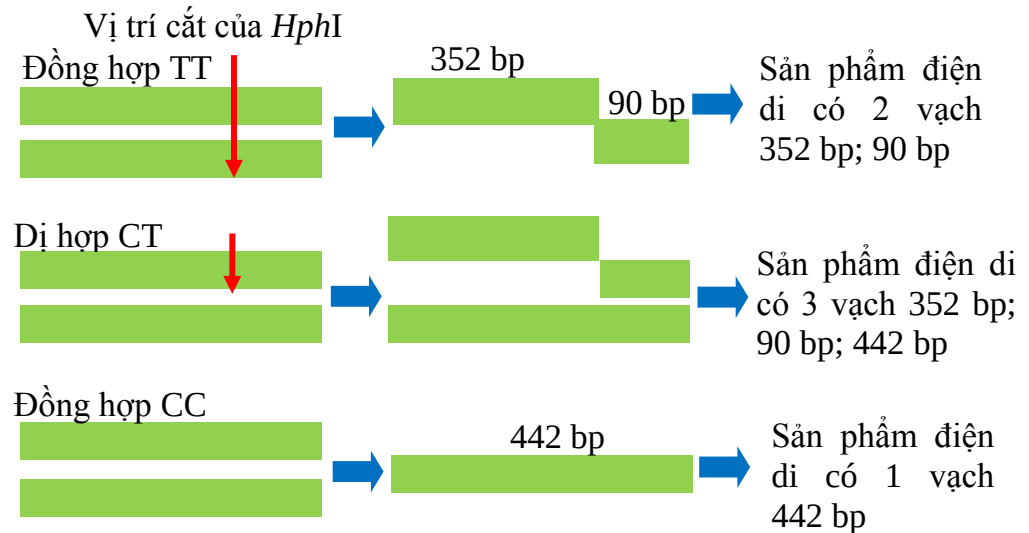
Hình 2.3. Mô tả hình ảnh điện di xác định vị trí SNP T5639C của gen CYP1A1

❖ **SNP C4887A gen CYP1A1 (m4)**

Hình 2.4. Mô tả hình ảnh điện di xác định vị trí SNP C4887A của gen CYP1A1

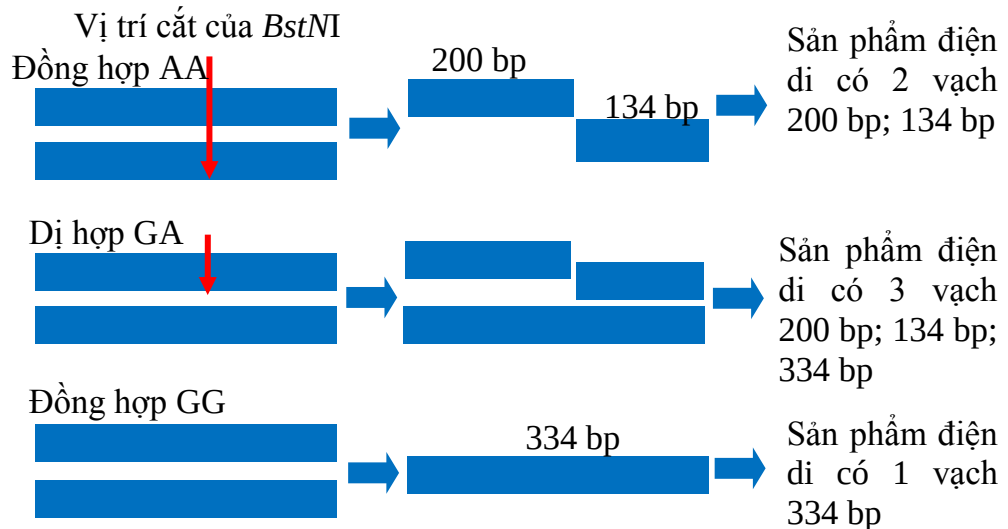
Kết quả phân tích lý thuyết các SNPs gen CYP2D6 được chúng tôi mô tả như sau:

❖ **SNP C188T gen CYP2D6**

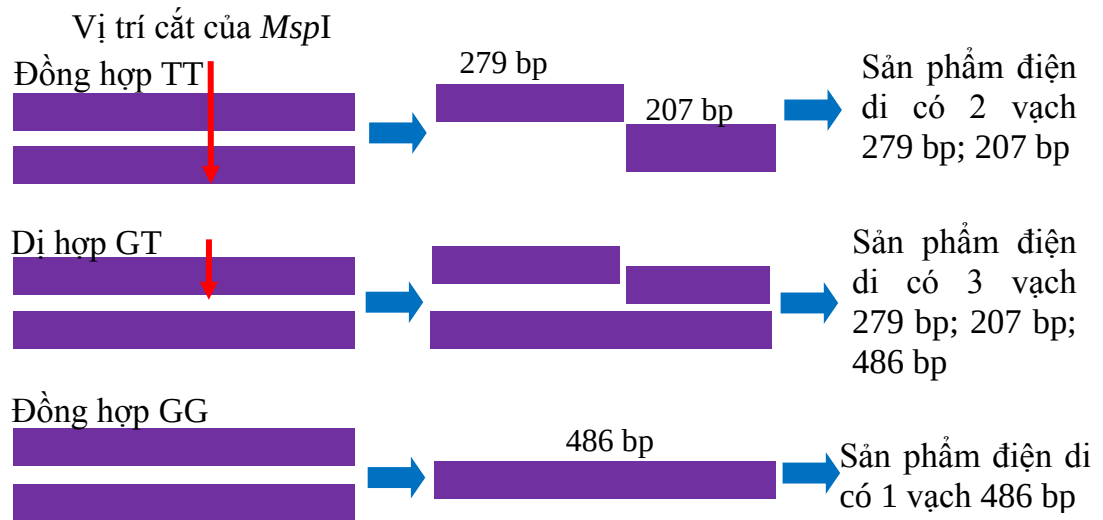


Hình 2.5. Mô tả hình ảnh điện di xác định vị trí SNP C188T của gen CYP2D6

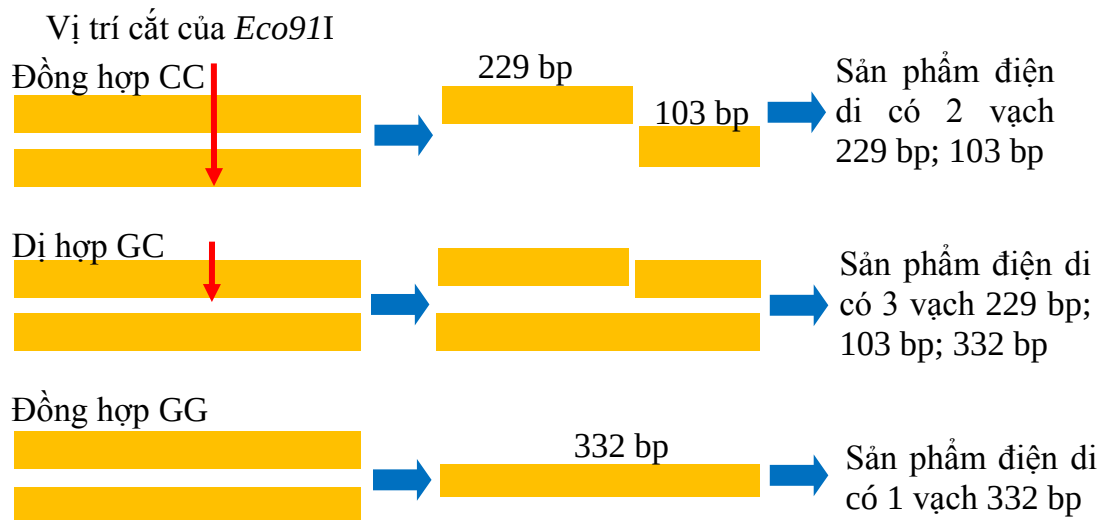
❖ **SNP G1934A gen CYP2D6**



Hình 2.6. Mô tả hình ảnh điện di xác định vị trí SNP G1934A của gen CYP2D6

❖ **SNP G1846T gen CYP2D6**

Hình 2.7. Mô tả hình ảnh điện di xác định vị trí SNP T5639C của gen CYP1A1

❖ **SNP G4268C gen CYP2D6**

Hình 2.8. Mô tả hình ảnh điện di xác định vị trí SNP G4268C của gen CYP2D6

2.6. Xác định các SNPs bằng phương pháp giải trình tự trực tiếp

Sản phẩm PCR được tinh sạch

Tiến hành phản ứng giải trình tự

Thành phần phản ứng PCR để giải trình tự gen

Thành phần	Thể tích (μl)
DNA đích đã được tinh sạch	2
BigDye Terminator v3.0	2
Môi xuôi (hoặc môi ngược) 1 μM	3,2
BigDye seq. buffer 5X	4
Nước cất	8,8

Chu trình nhiệt phản ứng PCR để giải trình tự

Chu trình	Biến tính	Bắt cặp	Tổng hợp
1	96°C - 1phút		
2 - 26	96°C - 10giây	50°C – 5giây	60°C - 4phút
Bảo quản ở 10°C			

Sản phẩm PCR cho giải trình tự sẽ được tinh sạch, làm khô bằng cồn và hòa lại trong 20μl Hi-di formamide. Sản phẩm cuối cùng này sẽ được giải trình tự trên hệ thống ABI 3100 GA-Avant (Toàn bộ hóa chất và quy trình được cung cấp bởi nhà sản xuất ABI).

Trình tự gen được đối chiếu và so sánh với trình tự trên GenBank (National center for biotechnology information, NCBI) và phân tích theo phương pháp ABI Prism 310 genetic analyzer (Applied Biosystems).

2.7. Đạo đức trong nghiên cứu

Trước khi tiến hành thu thập thông tin, mẫu bệnh phẩm phải có sự đồng ý của đối tượng nghiên cứu: tự nguyện tham gia vào nghiên cứu.

Nghiên cứu đảm bảo tuân thủ các quy định về đạo đức trong nghiên cứu Y- sinh học.

Nghiên cứu này nằm trong khuôn khổ đề tài Nhiệm vụ Quỹ gen cấp nhà nước và đã được thông qua bởi Hội đồng đạo đức của Trường Đại học Y Hà Nội.

2.8. Xử lý số liệu và sơ đồ nghiên cứu.

Xử lý số liệu theo phần mềm chương trình SPSS 20.0, STATA.

Sử dụng test t:

Để so sánh độ tuổi hai nhóm nghiên cứu

Sử dụng test X^2 :

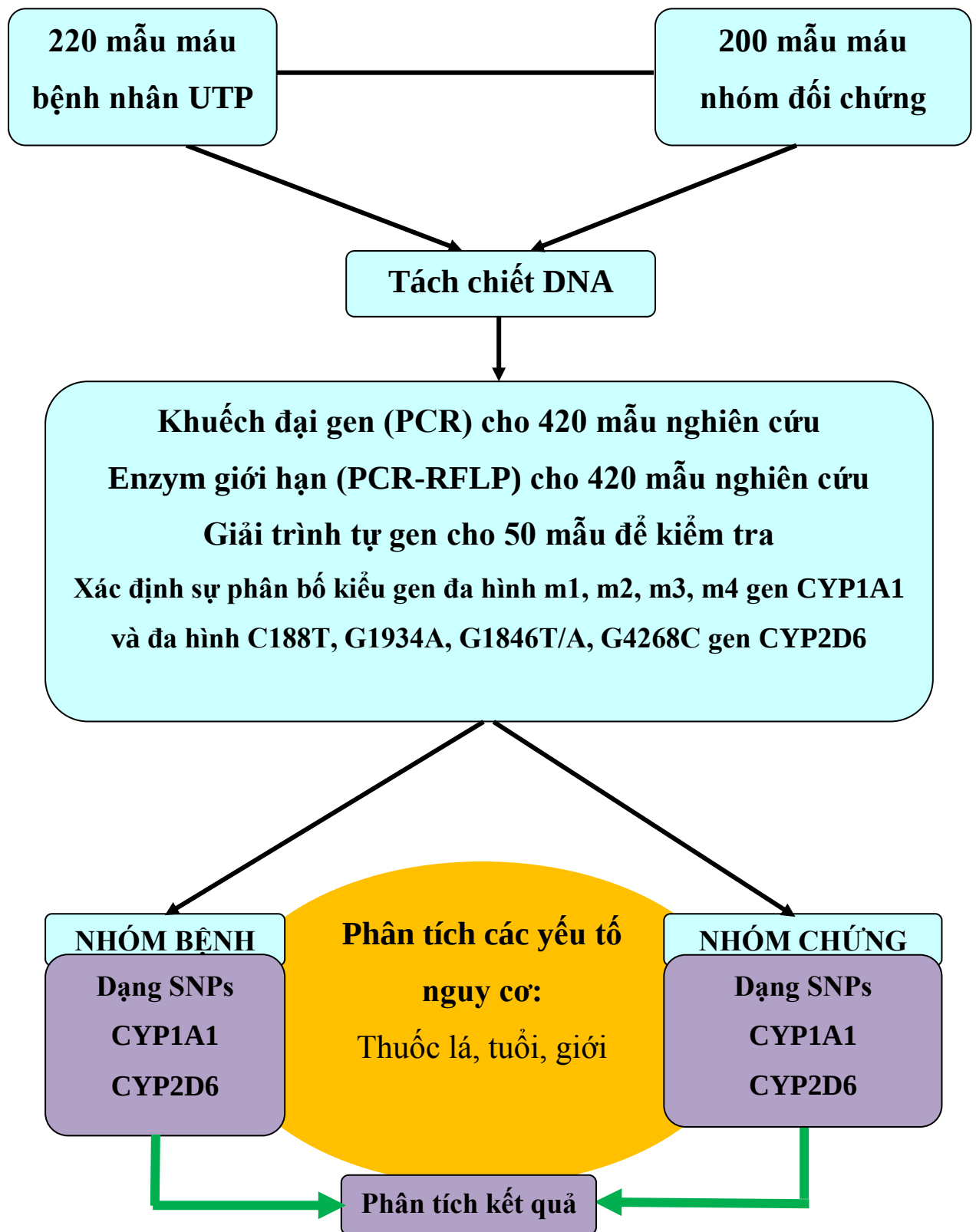
Để so sánh xem có sự khác biệt về phân bố kiểu gen của các đa hình gen CYP1A1, gen CYP2D6 ở hai nhóm nghiên cứu.

Tính tỷ suất chênh OR:

Với kết quả OR phải $> 1,0$ ($95\% \text{ CI} > 1,0$) $p < 0,05$.

Để đánh giá vai trò các kiểu gen của các đa hình gen CYP1A1, gen CYP2D6 đến nguy cơ gây ung thư phổi cũng như để đánh giá vai trò tác động của yếu tố nguy cơ lên ung thư phổi.

Nghiên cứu của chúng tôi được thực hiện theo sơ đồ dưới đây.



Hình 2.9. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ

3.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

3.1.1. Đặc điểm về giới nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng.

Bảng 3.1: Phân bố giới ở hai nhóm ung thư phổi và nhóm đối chứng

	Nhóm ung thư phổi	Nhóm đối chứng
Nữ	57 (25,9%)	75 (37,5%)
Nam	163 (74,1%)	125 (62,5%)
Tổng	220 (100%)	200 (100%)

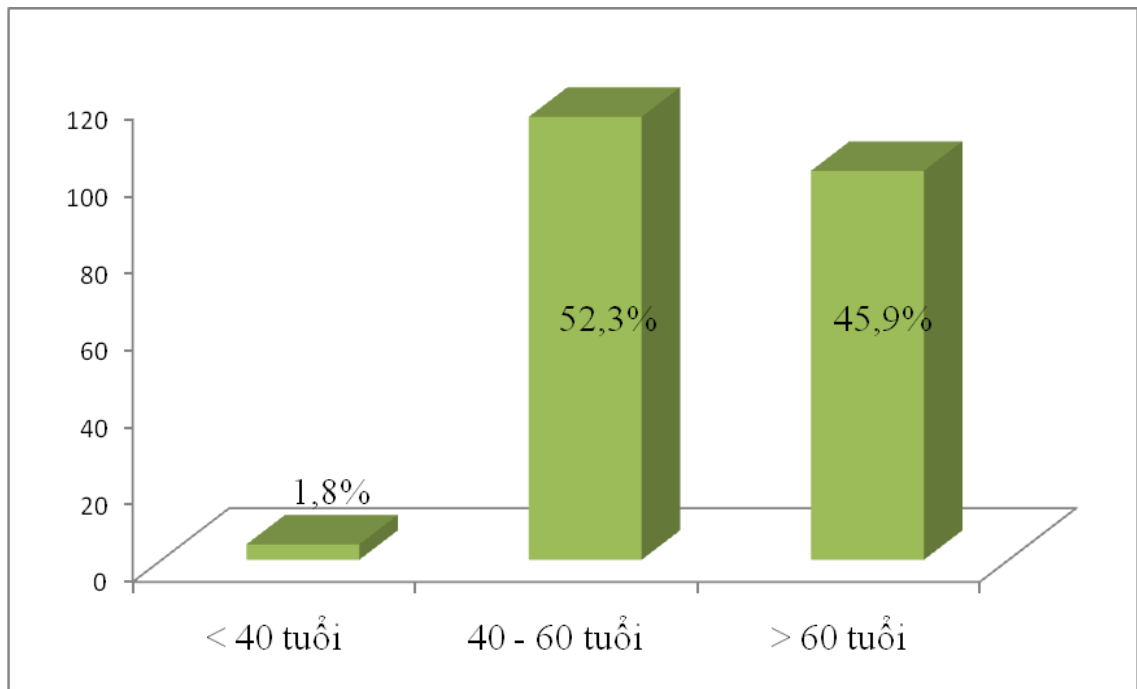
Nhận xét: Nhóm bệnh nhân ung thư phổi có tỷ lệ nam/nữ là 2,8/1, nam giới nhiều gần gấp ba lần so với nhóm bệnh nhân là nữ giới. Điều này cũng phù hợp với nhiều nghiên cứu khác về ung thư phổi ở trong nước và thế giới. Tuy nhiên, những năm gần đây các nghiên cứu về ung thư phổi trong nước cũng như trên thế giới đều cho thấy tỷ lệ giữa nam và nữ bị ung thư phổi đang xích lại gần nhau hơn.

3.1.2. Đặc điểm về tuổi nhóm bệnh nhân ung thư phổi

Bảng 3.2: Tuổi trung bình của nhóm bệnh nhân ung thư phổi và đối chứng

	Nhóm ung thư phổi	Nhóm đối chứng
Trung bình (năm) $\bar{X}$	60,0	66,0
Độ lệch (SD)	9,1	9,4

Nhận xét: độ tuổi trung bình của nhóm bệnh nhân ung thư phổi là $60,0 \pm 9,1$ cũng phản ánh độ tuổi có khả năng mắc ung thư phổi cao nhất. Đây là tuổi trung bình mắc ung thư phổi được rất nhiều các nghiên cứu trong và ngoài nước đã tổng kết.



Biểu đồ 3.1: Phân bố theo nhóm tuổi ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi.

Nhận xét: Chúng tôi chia nhóm bệnh nhân ung thư phổi theo 3 nhóm tuổi; < 40 tuổi, 40 đến 60 tuổi và > 60 tuổi. Bệnh nhân ung thư phổi thuộc nhóm tuổi từ 40 đến 60 chiếm tỷ lệ cao nhất là 115 (52,3%), đây cũng là nhóm tuổi hay bị ung thư phổi nhất theo kết quả của các nghiên cứu khác ở trong và ngoài nước, tiếp theo là nhóm tuổi > 60 tuổi chiếm 101(45,9%) và cuối cùng là nhóm < 40 tuổi chiếm 4 (1,8%). Kết quả này cho thấy những người < 40 tuổi thì ít bị nguy cơ ung thư phổi hơn so với các nhóm tuổi khác. Tuy nhiên, ngày nay bên cạnh yếu tố nguy cơ hút thuốc lá đã được biết từ lâu còn xuất hiện rất nhiều các nguyên nhân khác gây ung thư phổi như; ô nhiễm môi trường, hóa chất độc hại, chất thải công nghiệp chưa qua xử lý... làm cho ung thư phổi có thể gặp ở bất kỳ lứa tuổi nào và ngày càng có xu hướng trẻ hóa.

3.1.3. Một số đặc điểm chung của nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng.

Bảng 3.3: Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Các đặc điểm	Ung thư phổi n (%)	Nhóm chứng n (%)	P
Giới			
Nam	163 (74,1%)	125 (62,5%)	> 0,05
Nữ	57 (25,9%)	75 (37,5%)	
Tuổi			
Trung bình (M)	60,0	66,0	> 0,05
Độ lệch (SD)	9,1	9,4	
Hút thuốc lá			
Không	73 (33%)	128 (64%)	
Có	147 (67%)	72 (36%)	
< 20 bao/năm	48 (32,7%)	50 (69,4%)	
≥ 20 bao/năm	99 (67,3%)	22 (30,6%)	
Giải phẫu bệnh			
K biểu mô tuyến	127 (57,7%)		
K tế bào vảy	81 (36,8%)		
K tế bào nhỏ	12 (5,5%)		

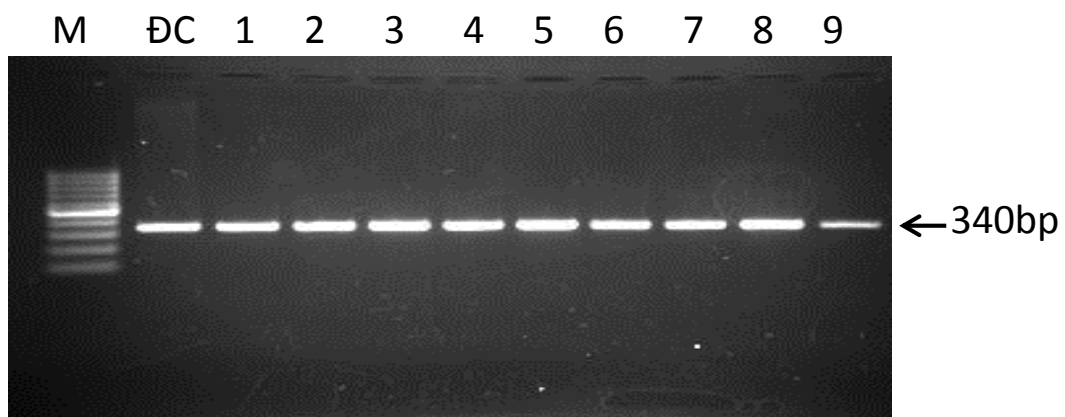
Nhận xét: Bảng 3.3 cho thấy tỷ lệ nam cao hơn nữ ở cả 2 nhóm nghiên cứu và độ tuổi trung bình là 60 ở nhóm ung thư phổi và 66 ở nhóm đối chứng nhưng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi, tỷ lệ bệnh nhân có hút thuốc cao hơn gấp hai lần nhóm bệnh nhân không hút thuốc và hút ≥ 20 bao/năm cũng chiếm tỷ lệ cao hơn gấp hai lần so với số bệnh nhân hút thuốc < 20 bao/năm. Ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi được xác định giải phẫu bệnh thì ung thư biểu mô tuyến chiếm tỉ lệ cao nhất 127 (57,7%) rồi đến ung thư phổi tế bào vảy chiếm 81(36,8%) và cuối cùng ung thư phổi tế bào nhỏ chiếm 12 (5,5%).

3.2. Xác định sự phân bố kiểu gen các đa hình gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng

3.2.1. Xác định sự phân bố kiểu gen của đa hình T6235C trên gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng

Kết quả tách chiết DNA: DNA của tất cả các đa hình gen CYP1A1, CYP2D6 sau tách chiết được đo nồng độ và kiểm tra độ tinh sạch ở bước sóng A260/A280 trên máy Nanodrop 1000. Chúng tôi nhận thấy các mẫu DNA tách chiết có nồng độ > 100 ng/μl và độ tinh sạch từ 1,8 - 2,0. Mặt khác các mẫu DNA cũng được điện di kiểm tra chất lượng trên gel agarose 0,8%. Kết quả điện di cho thấy, DNA không bị đứt gãy, sản phẩm điện di chỉ có 1 băng rõ nét, không có băng phụ. Từ kết quả trên cho thấy rằng chất lượng DNA sau tách chiết đảm bảo chất lượng cho phản ứng PCR.

Kết quả khuếch đại vùng T6235C của gen CYP1A1

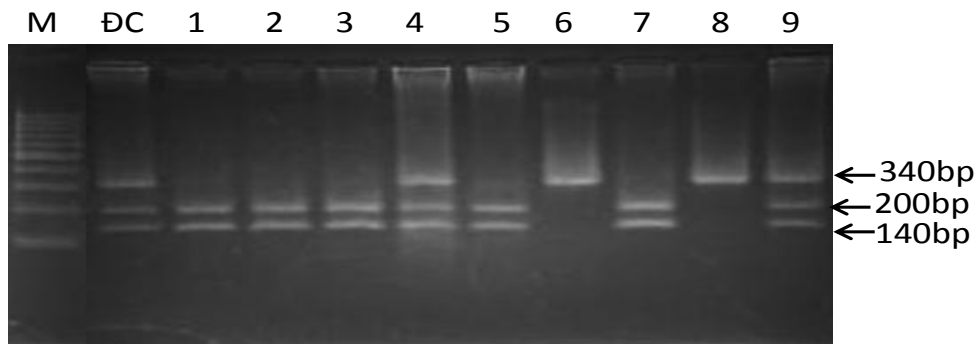


Hình 3.1. Sản phẩm khuếch đại đoạn vùng T6235C của gen CYP1A1.

1-5: Mẫu bệnh nhân ung thư phổi; 6-9: nhóm đối chứng; M: thang chuẩn 100 bp; ĐC: Mẫu đối chứng dương.

Nhận xét: Sản phẩm PCR thu được có chất lượng tốt, gồm một băng đặc hiệu có kích thước đúng như tính toán là 340 bp.

Kết quả xác định đa hình T6235C của gen CYP1A1 bằng PCR – RFLP



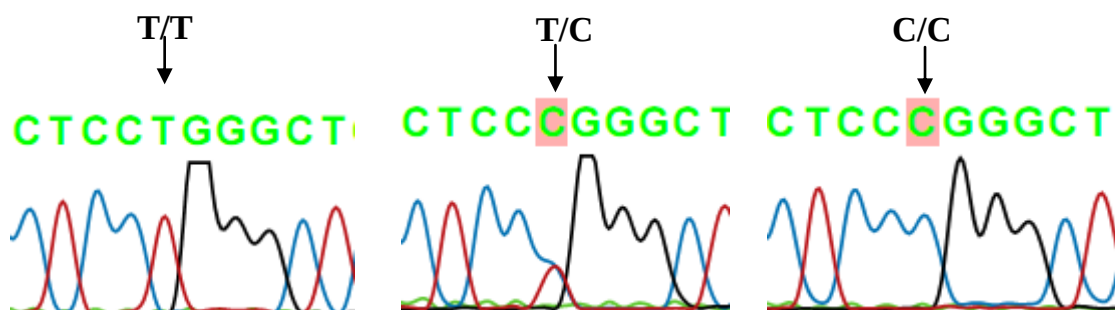
Hình 3.2. Sản phẩm sử dụng enzym cắt vùng T6235C của gen CYP1A1 bằng enzym *MspI*.

1-5 Mẫu bệnh nhân ung thư phổi; 6-9 nhóm đối chứng; M: thang chuẩn 100 bp; ĐC: Mẫu đối chứng dương.

Nhận xét: Sản phẩm cắt đoạn vùng T6235C trên gen CYP1A1 bằng enzym *MspI* trên các mẫu bệnh nhân ung thư phổi và nhóm chứng có kích thước khác nhau phù hợp với tính toán lý thuyết. Mẫu mang kiểu gen TT gồm một băng DNA có kích thước 340 bp (giếng 6, 8). Mẫu mang kiểu gen TC gồm 3 băng DNA có kích thước 340 bp, 200 bp, 140 bp (giếng 4, 9). Mẫu mang kiểu gen CC gồm 2 băng DNA có kích thước 200 bp và 140 bp (giếng 1, 2, 3, 5, 7).

Kết quả giải trình tự kiểm tra độ đặc hiệu của sản phẩm PCR

Kết quả sản phẩm enzym giới hạn được kiểm tra lại bằng kỹ thuật giải trình tự gen



Hình 3.3. Kết quả giải trình tự sản phẩm PCR mang đoạn gen T6235C của gen CYP1A1 tương ứng với kiểu gen T/T; T/C; C/C.

Nhận xét: Sau khi cắt đoạn vùng T6235C trên gen CYP1A1 bằng phương pháp enzym giới hạn, thì chúng tôi kiểm tra lại bằng kỹ thuật giải trình tự. Kết quả giải trình tự DNA của bệnh nhân cho thấy hoàn toàn phù hợp với kết quả sản phẩm sử dụng enzym giới hạn.

3.2.2. Phân bố kiểu gen của đa hình T6235C (m1) trên gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng.

Bảng 3.4: Kiểu gen T6235C trên gen CYP1A1 ở nhóm UTP và đối chứng

Kiểu gen Nhóm	CYP1A1 T6235C (m1)			n	p
	TT	TC	CC		
Đối chứng	70 (35%)	95 (47,5%)	35 (17,5%)	200 (100%)	-----
K phổi	50 (22,7%)	121 (55,0%)	49 (22,3%)	220 (100%)	< 0,02
K biểu mô tuyến	33 (26%)	69 (54,3%)	25 (19,7%)	127 (100%)	< 0,23
K tế bào vảy	15 (18,5%)	47 (58%)	19 (23,5%)	81 (100%)	< 0,02
K tế bào nhỏ	2 (16,8%)	5 (41,6%)	5 (41,6%)	12 (100%)	< 0,09

Nhận xét: Kết quả bảng 3.4 cho thấy sự phân bố kiểu gen TT, TC và CC ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi là khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng với $p < 0,02$. Trong ba nhóm theo phân loại giải phẫu bệnh: Ung thư phổi biểu mô tuyến, ung thư phổi tế bào vảy và ung thư phổi tế bào nhỏ thì chỉ có nhóm ung thư phổi tế bào vảy là có sự phân bố kiểu gen khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng với $p < 0,02$.

Bảng 3.5: Phân bố kiểu gen TT, TC – CC trên gen CYP1A1 với nguy cơ mắc UTP ở nhóm bệnh nhân UTP so với nhóm đối chứng

Kiểu gen Nhóm	CYP1A1 T6235C (m1)		n	OR CI	p
	TT	TC-CC			
Đối chứng	70	130	200	----	----
K phổi	50	170	220	1,83 (1,17 - 2,88)	< 0,005
K biểu mô tuyến	33	94	127	1,53 (0,91 - 2,60)	< 0,09
K tế bào vảy	15	66	81	2,37 (1,22 - 4,79)	< 0,006
K tế bào nhỏ	2	10	12	2,69 (0,55 - 25,8)	< 0,19

Nhận xét: Bảng 3.5 đưa ra kết quả phân bố riêng kiểu gen TC - CC ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi có tỷ suất chênh OR = 1,83 (95% CI = 1,17 - 2,88) $p < 0,005$ so với kiểu gen TT ở nhóm đối chứng và tỷ suất chênh này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,005$. Trong ba nhóm ung thư phổi: Ung thư phổi biểu mô tuyến, ung thư phổi tế bào vảy và ung thư phổi tế bào nhỏ của nhóm bệnh nhân ung thư phổi thì chỉ có nhóm ung thư phổi tế bào vảy là có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa kiểu gen TC - CC so với kiểu gen TC - CC của nhóm đối chứng với OR = 1,53 (95% CI = 1,22 - 4,79) $p < 0,006$.

Bảng 3.6: Phân bố kiểu gen TT, TC - CC trên gen CYP1A1 với nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm bệnh nhân UTP so với nhóm đối chứng

Tình trạng hút thuốc	Nhóm UTP		n	Nhóm đối chứng		n	OR CI
	TT	TC-CC		TT	TC-CC		
Không hút	18	55	73	45	83	128	1,66 (0,83 - 3,36)
Có hút	32	115	147	25	47	72	1,91 (0,97 - 3,72)
< 20 bao/năm	13	35	48	18	32	50	1,51 (0,59 - 3,93)
≥ 20 bao/năm	19	80	99	7	15	22	1,96 (0,59 - 6,01)
Tổng	50	170	220	70	130	200	1,83 (1,16 - 2,88)

Nhận xét: Bảng 3.6 đưa ra kết quả sự phân bố kiểu gen TT, TC - CC ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nguy cơ hút thuốc lá so với nhóm đối chứng thì thấy ở nhóm BN không hút thuốc không thấy sự khác biệt với OR = 1,66 (95% CI = 0,83-3,36). Ở nhóm hút thuốc cho kết quả tỷ suất chênh OR >1 và cao hơn nhóm không hút thuốc nhưng vẫn chưa thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với OR = 1,91 (95% CI = 0,97 – 3,72). Chúng tôi cũng chia nhóm hút thuốc thành 2 nhóm; hút thuốc < 20 bao/năm và ≥ 20 bao/năm đồng thời tiến hành so sánh sự phân bố kiểu gen với yếu tố nguy cơ này nhưng cũng chưa tìm thấy sự khác biệt tuy nhiên kết quả cũng cho thấy: Tỷ suất chênh của nhóm bệnh nhân hút thuốc ≥ 20 bao/năm là 1,96 cao hơn so với nhóm bệnh nhân hút thuốc < 20 bao/năm với kết quả OR chỉ là 1,51.

Bảng 3.7: Phân bố kiểu gen TT, TC - CC trên gen CYP1A1 với nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm BN UTP biểu mô tuyến so với nhóm đối chứng

Nhóm biểu mô tuyến	Nhóm UTP biểu mô tuyến		n	Nhóm đối chứng		n	OR CI
	TT	TC-CC		TT	TC-CC		
Không hút	14	36	50	45	83	128	1,39 (0,65 - 3,09)
Có hút	19	58	77	25	47	72	1,62 (0,75 - 3,52)
< 20 bao/năm	6	12	18	18	32	50	1,12 (0,32 - 4,30)
≥ 20 bao/năm	13	46	59	7	15	22	1,65 (0,46 - 5,48)

Nhận xét: Bảng 3.7 đưa ra kết quả phân bố kiểu gen nhóm không T6235T bao gồm hai kiểu gen TC và CC ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi biểu mô tuyến với nguy cơ hút thuốc cho thấy; ở nhóm không hút thuốc có OR = 1,39 nhưng không có ý nghĩa thống kê. Ở nhóm hút thuốc có OR > 1 và cao hơn so với nhóm không hút nhưng cũng chưa cho thấy sự khác biệt với OR = 1,62 (95% CI = 0,75 – 3,52) so với kiểu gen TT ở nhóm đối chứng. Khi chúng tôi chia nhóm hút thuốc thành hai nhóm bệnh nhân hút thuốc < 20 bao/năm và ≥ 20 bao/năm thì cũng chưa tìm thấy sự khác biệt với chỉ số OR lần lượt là OR = 1,12 (95% CI = 0,32 - 4,30): OR = 1,65 (95% CI = 0,46 - 5,48). Nhóm BN hút ≥ 20 bao/năm có OR cao hơn nhóm BN hút < 20 bao/năm.

Bảng 3.8: Phân bố kiểu gen TT, TC - CC trên gen CYP1A1 với nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm BN UTP tế bào vảy so với nhóm đối chứng

Nhóm tế bào vảy \ Nhóm	Nhóm UTP tế bào vảy		n	Nhóm đối chứng		n	OR CI
	TT	TC-CC		TT	TC-CC		
Không hút	4	18	22	45	83	128	2,44 (0,74 - 10,4)
Có hút	11	48	59	25	47	72	3,32 (0,96 - 5,81)
< 20 bao/năm	6	19	25	18	32	50	1,78 (0,55 - 6,42)
≥ 20 bao/năm	5	29	34	7	15	22	2,71 (0,61 - 12,0)

Nhận xét: Bảng 3.8 đưa ra kết quả phân bố kiểu gen nhóm không T6235T bao gồm hai kiểu gen TC và CC ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi tế bào vảy với nguy cơ hút thuốc cho thấy; ở nhóm không hút thuốc có OR = 2,44 nhưng không có ý nghĩa thống kê. Ở nhóm hút thuốc có OR > 1 rất nhiều và lớn hơn so với nhóm không hút thuốc nhưng cũng chưa thấy sự khác biệt với OR = 3,32 (95% CI = 0,96 - 5,81) so với kiểu gen TT ở nhóm đối chứng. Khi chúng tôi chia nhóm hút thuốc thành hai nhóm bệnh nhân hút thuốc < 20 bao/năm và ≥ 20 bao/năm thì cũng chưa tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê mặc dù chỉ số OR > 1 và tăng cao dần lên theo số bao hút thuốc trên năm với chỉ số OR lần lượt là OR = 1,78 (95% CI = 0,55 - 6,42) với hút thuốc < 20 bao/năm: OR = 2,71 (95% CI = 0,61 - 12,0) với hút thuốc ≥ 20 bao/năm.

Bảng 3.9: Phân bố kiểu gen TT với kiểu gen TC - CC trên gen CYP1A1 theo giới ở nhóm bệnh nhân UTP và nhóm đối chứng

Giới \ Nhóm	Nhóm UTP		n	Nhóm đối chứng		n	OR CI
	TT	TC-CC		TT	TC-CC		
Nữ	14	43	57	25	50	75	1,53 (0,66 - 3,61)
Nam	36	127	163	45	80	125	1,98 (1,14 - 3,45)
<i>Tổng số</i>	50	170	220	70	130	200	1,83 (1,16 - 2,88)

Nhận xét: Chúng tôi cũng tiến hành so sánh kiểu gen (TC - CC) với kiểu gen TT ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi theo từng giới so với nhóm đối chứng thì kết quả bảng 3.9 cho thấy; sự phân bố kiểu gen (TC - CC) của nhóm bệnh nhân ung thư phổi theo giới nữ không thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng với tỷ suất chênh $OR = 1,53$ (95% CI = 0,66 – 3,61) với $p < 0,27$. Nhưng ở tổng cả hai giới và đặc biệt ở nam giới lại cho kết quả có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa kiểu gen (TC - CC) so với kiểu gen TT nhóm đối chứng với tỷ suất chênh OR lần lượt là $OR = 1,83$ (95% CI = 1,16 – 2,88): $OR = 1,98$ (95% CI = 1,14 – 3,45). Điều này cho thấy ở nam giới cùng với yếu tố nguy cơ hút thuốc lá cao hơn ở nữ giới thì nguy cơ mắc ung thư phổi cũng rõ ràng hơn so với giới nữ.

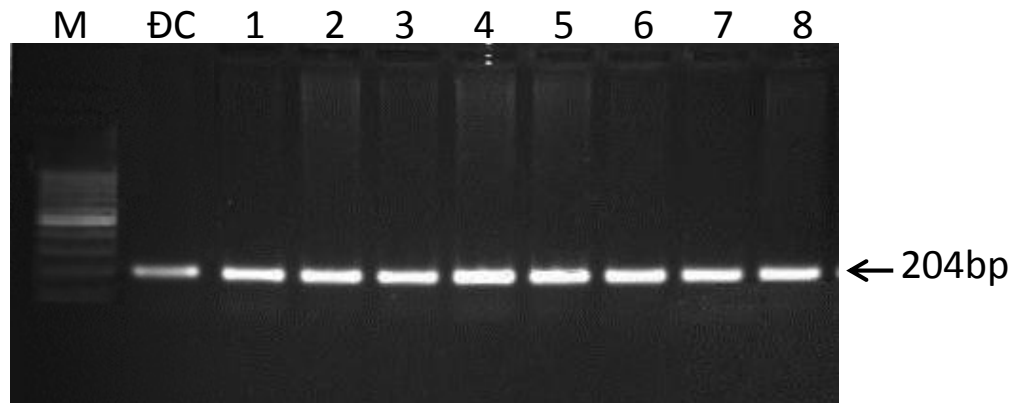
Bảng 3.10: Phân bố kiểu gen TT với kiểu gen TC - CC trên gen CYP1A1 theo nhóm tuổi ở nhóm bệnh nhân UTP so với nhóm đối chứng

Nhóm tuổi \ Nhóm	Nhóm UTP		n	Nhóm đối chứng		n	OR 95% CI
	TT	TC-CC		TT	TC-CC		
< 40 tuổi	3	1	4	0	1	1	----
40 - 60	22	93	115	13	29	42	1,89 (1,07 - 4,51)
> 60 tuổi	25	76	101	56	101	157	1,68 (0,93 - 3,08)
Tổng số	50	170	220	69	131	200	1,83 (1,16 - 2,88)

Nhận xét: Chúng tôi cũng tiến hành so sánh kiểu gen (TC - CC) với kiểu gen TT ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi theo từng nhóm tuổi so với nhóm đối chứng thì kết quả bảng 3.10 cho thấy; sự phân bố kiểu gen (TC - CC) của nhóm bệnh nhân ung thư phổi theo nhóm tuổi 40 đến 60 tuổi là có nguy cơ bị mắc ung thư phổi cao nhất với OR = 1,89 (95% CI = 1,07 - 4,51) và khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Điều này cho thấy nhóm tuổi từ 40 đến 60 theo kết quả nghiên cứu của chúng tôi có nguy cơ mắc ung thư phổi cao nhất cùng với việc tiếp xúc với các yếu tố nguy cơ như hút thuốc lá, ô nhiễm môi trường... Tiếp theo là nhóm tuổi trên 60 tuổi với tỷ suất chênh là OR = 1,68 (95% CI = 0,93 - 3,08) với $p < 0,06$ và chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Nhưng tổng cả ba nhóm tuổi lại cho kết quả có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với tỷ suất chênh OR = 1,83 (95% CI = 1,16 - 2,88) so với nhóm đối chứng.

3.2.3. Xác định sự phân bố kiểu gen của đa hình A4889G (m2) trên gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng.

Kết quả khuếch đại vùng A4889G của gen CYP1A1

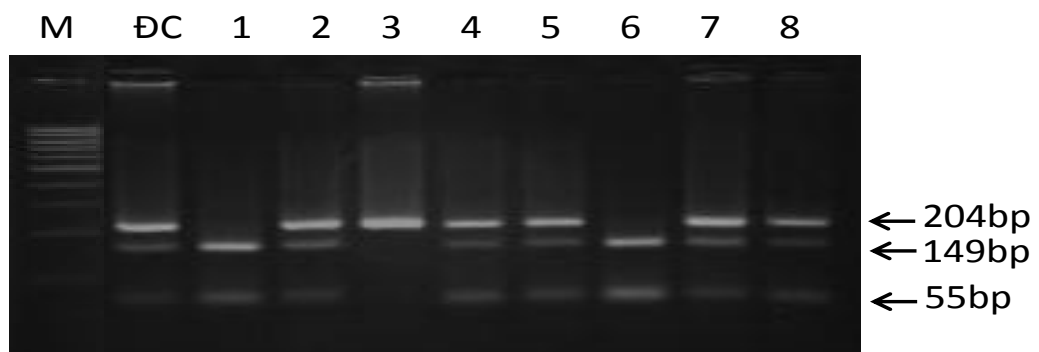


Hình 3.4. Sản phẩm khuếch đại đoạn vùng A4889G của gen CYP1A1

1-5 Mẫu bệnh nhân ung thư phổi; 6-8 nhóm đối chứng; M: thang chuẩn 100 bp; ĐC: Mẫu đối chứng dương.

Nhận xét: Sản phẩm PCR thu được có chất lượng tốt, gồm một băng đặc hiệu có kích thước đúng như tính toán là 204 bp.

Kết quả xác định đa hình A4889G của gen CYP1A1 bằng PCR – RFLP



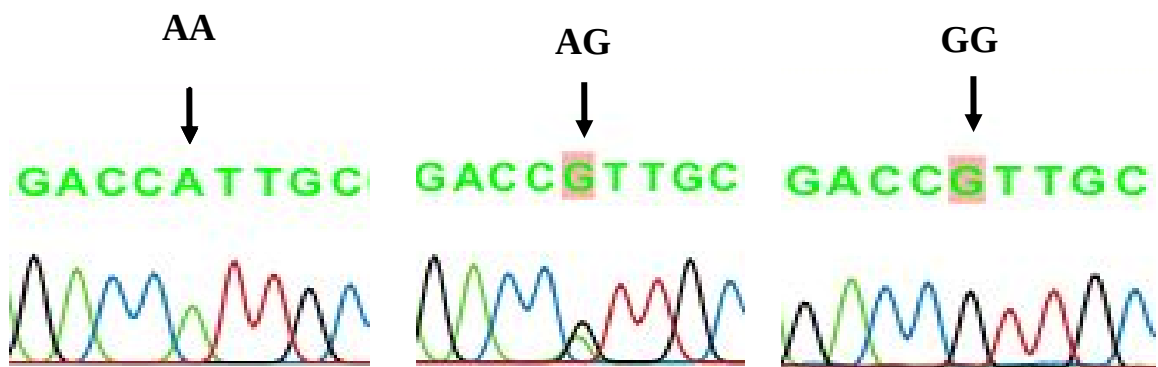
Hình 3.5. Sản phẩm sử dụng enzym cắt vùng A4889G của gen CYP1A1 bằng enzym MspI.

1-5 Mẫu bệnh nhân ung thư phổi; 6-8 nhóm đối chứng; M: thang chuẩn 100 bp; ĐC: Mẫu đối chứng dương.

Nhận xét: Sản phẩm sử dụng enzym cắt đoạn vùng A4889G trên gen CYP1A1 bằng enzym *MspI* trên các mẫu bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng có kích thước khác nhau phù hợp với tính toán lý thuyết. Mẫu mang kiểu gen GG gồm một băng DNA có kích thước 204 bp (giếng 3). Mẫu mang kiểu gen AG gồm 3 băng DNA có kích thước 204 bp, 149 bp, 55 bp (giếng 2, 4, 5, 7, 8). Mẫu mang kiểu gen AA gồm 2 băng DNA có kích thước 149 bp và 55 bp (giếng 1, 6) (Hình 3.5)

Kết quả giải trình tự kiểm tra độ đặc hiệu của sản phẩm PCR

Kết quả sản phẩm enzym giới hạn được kiểm tra lại bằng kỹ thuật giải trình tự gen



Hình 3.6. Kết quả giải trình tự sản phẩm PCR mang đoạn gen A4889G của gen CYP1A1 trên DNA của bệnh nhân tương ứng với kiểu gen A/A; A/G; G/G.

Nhận xét: Kết quả giải trình tự DNA của bệnh nhân cho thấy hoàn toàn phù hợp với kết quả sản phẩm cắt của enzym giới hạn.

Bảng 3.11: Phân bố kiểu gen của đa hình A4889G (m2) trên gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi với nhóm đối chứng

Kiểu gen Nhóm	CYP1A1 A4889G (m2)			n	p
	AA	AG	GG		
Đối chứng	90 (45%)	85 (42,5%)	25 (12,5%)	200 (100%)	-----
K phổi	85 (38,6%)	103 (46,8%)	32 (14,6%)	220 (100%)	< 0,4
<i>K biểu mô tuyến</i>	48 (37,8%)	59 (46,5%)	20 (15,7%)	127 (100%)	< 0,4
<i>K tế bào vảy</i>	32 (39,5%)	38 (46,9%)	11 (13,6%)	81 (100%)	< 0,7
<i>K tế bào nhỏ</i>	5 (41,7%)	6 (50,0%)	1 (8,3%)	12 (100%)	< 0,8

Nhận xét: Bảng 3.11 cho thấy sự phân bố kiểu gen AA, AG, GG của gen CYP1A1 A4889G (m2) của nhóm bệnh nhân ung thư phổi lần lượt là 85 (38,6%): 103 (46,8%): 32 (14,6%) so với nhóm đối chứng 90 (45%): 85 (42,5%): 25 (12,5%) không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng với $p < 0,4$. Trong nhóm bệnh nhân ung thư phổi chúng tôi cũng tiến hành so sánh các kiểu gen của từng nhóm giải phẫu bệnh với nhóm đối chứng như; nhóm ung thư phổi biểu mô tuyến, ung thư phổi tế bào vảy, ung thư phổi tế bào nhỏ nhưng cũng không cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p lần lượt là $p < 0,4$: $p < 0,7$: $p < 0,8$.

Bảng 3.12: Phân bố kiểu gen AA, AG - GG trên gen CYP1A1 với nguy cơ mắc UTP ở nhóm bệnh nhân UTP so với nhóm đối chứng

Kiểu gen Nhóm	CYP1A1 A4889G (m2)		n	OR CI	p
	AA	AG-GG			
Đối chứng	90	110	200	----	----
K phổi	85	135	220	1,30 (0,86 - 1,95)	< 0,18
<i>K biểu mô tuyến</i>	48	79	127	1,35 (0,83 - 2,17)	< 0,2
<i>K tế bào vảy</i>	32	49	81	1,25 (0,71 - 2,19)	< 0,4
<i>K tế bào nhỏ</i>	5	7	12	1,14 (0,30 - 4,73)	< 0,8

Nhận xét: Kết quả bảng 3.12 đưa ra kết quả phân bố kiểu gen AG - GG với nguy cơ mắc ung thư phổi có tỷ suất chênh OR = 1,3 (95% CI = 0,86 - 1,95) so với kiểu gen AA của gen CYP1A1 m2 ở nhóm đối chứng là chưa có ý nghĩa thống kê với $p < 0,18$. Trong ba nhóm ung thư phổi theo phân loại giải phẫu bệnh gồm; ung thư phổi tế bào nhỏ, ung thư phổi tế bào vảy và ung thư phổi biểu mô tuyến đều có tỷ suất chênh OR >1 và tăng dần với kết quả lần lượt là OR = 1,14 (95% CI = 0,3 - 4,73): OR = 1,25 (95% CI = 0,71 - 2,16): OR = 1,35 (95% CI = 0,83 - 2,17) nhưng đều chưa cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Kết quả này cho thấy ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi biểu mô tuyến của đa hình A4889G trên gen CYP1A1 có nguy cơ cao nhất so với hai nhóm giải phẫu bệnh còn lại.

Bảng 3.13: Phân bố kiểu gen AA, AG - GG trên gen CYP1A1 với nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm bệnh nhân UTP so với nhóm đối chứng

Tình trạng hút thuốc	Nhóm UTP		n	Nhóm đối chứng		n	OR CI
	AA	AG-GG		AA	AG-GG		
Không hút	31	42	73	60	68	128	1,19 (0,64 - 2,23)
Có hút	54	93	147	30	42	72	1,23 (0,66 - 2,27)
< 20 bao/năm	23	25	48	23	27	50	0,92 (0,39 - 2,21)
≥ 20 bao/năm	31	68	99	7	15	22	1,02 (0,32 - 3,01)
Tổng	85	135	220	90	110	200	1,29 (0,86 - 1,95)

Nhận xét: Bảng 3.13 đưa ra kết quả sự phân bố kiểu gen AG – GG so với AA ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nguy cơ hút thuốc lá với nhóm đối chứng cho thấy; ở nhóm BN không hút thuốc không thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với OR = 1,19 (95% CI = 0,64 - 2,23). Ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi có hút thuốc cho kết quả tỷ suất chênh OR > 1 và cao hơn nhóm không hút thuốc nhưng vẫn chưa thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với OR = 1,23 (95% CI = 0,66 - 2,27). Chúng tôi cũng chia nhóm hút thuốc thành 2 nhóm hút thuốc < 20 bao/năm và ≥ 20 bao/năm đồng thời tiến hành so sánh sự phân bố kiểu gen với yếu tố nguy cơ này nhưng cũng chưa tìm thấy sự khác biệt và kết quả cũng cho thấy; tỷ suất chênh của nhóm bệnh nhân ung thư phổi hút thuốc ≥ 20 bao/năm là cao hơn so với nhóm bệnh nhân hút thuốc < 20 bao/năm.

Bảng 3.14: Phân bố kiểu gen AA, AG - GG trên gen CYP1A1 với nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm BN UTP biểu mô tuyến so với nhóm đối chứng

Nhóm biểu mô tuyến	Nhóm UTP biểu mô tuyến		n	Nhóm đối chứng		n	OR CI
	AA	AG-GG		AA	AG-GG		
Không hút	21	29	50	60	68	128	1,22 (0,60 - 2,50)
Có hút	27	50	77	30	42	72	1,32 (0,64 - 2,70)
< 20 bao/năm	9	9	18	23	27	50	0,85 (0,25 - 2,89)
≥ 20 bao/năm	18	41	59	7	15	22	1,06 (0,31 - 3,38)

Nhận xét: Bảng 3.14 đưa ra kết quả phân bố kiểu gen nhóm không A4889A bao gồm hai kiểu gen AG và GG ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi biểu mô tuyến với nguy cơ hút thuốc cho thấy; ở nhóm không hút thuốc có OR = 1,22 nhưng không có ý nghĩa thống kê. Ở nhóm hút thuốc có OR > 1 và cao hơn so với nhóm không hút nhưng cũng chưa thấy sự khác biệt với OR = 1,32 (95% CI = 0,64 – 2,70) so với kiểu gen AA ở nhóm đối chứng. Khi chúng tôi chia nhóm hút thuốc thành hai nhóm; bệnh nhân hút thuốc < 20 bao/năm và ≥ 20 bao/năm thì cũng chưa tìm thấy sự khác biệt với chỉ số OR lần lượt là OR = 0,85 (95% CI = 0,25 - 2,89): OR = 1,06 (95% CI = 0,31 - 3,38).

Bảng 3.15: Phân bố kiểu gen AA, AG - GG trên gen CYP1A1 với nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm BN ung thư phổi tế bào vảy so với nhóm đối chứng

Nhóm tế bào vảy	Nhóm UTP tế bào vảy		n	Nhóm đối chứng		n	OR CI
	AA	AG-GG		AA	AG-GG		
Không hút	9	13	22	60	68	128	1,27 (0,47 - 3,63)
Có hút	23	36	59	30	42	72	1,31 (0,52 - 2,39)
< 20 bao/năm	13	12	25	23	27	50	0,92 (0,31 - 2,69)
≥ 20 bao/năm	11	23	34	7	15	22	0,97 (0,25 - 3,53)

Nhận xét: Bảng 3.15 đưa ra kết quả phân bố kiểu gen nhóm không A4889A bao gồm hai kiểu gen AG và GG ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi tế bào vảy với nguy cơ hút thuốc cho thấy; ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi không hút thuốc có OR = 1,27 nhưng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với nhóm đối chứng. Ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi có hút thuốc lá có OR > 1 và cao hơn so với nhóm bệnh nhân UTP không hút thuốc nhưng cũng chưa thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với OR = 1,31 (95% CI = 0,52 – 2,39) so với kiểu gen AA ở nhóm đối chứng. Khi chúng tôi chia nhóm hút thuốc thành hai nhóm bệnh nhân; ung thư phổi hút thuốc < 20 bao/năm và ≥ 20 bao/năm thì cũng chưa tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với chỉ số OR lần lượt là OR = 0,92 (95% CI = 0,31 - 2,69); OR = 0,97 (95% CI = 0,25 - 3,53).

Bảng 3.16: Phân bố kiểu gen AA với kiểu gen AG - GG trên gen CYP1A1 theo giới ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng

Nhóm Giới	Nhóm UTP		n	Nhóm đối chứng		n	OR CI
	AA	AG-GG		AA	AG-GG		
Nữ	26	35	57	37	38	75	1,16 (0,55 - 2,45)
Nam	59	104	163	53	72	125	1,30 (1,08 - 2,15)
Tổng số	85	135	220	90	110	200	1,29 (0,84 - 1,95)

Nhận xét: Chúng tôi đã tiến hành so sánh kiểu gen (AA - AG) với kiểu gen AA ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi theo từng giới với nhóm đối chứng thì được kết quả ở bảng 3.16 cho thấy: Sự phân bố kiểu gen AG - GG của nhóm bệnh nhân ung thư phổi theo giới nữ là không có sự khác biệt có ý nghĩa so với nhóm đối chứng với tỷ suất chênh là $OR = 1,16$ ($95\% CI = 0,55 - 2,45$) với $p < 0,67$. Nhưng ở nam giới lại cho kết quả có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với tỷ suất chênh $OR = 1,30$ ($95\% CI = 1,08 - 2,15$) $p < 0,05$. Điều này cho thấy cũng như kiểu gen CYP1A1 T6235C hay m1 thì ở kiểu gen CYP1A1 A4889G hay m2 cũng cho thấy ở nam giới với yếu tố nguy cơ hút thuốc lá cao hơn ở nữ giới thì nguy cơ mắc ung thư phổi là rõ ràng hơn so với giới nữ.

Bảng 3.17: Phân bố kiểu gen AA với kiểu gen AG - GG trên gen CYP1A1 theo nhóm tuổi ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng

Nhóm tuổi \ Nhóm	Nhóm UTP		n	Nhóm đối chứng		n	OR CI
	AA	AG-GG		AA	AG-GG		
< 40 tuổi	1	3	4	0	1	1	----
40 - 60	38	77	115	22	20	42	2,22 (1,02 - 4,87)
> 60 tuổi	46	55	101	68	89	157	0,91 (0,53 - 1,55)
<i>Tổng số</i>	85	135	220	90	110	200	1,29 (0,84 - 1,95)

Nhận xét: Chúng tôi cũng tiến hành so sánh kiểu gen (AG - GG) với kiểu gen AA ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi theo từng nhóm tuổi so với nhóm đối chứng được kết quả bảng 3.17 cho thấy: Sự phân bố kiểu gen AG - GG của nhóm bệnh nhân ung thư phổi theo nhóm tuổi 40 đến 60 là có nguy cơ cao nhất với tỷ suất chênh $OR = 2,22$ (95% $CI = 1,02 - 4,87$) và khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,02$. Điều này cho thấy cũng như kiểu gen CYP1A1 m1 thì ở kiểu gen CYP1A1 m2 ở nhóm tuổi 40 đến 60 tuổi có nguy cơ mắc ung thư phổi cao nhất, tiếp theo nhóm bệnh nhân ung thư phổi tuổi trên 60 tuổi với tỷ suất chênh $OR = 1,29$ (95% $CI = 0,84 - 1,95$) với $p < 0,7$ và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng.

Bảng 3.18: So sánh các kiểu gen của đa hình T6235C (m1) với các kiểu gen của đa hình A4889G (m2) trên gen CYP1A1.

CYP1A1		Đa hình A4889G (m2)			p
		AA	AG	GG	
Đa hình T6235C (m1)	TT	40 (47,1%)	5 (4,9%)	5 (16%)	P < 0,001
	TC	35 (41,2%)	77 (74,8%)	9 (28,1%)	
	CC	10 (11,8%)	21 (20,4%)	18 (56,2%)	
Tổng		85	103	32	220

Nhận xét: Bảng 3.18 đưa ra sự phân bố kiểu gen của hai đa hình T6235C và đa hình A4889G trên cùng một gen CYP1A1 của nhóm bệnh nhân ung thư phổi, đồng thời so sánh sự phân bố kiểu gen của hai đa hình này và cho thấy có sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Điều này giải thích tại sao ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi của chúng tôi có sự phân bố kiểu gen của đa hình T6235C (m1) trên gen CYP1A1 lại có sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê giữa nhóm bệnh nhân ung thư phổi với nhóm đối chứng trong khi đa hình A4889G (m2) của gen CYP1A1 lại chưa tìm thấy sự khác biệt. Đặc biệt ở hai đa hình này có kiểu gen dị hợp tử TC của gen CYP1A1 m1 và đa hình có kiểu gen dị hợp tử AG của gen CYP1A1 m2 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi chiếm tỷ lệ rất cao 77 (74,8%). Nó cho thấy kiểu gen dị hợp tử ở hai đa hình m1 và m2 của gen CYP1A1 có nguy cơ bị ung thư phổi cao nhất và có ý nghĩa thống kê theo kết quả nghiên cứu của chúng tôi.

3.2.4. Xác định sự phân bố kiểu gen của đa hình T5639C (m3) trên gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng

Với đa hình T5639C (m3) của gen CYP1A1 chúng tôi cũng được tiến hành phân tích bằng kỹ thuật PCR-RFLP tuy nhiên chỉ thu được hai kiểu gen TC và TT, khác với tính toán lý thuyết. Chúng tôi đã so sánh hai kiểu gen này giữa nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng ở bảng 3.19.

Bảng 3.19: Phân bố kiểu gen của đa hình T5639C (m3) trên gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng

Nhóm Kiểu gen	Nhóm ung thư phổi n (%)	Nhóm đối chứng n (%)	Kết quả
TC	22 (10%)	16 (8%)	OR = 1,277 95% (CI= 0,895-1,969)
TT	198 (90%)	184(92%)	
Tổng	220	200	

Nhận xét: Bảng 3.19 cho thấy kiểu gen TC và TT của nhóm bệnh nhân ung thư phổi không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng với tỷ suất chênh OR = 1,277 (95% CI = 0,895 – 1,969) $p > 0,05$.

3.2.5. Xác định sự phân bố kiểu gen của đa hình C4887A (m4) trên gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng

Với đa hình C4887A (m4) của gen CYP1A1 chúng tôi cũng tiến hành phân tích bằng kỹ thuật PCR-RFLP và cũng chỉ thu được hai kiểu gen CA và CC, khác với tính toán lý thuyết. Chúng tôi tiến hành so sánh hai kiểu gen này giữa nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng ở bảng 3.20.

Bảng 3.20: Phân bố kiểu gen của đa hình C4887A (m4) trên gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng

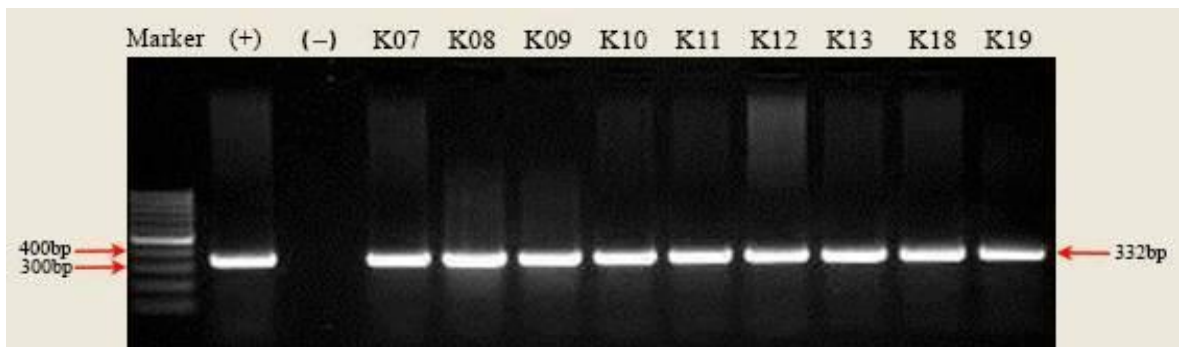
Nhóm Kiểu gen	Nhóm ung thư phổi n (%)	Nhóm đối chứng n (%)	Kết quả
CA	33 (15%)	24 (12%)	OR = 1,294 95% (CI= 0,826-1,849)
CC	187 (85%)	176 (88%)	
Tổng	220	200	

Nhận xét: Bảng 3.20 cho thấy kiểu gen CA và CC của nhóm bệnh nhân ung thư phổi không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng với tỷ suất chênh OR = 1,294 (95% CI = 0,826 - 1,849) $p > 0,05$.

3.3. Xác định sự phân bố kiểu gen các đa hình gen CYP2D6 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng

3.3.1. Xác định sự phân bố kiểu gen của đa hình G4268C trên gen CYP2D6 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng

Kết quả khuếch đại vùng G4268C của gen CYP2D6

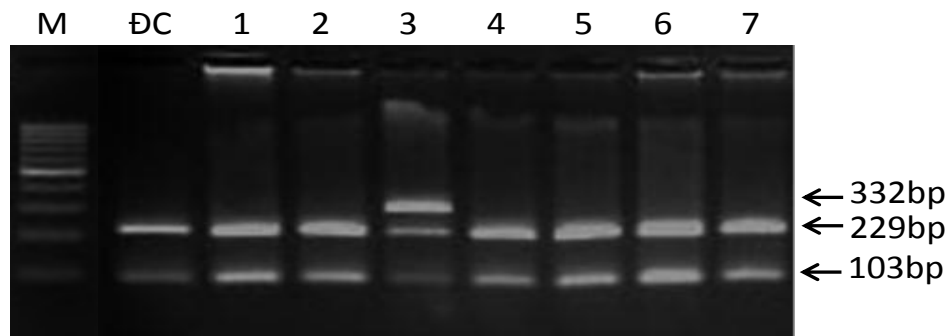


Hình 3.7. Sản phẩm khuếch đại đoạn vùng G4268C của gen CYP2D6.

Giếng 1: Marker thang chuẩn 100 bp; Giếng 2: Mẫu chứng (+); Giếng 3: Mẫu chứng (-); k7- k11: Mẫu bệnh nhân ung thư phổi; k12- k19: Nhóm đối chứng.

Nhận xét: Kết quả khuếch đại đoạn vùng G4268C của gen CYP2D6 được sản phẩm PCR thu được có chất lượng tốt, gồm một băng đặc hiệu có kích thước đúng như tính toán là 332 bp.

Kết quả xác định đa hình G4268C của gen CYP2D6 bằng PCR – RFLP



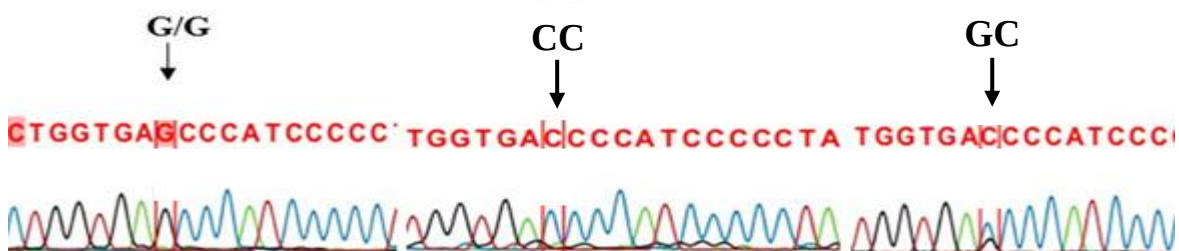
Hình 3.8. Sản phẩm sử dụng enzym cắt vùng G4268C của gen CYP2D6 bằng enzym *Eco91I*.

1-4 Mẫu bệnh nhân ung thư phổi; 5-7 nhóm đối chứng; M: thang chuẩn 100 bp; ĐC: Mẫu đối chứng dương.

Nhận xét: Sản phẩm sử dụng enzym cắt đoạn vùng G4268C trên gen CYP2D6 bằng enzym *Eco91I* trên các mẫu bệnh nhân ung thư phổi và nhóm chứng có kích thước khác nhau phù hợp với tính toán lý thuyết. Mẫu mang kiểu gen GG gồm một băng DNA có kích thước 332 bp. Mẫu mang kiểu gen GC gồm 3 băng DNA có kích thước 332 bp, 229 bp, 103 bp (giống 3). Mẫu mang kiểu gen CC gồm 2 băng DNA có kích thước 229 bp và 103 bp (giống 1, 2, 4, 5, 6,7) (Hình 3.8)

Kết quả giải trình tự kiểm tra độ đặc hiệu của sản phẩm PCR

Sản phẩm enzym giới hạn được kiểm tra lại bằng kỹ thuật giải trình tự gen



Hình 3.9. Kết quả giải trình tự sản phẩm PCR mang đoạn gen G4268C của gen CYP2D6 trên DNA của bệnh nhân tương ứng với kiểu gen G/G; C/C; G/C.

Nhận xét: kết quả giải trình tự DNA của bệnh nhân cho thấy hoàn toàn phù hợp với sản phẩm enzym giới hạn.

Bảng 3.21: Phân bố kiểu gen của đa hình G4268C trên gen CYP2D6 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng

Kiểu gen Nhóm	CYP2D6 G4268C			n	p
	GG	GC	CC		
Đối chứng	28 (14%)	51 (25,5%)	121 (60,5%)	200 (100%)	-----
K phổi	26 (11,8%)	126 (57,3%)	68 (30,9%)	220 (100%)	< 0,001
<i>K biểu mô tuyến</i>	14 (11,0%)	72 (56,7%)	41 (32,3%)	127 (100%)	< 0,001
<i>K tế bào vảy</i>	11 (13,6%)	46 (56,8%)	24 (29,6%)	81 (100%)	< 0,001
<i>K tế bào nhỏ</i>	1 (16,8%)	8 (41,6%)	3 (41,6%)	12 (100%)	< 0,008

Nhận xét: Kết quả bảng 3.21 cho thấy sự phân bố kiểu gen GG, GC và CC ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi là khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng với $p < 0,001$. Trong ba nhóm theo phân loại giải phẫu bệnh: Ung thư phổi biểu mô tuyến, ung thư phổi tế bào vảy và ung thư phổi tế bào nhỏ của nhóm bệnh nhân ung thư phổi đều có sự phân bố kiểu gen khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng với p lần lượt là $p < 0,001$; $p < 0,001$; $p < 0,008$. Kết quả này cho thấy các kiểu gen của đa hình G4268C gen CYP2D6 cũng trên bệnh nhân ung thư phổi nhưng có sự phân bố khác biệt so với các đa hình của gen CYP1A1.

Bảng 3.22: Phân bố kiểu gen CC, GC - GG trên gen CYP2D6 với nguy cơ mắc UTP ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng

Nhóm \ Kiểu gen	CYP1A1 G4268C		n	OR CI	p
	CC	GC-GG			
Đối chứng	79	121	200	----	----
K phổi	68	152	220	3,42 (2,24 - 5,22)	< 0,001
<i>K biểu mô tuyến</i>	41	86	127	3,21 (1,96 - 5,28)	< 0,001
<i>K tế bào vảy</i>	24	57	81	3,63 (2,02 - 6,63)	< 0,001
<i>K tế bào nhỏ</i>	3	9	12	4,59 (1,10 - 26,99)	< 0,02

Nhận xét: Kết quả bảng 3.22 đưa ra kết quả phân bố riêng kiểu gen GC - GG ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi có tỷ suất chênh OR rất cao = 3,42 (95% CI = 2,24 - 5,22) so với kiểu gen CC ở nhóm đối chứng và tỷ suất chênh này khác biệt rất có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Trong ba nhóm theo phân loại giải phẫu bệnh: Ung thư phổi biểu mô tuyến, ung thư phổi tế bào vảy và ung thư phổi tế bào nhỏ của nhóm bệnh nhân ung thư phổi thì ở cả ba nhóm này đều có sự phân bố kiểu gen khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng giữa kiểu gen GC – GG với kiểu gen CC với kết quả OR lần lượt là OR = 3,21 (95% CI = 1,96 - 5,28) $p < 0,001$; OR = 3,63 (95% CI = 2,02 – 6,63) $p < 0,001$; OR = 4,59 (95% CI = 1,10 - 26,99) $p < 0,02$. Kết quả này càng cho thấy sự khác biệt với các đa hình của gen CYP1A1 ở các đối tượng nghiên cứu của chúng tôi.

Bảng 3.23: Phân bố kiểu gen CC, GC - GG trên gen CYP2D6 với nguy cơ hút thuốc ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng

Nhóm Tình trạng hút thuốc	Nhóm UTP		n	Nhóm đối chứng		n	OR CI
	CC	GC-GG		CC	GC-GG		
Không hút	28	45	73	76	52	128	2,35 (1,25 - 4,42)
Có hút	40	107	147	45	27	72	4,45 (2,35 - 8,50)
< 20 bao/năm	11	37	48	30	20	50	5,04 (1,93 - 13,5)
≥ 20 bao/năm	29	70	99	15	7	22	5,17 (1,74 - 16,4)
Tổng	68	152	220	121	79	200	3,42 (2,24 - 5,22)

Nhận xét: Bảng 3.23 đưa ra kết quả sự phân bố kiểu gen GC - GG, CC ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nguy cơ hút thuốc lá so với nhóm đối chứng cho thấy; ở nhóm bệnh nhân không hút thuốc đã có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với OR = 2,35 (95% CI = 1,25 - 4,42) $p < 0,04$. Ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi có hút thuốc cho kết quả tỷ suất chênh OR rất cao đồng thời cao hơn nhóm không hút thuốc và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với OR = 4,45 (95% CI = 2,35 - 8,50) $p < 0,001$. Chúng tôi cũng chia nhóm hút thuốc thành 2 nhóm; hút thuốc < 20 bao/năm và ≥ 20 bao/năm đồng thời tiến hành so sánh sự phân bố kiểu gen GC - GG với yếu tố nguy cơ hút thuốc so với nhóm đối chứng thì được tỷ suất chênh rất cao và khác biệt có ý nghĩa thống kê với OR lần lượt OR = 5,04 (95% CI = 1,93 - 13,5) $p < 0,001$: OR = 5,17 (95% CI = 1,74 - 16,4) $p < 0,001$.

Bảng 3.24: Phân bố kiểu gen CC, GC - GG trên gen CYP2D6 với nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm BN UTP biểu mô tuyến so với nhóm đối chứng

Nhóm biểu mô tuyến	Nhóm UTP biểu mô tuyến		n	Nhóm đối chứng		n	OR CI
	CC	GC-GG		CC	GC-GG		
Không hút	18	32	50	76	52	128	2,59 (1,25 - 5,44)
Có hút	23	54	77	45	27	72	3,91 (1,87 - 8,21)
< 20 bao/năm	5	13	18	30	20	50	3,9 (1,07 - 15,9)
≥ 20 bao/năm	18	41	59	15	7	22	4,88 (1,52 - 16,4)

Nhận xét: Bảng 3.24 đưa ra kết quả phân bố kiểu gen nhóm không C4268C bao gồm hai kiểu gen GC và GG ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi biểu mô tuyến với nguy cơ hút thuốc cho thấy; ở nhóm bệnh nhân không hút thuốc có OR = 2,59 (95% CI = 1,25 – 5,44) $p < 0,005$ là khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng. Ở nhóm bệnh nhân hút thuốc có OR > 1 và cao hơn nhiều so với nhóm bệnh nhân không hút và cũng cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với OR = 3,91 (95% CI = 1,87 – 8,21) $p < 0,001$ so với kiểu gen CC ở nhóm đối chứng. Khi chúng tôi chia nhóm bệnh nhân hút thuốc thành hai nhóm; bệnh nhân hút thuốc < 20 bao/năm và ≥ 20 bao/năm thì cũng cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với chỉ số OR lần lượt là OR = 3,9 (95% CI = 1,07 - 15,9) $p < 0,02$; OR = 4,88 (95% CI = 1,52 - 16,4) $p < 0,002$ so với nhóm đối chứng.

Bảng 3.25: Phân bố kiểu gen CC, GC - GG trên gen CYP2D6 với nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm BN ung thư phổi tế bào vảy so với nhóm đối chứng

Nhóm tế bào vảy	Nhóm UTP tế bào vảy		n	Nhóm đối chứng		n	OR CI
	CC	GC-GG		CC	GC-GG		
Không hút	10	12	22	76	52	128	1,75 (0,63 - 4,88)
Có hút	14	45	59	45	27	72	5,35 (2,34 - 12,4)
< 20 bao/năm	4	21	25	30	20	50	5,14 (2,14 - 15,3)
≥ 20 bao/năm	10	24	34	15	7	22	7,88 (1,4 - 19,46)

Nhận xét: Bảng 3.25 đưa ra kết quả phân bố kiểu gen nhóm không C4889C bao gồm hai kiểu gen GC - GG ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi tế bào vảy với nguy cơ hút thuốc cho thấy; ở nhóm BN không hút thuốc có OR > 1,0 nhưng không có ý nghĩa thống kê OR = 1,75 (95% CI = 0,63 - 4,88). Ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi tế bào vảy có hút thuốc có OR > 1 và cao hơn rất nhiều so với nhóm không hút cũng như có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với OR = 5,35 (95% CI = 2,34 - 12,4) so với kiểu gen CC ở nhóm đối chứng. Khi chúng tôi chia nhóm hút thuốc thành hai nhóm; bệnh nhân hút thuốc < 20 bao/năm và ≥ 20 bao/năm thì cũng cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với OR lần lượt là OR = 5,14 (95% CI = 2,14 - 15,3) $p < 0,004$; OR = 7,88 (95% CI = 1,4 - 19,46) $p < 0,003$ so với nhóm đối chứng.

Bảng 3.26: Phân bố kiểu gen CC với kiểu gen GC - GG trên gen CYP2D6 theo giới ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng

Nhóm Giới	Nhóm UTP		n	Nhóm đối chứng		n	OR CI
	CC	GC-GG		CC	GC-GG		
Nữ	20	37	57	42	33	75	2,35 (1,09 - 5,12)
Nam	48	115	163	79	46	125	4,11 (2,43 - 6,97)
Tổng số	68	152	220	121	79	200	3,42 (2,24 - 5,22)

Nhận xét: Chúng tôi cũng tiến hành so sánh kiểu gen (GC - GG) với kiểu gen CC ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi theo từng giới với nhóm đối chứng thì kết quả bảng 3.26 cho thấy; sự phân bố kiểu gen của nhóm bệnh nhân ung thư phổi theo giới nữ là có sự khác biệt so với nhóm đối chứng với tỷ suất chênh là $OR = 2,35$ (95% CI = 1,09 - 5,12) với $p < 0,02$. Đặc biệt ở nam giới lại càng cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với tỷ suất chênh $OR = 4,11$ (95% CI = 2,43 - 6,97) $p < 0,001$. Điều này cho thấy ở nam giới với yếu tố nguy cơ hút thuốc lá cao hơn ở nữ giới cùng với sự tác động của các yếu tố nguy cơ khác thì ở đa hình G4268C lại càng cho thấy nguy cơ mắc ung thư phổi là rõ ràng hơn so với giới nữ.

Bảng 3.27: Phân bố kiểu gen CC với kiểu gen GC - GG trên gen CYP2D6 theo nhóm tuổi ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng

Nhóm tuổi	Nhóm UTP		n	Nhóm đối chứng		n	OR 95% CI
	CC	GC-GG		CC	GC-GG		
< 40 tuổi	2	2	4	0	1	1	----
40 - 60	36	79	115	23	19	42	2,66 (1,21 - 5,84)
> 60 tuổi	30	71	101	98	59	157	3,93 (2,23 - 6,98)
Tổng số	68	152	220	121	79	200	3,42 (2,24 - 5,22)

Nhận xét: Chúng tôi cũng tiến hành so sánh kiểu gen (GC - GG) với kiểu gen CC ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi theo từng nhóm tuổi so với nhóm đối chứng thì kết quả bảng 3.27 cho thấy; sự phân bố kiểu gen của nhóm bệnh nhân ung thư phổi theo nhóm tuổi 40 đến 60 là có nguy cơ mắc ung thư phổi với $OR = 2,66$ (95% CI = 1,21 - 5,84) khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,007$; tiếp theo là lứa tuổi trên 60 tuổi với tỷ suất chênh là $OR = 3,39$ (95% CI = 2,23 - 6,98) với $p < 0,001$ khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng. Theo kết quả của bảng 3.27 nhóm tuổi > 60 lại có tỷ suất chênh OR cao nhất $OR = 3,93$ rồi đến tổng các nhóm tuổi có $OR = 3,42$ và cuối cùng là nhóm tuổi 40 đến 60 có $OR = 2,66$.

3.3.2. Xác định sự phân bố kiểu gen của đa hình C188T trên gen CYP2D6 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng.

Bảng 3.28: Phân bố kiểu gen của đa hình C188T trên gen CYP2D6 ở nhóm ung thư phổi so với nhóm đối chứng

Kiểu gen Nhóm	CYP2D6 C188T			n	p
	CC	CT	TT		
Đối chứng	26 (13,0%)	71 (35,5%)	103 (51,5%)	200 (100%)	-----
K phổi	32 (14,5%)	73 (33,2%)	115 (52,3%)	220 (100%)	< 0,8
K biểu mô tuyến	20 (14,1%)	111 (33,9%)	170 (52,0%)	127 (100%)	< 0,6
K tế bào vảy	12 (14,8%)	22 (27,2%)	47 (58,0%)	81 (100%)	< 0,4
K tế bào nhỏ		11 (91,7%)	1 (8,3%)	12 (100%)	-----

Nhận xét: Kết quả bảng 3.28 cho thấy sự phân bố kiểu gen CC, CT và TT ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng với $p < 0,8$. Trong ba nhóm theo phân loại giải phẫu bệnh: ung thư phổi biểu mô tuyến, ung thư phổi tế bào vảy và ung thư phổi tế bào nhỏ của nhóm bệnh nhân ung thư phổi cũng đều có sự phân bố kiểu gen khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng với p lần lượt là $p < 0,6$; $p < 0,4$. Kết quả này khác với sự phân bố kiểu gen của đa hình G4268C cũng trên gen CYP2D6.

Bảng 3.29: Phân bố kiểu gen TT, CT - CC trên gen CYP2D6 với nguy cơ mắc UTP ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng

Nhóm \ Kiểu gen	CYP1A1 C188T		n	OR CI	p
	TT	CT-CC			
Đối chứng	103	97	200	----	----
K phổi	115	105	220	0,97 (0,65 - 1,45)	< 0,8
<i>K biểu mô tuyến</i>	67	60	127	0,95 (0,59 - 1,52)	< 0,8
<i>K tế bào vảy</i>	47	34	81	0,77 (0,44 - 1,3)	< 0,3
<i>K tế bào nhỏ</i>	1	11	12	11,68 (1,63 - 50,4)	< 0,03

Nhận xét: Kết quả bảng 3.29 đưa ra kết quả phân bố riêng kiểu gen CT - CC ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi có tỷ suất chênh $OR = 0,97$ (95% CI = 0,65 – 1,45) so với kiểu gen TT ở nhóm đối chứng và tỷ suất chênh này khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p < 0,8$. Trong ba nhóm; ung thư phổi biểu mô tuyến, ung thư phổi tế bào vảy và ung thư phổi tế bào nhỏ của nhóm bệnh nhân ung thư phổi có hai nhóm ung thư biểu mô tuyến và ung thư tế bào vảy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng với OR lần lượt là $OR = 0,95$ (95% CI = 0,59 – 1,52) $p < 0,8$; $OR = 0,77$ (95% CI = 0,44 – 1,3) $p < 0,3$. Nhóm ung thư tế bào nhỏ có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $OR = 11,68$ (95% CI = 1,63-50,4) $p < 0,03$ nhưng số bệnh nhân ung thư phổi tế bào nhỏ là chưa đủ lớn để tin tưởng ở kết quả này.

Bảng 3.30: Phân bố kiểu gen TT, CT - CC trên gen CYP2D6 với nguy cơ hút thuốc ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng

Tình trạng hút thuốc \ Nhóm	Nhóm UTP		n	Nhóm đối chứng		n	OR CI
	TT	CT-CC		TT	CT-CC		
Không hút	41	32	73	68	62	128	0,88 (0,47 - 1,64)
Có hút	74	73	147	35	37	72	0,93 (0,51 - 1,7)
< 20 bao/năm	26	22	48	24	26	50	0,78 (0,33 - 1,86)
≥ 20 bao/năm	48	51	99	11	11	22	1,06 (0,38 - 2,98)
Tổng	115	105	220	103	97	200	0,97 (0,65 - 1,45)

Nhận xét: Bảng 3.30 đưa ra kết quả sự phân bố kiểu gen CT - CC, TT ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nguy cơ hút thuốc lá so với nhóm đối chứng cho thấy ở nhóm không hút thuốc không cho thấy sự khác biệt với OR = 0,88 (95% CI = 0,47 - 1,64). Ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi có hút thuốc cho kết quả tỷ suất chênh cao hơn nhóm không hút thuốc nhưng vẫn chưa thấy sự khác biệt với OR = 0,93 (95% CI = 0,51 - 1,7). Chúng tôi cũng chia nhóm hút thuốc thành 2 nhóm; hút thuốc < 20 bao/năm và ≥ 20 bao/năm đồng thời tiến hành so sánh sự phân bố kiểu gen với yếu tố nguy cơ này nhưng cũng chưa tìm thấy sự khác biệt tuy nhiên kết quả cũng cho thấy: Tỷ suất chênh OR = 1,06 của nhóm bệnh nhân hút thuốc ≥ 20 bao/năm là cao hơn so với nhóm bệnh nhân hút thuốc < 20 bao/năm với OR = 0,78.

Bảng 3.31: Phân bố kiểu gen TT, CT - CC trên gen CYP2D6 với nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm BN UTP biểu mô tuyến so với nhóm đối chứng

Nhóm biểu mô tuyến	Nhóm UTP biểu mô tuyến		n	Nhóm đối chứng		n	OR CI
	TT	CT-CC		TT	CT-CC		
Không hút thuốc	29	21	50	68	60	128	0,82 (0,4 - 1,67)
Có hút thuốc	38	38	77	35	37	72	0,97 (0,49 - 1,94)
< 20 bao/năm	10	8	18	24	26	50	0,73 (0,21 - 2,48)
≥ 20 bao/năm	28	31	59	11	11	22	1,15 (0,37 - 3,30)

Nhận xét: Bảng 3.31 đưa ra kết quả phân bố kiểu gen nhóm không T188T bao gồm hai kiểu gen CT và CC ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi biểu mô tuyến với nguy cơ hút thuốc cho thấy: Ở nhóm không hút thuốc có OR = 0,82 nhưng không có ý nghĩa thống kê. Ở nhóm hút thuốc có OR cao hơn so với nhóm không hút thuốc nhưng cũng chưa thấy sự khác biệt với OR = 0,97 (95% CI = 0,49 – 1,94) so với kiểu gen TT ở nhóm đối chứng. Khi chúng tôi chia thành hai nhóm bệnh nhân hút thuốc < 20 bao/năm và ≥ 20 bao/năm thì cũng chưa tìm thấy sự khác biệt với chỉ số OR lần là OR = 0,73 (95% CI = 0,21 - 2,48): OR = 1,15 (95% CI = 0,37 - 3,30).

Bảng 3.32: Phân bố kiểu gen TT, CT - CC trên gen CYP2D6 với nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm BN ung thư phổi tế bào vảy so với nhóm đối chứng

Nhóm tế bào vảy	Nhóm UTP tế bào vảy		n	Nhóm đối chứng		n	OR CI
	TT	CT-CC		TT	CT-CC		
Không hút	12	10	22	68	60	128	0,94 (0,34 - 2,58)
Có hút	35	24	59	35	37	72	0,65 (0,30 - 1,37)
< 20 bao/năm	16	9	25	24	26	50	0,52 (0,17 - 1,54)
≥ 20 bao/năm	19	15	34	11	11	22	0,79 (0,23 - 2,65)

Nhận xét: Bảng 3.32 đưa ra kết quả phân bố kiểu gen nhóm không T188T bao gồm hai kiểu gen CT và CC ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi tế bào vảy với nguy cơ hút thuốc cho thấy: Ở nhóm không hút thuốc có OR = 0,94 nhưng không có ý nghĩa thống kê. Ở nhóm hút thuốc có OR cũng chưa thấy sự khác biệt với OR = 0,65 (95% CI = 0,30 – 1,37) so với kiểu gen TT ở nhóm đối chứng. Khi chúng tôi chia thành hai nhóm: Bệnh nhân hút thuốc < 20 bao/năm và ≥ 20 bao/năm thì cũng chưa tìm thấy sự khác biệt mặc dù chỉ số OR < 1 nhưng lại tăng cao dần lên theo số bao hút thuốc trên năm với chỉ số OR lần lượt là OR = 0,52 (95% CI = 0,30 - 1,37): OR = 0,79 (95% CI = 0,23 - 2,65) nhưng cũng không có ý nghĩa thống kê.

Bảng 3.33: Phân bố kiểu gen TT với kiểu gen CT và CC trên gen CYP2D6 theo giới ở nhóm bệnh nhân UTP so với nhóm đối chứng

Nhóm Giới	Nhóm UTP		n	Nhóm đối chứng		n	OR CI
	TT	CT-CC		TT	CT-CC		
Nữ	31	26	57	38	37	75	0,86 (0,41 - 1,81)
Nam	84	79	163	65	60	125	1,01 (0,62 - 1,67)
<i>Tổng số</i>	115	105	220	103	97	200	0,97 (0,65 - 1,45)

Nhận xét: Chúng tôi cũng tiến hành so sánh kiểu gen (CT - CC) với kiểu gen TT ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi theo từng giới so với nhóm đối chứng thì được kết quả bảng 3.33 cho thấy: Sự phân bố kiểu gen của nhóm bệnh nhân ung thư phổi theo cả hai giới nam và nữ đều không có sự khác biệt so với nhóm đối chứng với tỷ suất chênh lần lượt là OR = 1,01 (95% CI = 0,62 – 1,67) với $p < 0,9$; OR = 0,86 (95% CI = 0,41 – 1,81).

Bảng 3.34: Phân bố kiểu gen TT với kiểu gen CT-CC trên gen CYP2D6 theo nhóm tuổi ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng

Nhóm tuổi \ Nhóm	Nhóm UTP		n	Nhóm đối chứng		n	OR 95% CI
	TT	CT-CC		TT	CT-CC		
< 40 tuổi	2	2	4	0	1	1	----
40 - 60	60	55	115	17	25	42	0,62 (0,28 - 1,35)
> 60 tuổi	53	48	101	85	72	157	1,06 (0,63 - 1,81)
<i>Tổng số</i>	115	105	220	103	97	200	0,97 (0,65 - 1,45)

Nhận xét: Chúng tôi cũng tiến hành so sánh kiểu gen (CT - CC) với kiểu gen TT ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi theo từng nhóm tuổi so với nhóm đối chứng thì thu được kết quả bảng 3.34: Sự phân bố kiểu gen của nhóm bệnh nhân ung thư phổi theo nhóm tuổi > 60 tuổi có nguy cơ mắc ung thư phổi với OR = 1,06 (95% CI = 0,63 – 1,81) khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p < 0,8$. Tuy nhiên đây cũng là nhóm tuổi có nguy cơ mắc ung thư phổi cao nhất, tiếp theo là lứa tuổi 40 - 60 tuổi với tỷ suất chênh là OR = 0,62 (95% CI = 0,28 - 1,81) với $p < 0,2$ cũng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng.

Bảng 3.35: So sánh sự phân bố các kiểu gen của đa hình G4268C với các kiểu gen của đa hình C188T trên gen CYP2D6.

CYP2D6		Đa hình G4268C			p
		GG	GC	CC	
Đa hình C188T	CC	11 (42,3%)	19 (15%)	7 (10,3%)	p < 0,001
	CT	9 (34,6%)	53 (42,1%)	11 (16,2%)	
	TT	6 (23,1%)	54 (42,9%)	50 (73,5%)	
Tổng		26	126	68	220

Nhận xét: Bảng 3.35 đưa ra sự phân bố kiểu gen của hai đa hình G4268C và đa hình C188T trên cùng một gen CYP2D6 của nhóm bệnh nhân ung thư phổi, đồng thời so sánh sự phân bố kiểu gen của hai đa hình này thì cho thấy có sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Điều này cho thấy giữa các đa hình trên cùng một gen cũng có sự thay đổi khác nhau với yếu tố nguy cơ cũng như khả năng gây bệnh độc lập nhau. Cũng như đa hình m1 và m2 của gen CYP1A1 thì hai đa hình G4268C và C188T cũng có kiểu gen dị hợp tử CT - GC có tỷ lệ mắc ung thư phổi cao nhất, kiểu gen đồng hợp tử CC-CC có tỷ lệ thấp nhất và như là yếu tố bảo vệ ở người không hút thuốc.

3.3.3. Xác định sự phân bố kiểu gen của đa hình G1846T/A trên gen CYP2D6 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng.

Chúng tôi tiến hành phân tích đa hình G1846T/A bằng kỹ thuật PCR-RFLP, tuy nhiên kết quả thu được chỉ là hai kiểu gen GT và GG khác với tính toán lý thuyết ban đầu của chúng tôi. Kết quả so sánh giữa hai kiểu gen này ở hai nhóm ung thư phổi và nhóm đối chứng được thực hiện ở bảng 3.36 dưới đây.

Bảng 3.36: Kiểu gen của đa hình G1846T/A trên gen CYP2D6 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng

Nhóm Kiểu gen	Nhóm ung thư phổi n (%)	Nhóm đối chứng n (%)	Kết quả
GT	11 (5%)	8 (4%)	$p > 0,05$
GG	209 (95%)	192(96%)	
Tổng	220	200	

Nhận xét: Bảng 3.36 đưa ra sự phân bố kiểu gen và sự khác biệt giữa các kiểu gen ở hai nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng. Ở nhóm đối chứng, sự phân bố kiểu gen GG chiếm tỷ lệ cao nhất 96%, GT chiếm 8%. Ở nhóm ung thư phổi kiểu gen GG chiếm tỷ lệ cao nhất 95%, GT chiếm 5%. Khi so sánh sự phân bố kiểu gen của hai đa hình này không cho thấy sự khác biệt giữa hai nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng với $p > 0,05$.

3.3.4. Xác định sự phân bố kiểu gen của đa hình G1934A trên gen CYP2D6 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng

Chúng tôi cũng tiến hành phân tích đa hình G1934A của gen CYP2D6 như đa hình G1846T/A bằng kỹ thuật PCR- RFLP thì kết quả thu được cũng chỉ là hai kiểu gen GA và GG. Kết quả này cũng khác với tính toán lý thuyết ban đầu của chúng tôi. Kết quả so sánh giữa hai kiểu gen này ở hai nhóm ung thư phổi và nhóm đối chứng được thực hiện ở bảng 3.37 dưới đây và thu được kết quả tương tự như đa hình G1846T/A.

Bảng 3.37: Kiểu gen của đa hình G1934A trên gen CYP2D6 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng

Kiểu gen \ Nhóm	Nhóm ung thư phổi n (%)	Nhóm đối chứng n (%)	Kết quả
GA	5 (2%)	4 (2%)	$p > 0,05$
GG	215 (98%)	196(98%)	
Tổng	220	200	

Nhận xét: Bảng 3.37 đưa ra sự phân bố kiểu gen và sự khác biệt giữa các kiểu gen ở hai nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm chứng. Ở nhóm chứng, sự phân bố kiểu gen GG chiếm tỷ lệ cao nhất 98%, GA chiếm 2%. Ở nhóm ung thư phổi kiểu gen GG chiếm tỷ lệ cao nhất 98%, GA chiếm 2%. Khi so sánh sự phân bố kiểu gen của hai đa hình này cũng không thấy sự khác biệt giữa hai nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng với $p > 0,05$.

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Ung thư phổi là loại ung thư thường gặp nhất và cũng là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu ở nhiều nước phát triển trên thế giới, cũng như ở các nước đang phát triển trong đó có Việt Nam. Trên thế giới cũng như ở Việt Nam, ung thư phổi đã được nghiên cứu ở nhiều khía cạnh khác nhau nhằm mục đích làm sao điều trị tốt nhất để kéo dài đời sống của người bệnh. Tuy nhiên, những đặc điểm chung của bệnh UTP như tuổi, giới và các yếu tố nguy cơ như hút thuốc lá và giải phẫu bệnh của các nghiên cứu luôn được đề cập, thống kê và báo cáo nhằm đánh giá những đặc điểm chung có thay đổi theo thời gian hay yếu tố địa lý hay không. Qua nghiên cứu 220 bệnh nhân ung thư phổi tại Trung tâm Hô hấp, Trung tâm Y học hạt nhân và ung bướu Bệnh viện Bạch Mai chúng tôi nhận thấy:

4.1.1. Phân bố bệnh theo tuổi

Theo kết quả bảng 3.2 cho thấy tuổi trung bình của 220 bệnh nhân ung thư phổi trong nghiên cứu của chúng tôi là $60 \pm 9,1$ tuổi. Bệnh nhân trẻ tuổi nhất là 28 tuổi và bệnh nhân lớn tuổi nhất là 79 tuổi.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi là tương đương với tuổi trung bình của rất nhiều các nghiên cứu của nhiều tác giả trong nước cũng như các tác giả trên thế giới:

Tác giả Sugimura Haruhiko và cộng sự ghi nhận độ tuổi trung bình bệnh nhân ung thư phổi là $62,1 \pm 11,2$ [45].

Tác giả Ji Hong Pan và cộng sự (2006) ghi nhận độ tuổi trung bình bệnh nhân ung thư phổi là 55 [80].

Tác giả Schneider cùng cộng sự ghi nhận độ tuổi trung bình là $64,4 \pm 8,7$ [81].

Trần Đình Hà, Mai Trọng Khoa và cộng sự (2010) có độ tuổi trung bình là $58,8 \pm 10,3$.

Trần Nguyên Phú (2007) có tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là 58 ± 10 tuổi. Bệnh nhân trẻ nhất là 18 tuổi và lớn tuổi nhất là 78 tuổi [25].

Mặc dù ung thư phổi có thể gặp ở mọi lứa tuổi nhưng trong nghiên cứu của chúng tôi nhóm tuổi bị ung thư phổi gặp nhiều nhất là ở nhóm tuổi từ 40 đến 70. Đặc biệt trong nghiên cứu này, chúng tôi thống kê thấy nhóm tuổi bệnh nhân ung thư phổi gặp nhiều nhất là từ 40 tuổi đến 60 tuổi chiếm 52,3%. Nó phù hợp với báo cáo:

Phạm Hoàng Anh, Nguyễn Hoài Nga, Trần Hồng Trường [4]

Ngô Quý Châu năm 2008 về độ tuổi mắc ung thư phổi cao nhất [5]

Sugimura H và cộng sự đưa ra nhóm tuổi 50 đến 69 chiếm 49,4% [45]

Như vậy qua kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng như các tác giả trước đây đã thực hiện nghiên cứu có thể thấy ung thư phổi có thể gặp ở mọi lứa tuổi, tuy nhiên đối tượng mắc ung thư phổi ở Việt Nam chủ yếu là từ trung niên. Bệnh nhân ung thư phổi tại Việt Nam thường được phát hiện nhiều nhất ở độ tuổi từ 40 tuổi đến 60 tuổi, đó cũng là nhóm tuổi đạt độ chín trong công việc cũng như những đóng góp cho xã hội. Tuy nhiên, trong những năm gần đây bệnh ung thư nói chung bị trẻ hóa đi và ung thư phổi cũng không nằm ngoài quy luật đó, do ngày nay con người phải đối mặt với

ngày càng nhiều các yếu tố nguy cơ như ô nhiễm môi trường tăng cao, việc sử dụng các hóa chất độc hại tràn lan và các chất thải của các nhà máy công nghiệp không được xử lý tốt. Điều này có tác động xấu đến xã hội chúng ta.

4.1.2. Phân bố bệnh theo giới

Theo kết quả nghiên cứu 220 bệnh nhân ung thư phổi tại Bệnh viện Bạch Mai trong thời gian từ tháng 11/2013 đến tháng 11/2015 cho thấy tỷ lệ nam giới chiếm 74,1%, nữ giới chiếm 25,9%. Tỷ lệ nam/nữ theo nghiên cứu của chúng tôi là 2,8/1.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự với các nghiên cứu về ung thư phổi đã được công bố tại Bệnh viện Bạch Mai cũng như các tác giả khác trên thế giới những năm gần đây.

Trần Nguyên Phú và cộng sự năm 2007 với tỷ lệ mắc ung thư phổi ở nam là 71,5% và tỷ lệ nam so với nữ là 2,5/1[25].

Nghiên cứu của Ji Hong Pan cùng cộng sự năm (2006) có tỷ lệ nam giới so với nữ giới có tỷ lệ xấp xỉ 2,5/1 [80].

Wright C M và cộng sự (2010) đưa ra tỷ lệ nam/nữ là 2,3/1 [84]

Theo thống kê của Hiệp hội ung thư Hoa kỳ, năm 2015, số ca ung thư phổi mới phát hiện ở nam giới là 115.000 và ở nữ giới là 106.200. Tại Hoa Kỳ, các nghiên cứu về ung thư phổi cho thấy tỷ lệ ung thư phổi mới phát hiện ở giới nam so với nữ đã gần xấp xỉ nhau [2].

Từ những thống kê về tỷ lệ nam nữ trong nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy, mặc dù có sự giống và khác biệt về tỷ lệ nam nữ so với các nghiên cứu trong nước và thế giới đã được thực hiện trước đây, song kết quả nghiên cứu của chúng tôi là phù hợp với những ghi nhận về tình hình ung thư phổi

trên thế giới cũng như xu hướng gia tăng tỷ lệ ung thư phổi ở nữ giới của nước ta hiện nay.

Hiện nay trên Thế giới cũng như ở Việt Nam có sự thay đổi về tỷ lệ mắc bệnh ung thư phổi ở hai giới như vậy theo chúng tôi là do ngoài nguyên nhân gây ung thư phổi hàng đầu là hút thuốc lá còn có các nguyên nhân khác không ngừng gia tăng do quá trình công nghiệp hóa gây ô nhiễm môi trường, hóa chất độc hại do con người sử dụng, các chất thải từ các nhà máy công nghiệp, bệnh do nghề nghiệp và đặc biệt do đột biến gen xảy ra do tác động của các tác nhân bên ngoài. Chính vì vậy không những có sự thay đổi tỷ lệ mắc bệnh nam/nữ mà còn có sự phân hóa tỷ lệ mắc bệnh giữa thành thị và nông thôn.

4.1.3. Phân bố bệnh theo nguy cơ hút thuốc lá

Hút thuốc lá từ lâu được coi là yếu tố nguy cơ chính gây ung thư phổi, khoảng 90% trong số các ca được chẩn đoán ung thư phổi trên Thế giới là người hút thuốc lá [5]. Khoảng 87% ung thư phổi được nghĩ là do hút thuốc lá hoặc phơi nhiễm khói thuốc lá bị động. Các nghiên cứu ở Việt Nam cũng thấy kết quả tương tự [17],[18],[19]. Mức độ tăng nguy cơ phụ thuộc vào: tuổi bắt đầu hút (hút càng sớm nguy cơ càng cao), số bao-năm (càng lớn nguy cơ càng cao), thời gian hút (càng dài nguy cơ mắc bệnh càng lớn). Những người hút thuốc không bỏ được có nguy cơ ung thư phổi cao gấp 20 lần so với người không hút thuốc [5].

Theo kết quả nghiên cứu ở bảng 3.3 tỷ lệ số bệnh nhân ung thư phổi có hút thuốc lá theo thống kê của chúng tôi là 67%, điều này phù hợp với các nghiên cứu của Bệnh viện Bạch Mai đã công bố trước đây, như các nghiên cứu.

Nguyễn Hải Anh và cộng sự (2004) nghiên cứu trên 873 bệnh nhân ung thư phổi có 53,1% bệnh nhân có hút thuốc. Theo Trần Nguyên Phú (2007) tỷ lệ bệnh nhân hút thuốc lá là 64,2% [25]. Điều này cho thấy, trong những năm gần đây dù cho công tác tuyên truyền về tác hại của thuốc là thì số người hút thuốc bị ung thư phổi vẫn chưa giảm đáng kể cộng thêm ngày nay lại xuất hiện thêm các yếu tố nguy cơ khác gây ung thư phổi như ô nhiễm môi trường, hóa chất độc hại từ các khu công nghiệp...

4.1.4. Phân bố theo giải phẫu bệnh

220 bệnh nhân ung thư phổi trong nghiên cứu của chúng tôi đều được chẩn đoán xác định bằng kết quả mô bệnh học từ các mẫu bệnh qua soi phế quản, chọc hút qua thành ngực...

Theo thống kê tại bảng 3.3 số bệnh nhân ung thư phổi trong nghiên cứu của chúng tôi với chẩn đoán giải phẫu bệnh là ung thư biểu mô tuyến chiếm tỷ lệ cao nhất là 57,7% rồi đến ung thư phổi tế bào vảy chiếm tỷ lệ 36,8% và cuối cùng là ung thư phổi tế bào nhỏ chiếm 5,5%. Điều này phù hợp với các nghiên cứu trong và ngoài nước về phân bố giải phẫu bệnh đã được nghiên cứu trước đây [46], [80],[81] và cho thấy, ung thư phổi ở Việt Nam, loại ung thư phổi không tế bào nhỏ gồm ung thư biểu mô tuyến và ung thư tế bào vảy theo phân loại mô bệnh học của WHO vẫn là loại ung thư phổi chiếm tỷ lệ cao nhất.

4.2. Mối liên quan giữa CYP P450 và ung thư phổi

Như đã trình bày ở trên, ung thư phổi đã được các tác giả trong nước và nước ngoài nghiên cứu ở nhiều khía cạnh khác nhau, đặc biệt trong lĩnh vực đột biến gen để nhằm mục đích điều trị hiệu quả nhất cho người bệnh cũng như việc tiếp cận những phương pháp điều trị mới như điều trị đích và

phương pháp điều trị miễn dịch. Tuy nhiên ở Việt Nam, các nghiên cứu về đột biến gen cũng như sự phân bố của các đa hình thái của các gen liên quan đến ung thư phổi còn hạn chế, đặc biệt các nghiên cứu về hệ thống CYP P450 và ung thư phổi thì chưa có nghiên cứu nào đề cập tới cũng như vai trò tác động của các yếu tố nguy cơ như hút thuốc lá, tuổi và giới tác động nên quá trình hình thành và phát triển của ung thư phổi thông qua hệ thống CYP P450 thì lại càng ít các nghiên cứu đề cập đến.

Như chúng tôi đã trình bày một cách khái quát ở phần tổng quan thì hệ thống CYP P450 đóng vai trò quan trọng như chìa khóa trong chuyển hóa và bài tiết các chất nội sinh và ngoại sinh, trong đó có các chất gây ung thư khác nhau như hydrocacbon có nhân thơm, các amin dị vòng, nitrosamine, thuốc nhuộm azo... Một số cytochrome P450 lại là các chất gây ung thư, trong khi đó nhiều cytochrome P450 khác lại đóng vai trò là những thuốc chống ung thư. Do đó, cytochrome đóng vai trò quan trọng trong việc hình thành và phát triển khối u cũng như là đào thải các thuốc, các chất độc trong cơ thể.

Trong các CYPs thì CYP1A1 và CYP2D6 là những enzym chính hoạt hóa các chất gây ung thư sinh ra từ khói thuốc như nicotine và các hydrocarbon có nhân thơm. Khi mức độ biểu hiện và hoạt tính của các enzym này được tăng cường sẽ làm tăng khả năng hoạt hoá các chất gây ung thư. Các chất gây ung thư này (đã được hoạt hóa) có thể gắn vào và làm tổn thương DNA, gây đột biến gen, đặc biệt là trên vùng NST 15q24–15q25.1 chứa 2 gen mã hóa các tiểu đơn vị của thụ thể nicotinic acetylcholine alpha điều hòa quá trình phối nhiễm với nicotine [42],[43]. Mối liên quan giữa các đa hình thái của gen CYP1A1 và CYP2D6 cũng như theo phân loại giải phẫu bệnh cùng với các yếu tố nguy cơ là hút thuốc lá, tuổi, giới đến sự phát sinh phát triển ung thư phổi sẽ được chúng tôi nghiên cứu, phân tích trong đề tài này.

4.2.1. Tính đa hình thái và sự phân bố kiểu gen CYP1A1 với ung thư phổi

Trong cộng đồng người châu Á, các đa hình thái của gen CYP1A1 đã được xác định làm tăng nguy cơ mắc ung thư phổi so với cộng đồng người châu Âu và châu Mỹ theo các nghiên cứu của Cosma và cộng sự 1993; Garte và cộng sự 1998 [41],[52]. Từ đầu những năm 1990, một số tác giả người Nhật đã nghiên cứu về mối liên quan giữa các đa hình của gen CYP1A1 và ung thư phổi, như nghiên cứu đối với người dân Nhật Bản của tác giả Kawajiri và cộng sự năm 1990 [40]; Hayashi và cộng sự 1992 cũng đã chỉ ra mối liên quan giữa kiểu gen CYP1A1 và nguy cơ ung thư phổi, đặc biệt ở ung thư phổi biểu mô tuyến và UTP tế bào nhỏ. Ở Việt Nam, các nghiên cứu về mối liên quan giữa đa hình gen CYP1A1 và nguy cơ mắc ung thư phổi còn hạn chế. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện để hiểu rõ hơn về mối liên quan giữa các kiểu gen của các đa hình trên gen CYP1A1 với ung thư phổi, cụ thể ở đây chúng tôi đề cập đến các đa hình m1, m2, m3, m4 của gen CYP1A1 với bệnh UTP.

Năm 1990, Kawajiri và cộng sự lần đầu tiên công bố mối liên quan giữa kiểu gen CYP1A1 với ung thư phổi trong một quần thể người châu Á. Khi đó, tác giả mới chỉ đưa ra kết luận kiểu gen CYP1A1 được tìm thấy ở những người mắc ung thư phổi có tỷ lệ cao gấp 3 lần so với nhóm khỏe mạnh, đặc biệt ở kiểu gen CYP1A1 m2 [40], còn các đa hình khác chưa được tác giả đề cập tới. Năm 1993, nghiên cứu của Cosma và cộng sự cho thấy đa hình T6235C của gen CYP1A1 hay m1 ở cộng đồng người châu Á có tương quan với nguy cơ mắc ung thư phổi cao hơn so với cộng đồng người da trắng và châu Mỹ [41].

Ở Nhật, cùng thời điểm năm 1993, Kei Nakachi và cộng sự đưa ra kết luận kiểu gen CYP1A1 m1, m2 của gen CYP1A1 không chỉ có tỷ lệ cao ở người bị ung thư phổi mà còn có tỷ lệ cao ở những người ung thư tế bào vảy của phổi. Năm 1998 Sugimura H và cộng sự kết luận kiểu gen CYP1A1 với đột biến điểm m2 có nguy cơ cao mắc ung thư phổi với $OR = 3,32$ với $p = 0,013$ so với nhóm đối chứng, đặc biệt ở ung thư phổi tế bào vảy và ung thư phổi tế bào nhỏ với OR lên tới 4,85 và 9,35 [45].

Ở Trung Quốc, theo các nghiên cứu của Hong và cộng sự (1998), Bastsch và cộng sự (2000), Song và cộng sự năm (2000) phát hiện thấy có mối liên quan giữa kiểu gen CYP1A1 m1 và m2 với nguy cơ ung thư phổi. Những phân tích chỉ ra các đa hình của gen CYP1A1 làm tăng nguy cơ ung thư phổi đối với những người có ít nhất một allele m1 với $OR = 2,0$ (95% CI = 1,4 - 2,8) hoặc có ít nhất một allele m2 với $OR = 1,9$ (95% CI = 1,3 - 2,7). Kiểu gen m1, m2 có tỷ lệ tăng cao hơn ở những người có ung thư phổi tế bào vảy đặc biệt cùng với yếu tố nguy cơ hút thuốc lá thì OR lên tới 9,1 và 29,9 [38],[43],[46].

Theo nghiên cứu của Sobti và cộng sự (2003, 2004) ở cộng đồng người Ấn Độ cũng thấy mối liên quan giữa kiểu gen CYP1A1 với nguy cơ mắc ung thư phổi và cũng tương tự nghiên cứu của Sreeja và cộng sự (2005) ở cộng đồng người dân ở phía Nam của Ấn Độ [48],[51]. Năm 2010, Jose và cộng sự kết luận đa hình CYP1A1 m1, m2 và m4 làm tăng nguy cơ ung thư phổi đặc biệt ở ung thư phổi tế bào vảy và tế bào nhỏ ở cộng đồng người da trắng của Tây Ban Nha [50]. Năm 2011, nghiên cứu Chen và CS phát hiện thấy có mối liên quan chặt chẽ giữa ung thư phổi với với các kiểu gen CYP1A1*2A (m1) và CYP1A1*2B (m2); trong đó kiểu gen CYP1A1*2B

(m2) với sự thay đổi acid amin tại vị trí 462 (Ile → Val) được chỉ ra là yếu tố nguy cơ cao gây ung thư phổi trên các đối tượng người châu Á [49].

Năm 2016, nghiên cứu mới nhất của Peddireddy và cộng sự cũng cho thấy có mối liên quan chặt chẽ giữa nguy cơ ung thư phổi của đa hình m1 của gen CYP1A1 với OR = 2,25 (95% CI = 1,16 - 4,37) và đa hình m2 cũng của gen CYP1A1 với OR = 8,82 (95% CI = 5,67 - 13,72) ở cộng đồng người dân mắc ung thư phổi ở phía nam của Ấn Độ [82].

Theo kết quả nghiên cứu ở bảng 3.4 của chúng tôi cho thấy sự phân bố kiểu gen TT, TC và CC của đa hình T6235C trên gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi lần lượt là 50 (22,7%), 121 (55,0%), 49 (22,3%) là khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,02$ so với sự phân bố kiểu gen TT, TC và CC của đa hình T6235C ở nhóm đối chứng lần lượt là 70 (35,0%), 95 (47,5%), 35 (17,5%). Điều này phù hợp với rất nhiều các nghiên cứu về đa hình T6235C của gen CYP1A1 của các tác giả châu Á đã được công bố như Sheikh M Shaffi cùng cộng sự năm 2009 [83], C. M. Wringht cùng cộng sự 2010 [84] và Nan song và cộng sự năm 2011[46], đặc biệt phù hợp với kết quả nghiên cứu mới nhất năm 2016 của Peddireddy và cộng sự [82]. Sự phân bố kiểu gen TT, TC và CC theo phân loại giải phẫu bệnh của nhóm bệnh nhân ung thư phổi có kết quả lần lượt là; nhóm ung thư biểu mô tuyến kiểm gen TT chiếm 33 (26%), TC chiếm 69 (54,3%), CC chiếm 25 (19,7%) không có sự khác biệt so với nhóm đối chứng với $p < 0,23$. Nhóm ung thư tế bào vảy có kiểu gen TT chiếm 15 (18,5%), TC chiếm 47 (58,0%), CC chiếm 19 (23,5%) có sự khác biệt so với nhóm đối chứng với $p < 0,02$. Nhóm ung thư phổi tế bào nhỏ có kiểu gen TT chiếm 2 (16,8%), TC chiếm 5 (41,6%), CC chiếm 5 (41,6%) không có sự khác biệt so với nhóm đối chứng với $p < 0,09$. Kết quả này phù hợp kết quả đã được công bố của Nan song và cộng sự với sự khác

biệt của nhóm ung thư phổi tế bào vảy so với nhóm chứng $p < 0,002$ [46]. Sheikh M Shaffi cùng cộng sự năm 2009 [83] cho kết quả khác biệt có ý nghĩa ở nhóm ung thư tế bào vảy với $p < 0,001$. Peddireddy và cộng sự 2016 [82]... Từ những phân tích trên càng cho thấy sự phân bố kiểu gen TT, TC và CC của đa hình CYP1A1 T6235C (m1) là khác biệt có ý nghĩa so với nhóm đối chứng, đặc biệt ở nhóm ung thư phổi tế bào vảy lại càng có ý nghĩa hơn.

Chúng tôi cũng đã tiến hành phân tích kiểu gen AA, AG và GG của đa hình A4889C (m2) trên gen CYP1A1 cũng như theo từng nhóm giải phẫu bệnh như đa hình m1 được kết quả tại bảng 3.11 là 85 (38,6%), 103 (46,8%), 32 (14,6%) và không cho thấy sự khác biệt với nhóm đối chứng với $p < 0,4$, nhóm ung thư phổi biểu mô tuyến với $p < 0,4$, nhóm ung thư phổi tế bào vảy với $p < 0,7$, nhóm ung thư phổi tế bào nhỏ với $p < 0,8$. Kết quả này ở đa hình m2 của chúng tôi là không phù hợp với kết quả của một số tác giả châu Á [46],[83]. Đồng thời khi phân tích kiểu gen TC, TT của đa hình T5639C (m3), kiểu gen CA, CC của đa hình C4887A (m4) trên gen CYP1A1 ở bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng được thể hiện ở các bảng 3.19, 3.20 cũng không cho thấy sự khác biệt so với nhóm đối chứng với giá trị $p > 0,05$. Kết quả này trái ngược với kết quả của một số tác giả châu Âu khi nghiên cứu về các đa hình m2, m3, m4 của gen CYP1A1 ở cộng đồng người da trắng như của Carmen San Jose và cộng sự năm 2010, Wenzlaff. A. S và cộng sự năm 2005 [50],[85] cũng như trái với kết quả nghiên cứu mới nhất của Peddireddy và cộng sự về CYP1A1 m2 [82]. Điều này có thể lý giải, trong nghiên cứu của chúng tôi do số lượng mẫu có thể là chưa đủ lớn để đạt được kết quả như các tác giả châu Á, châu Âu. Nhưng theo bàn luận của chúng tôi cũng như các nghiên cứu của các tác giả châu Á thì lý do chính cho sự khác biệt này có thể giải thích là do chủng tộc người châu Á hay các yếu tố vùng địa lý khác nhau

thì có biểu hiện các đa hình khác nhau và khác với cộng đồng người châu Âu. Theo kết quả nghiên cứu của rất nhiều các tác giả châu Á như ở Nhật, Trung Quốc, Hàn Quốc và Ấn Độ thì mỗi nghiên cứu cũng chỉ tìm thấy sự khác biệt ở một hoặc hai đa hình trên một gen mà thôi. Tuy vậy, khi chúng tôi phân tích yếu tố nguy cơ như là hút thuốc lá hay theo phân loại giải phẫu bệnh lý thì lại thấy có sự tương đồng với các nghiên cứu của các tác giả châu Âu, châu Á mà sẽ được chúng tôi bàn luận ở phần yếu tố nguy cơ.

Chúng tôi cũng tiến hành so sánh và phân tích sâu hơn kiểu gen (TC-CC) của đa hình T6235C trên gen CYP1A1 với kiểu gen đồng hợp tử nguyên thủy TT (kiểu gen theo các tác giả nước ngoài gọi là kiểu gen nguyên thủy) giữa nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng để tìm ra tỷ suất chênh hay nguy cơ mắc khi mang các kiểu gen này. Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.5 của chúng tôi cho thấy kiểu gen TC và CC của đa hình T6235C (m1) trên gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi là khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với kiểu gen đồng hợp tử TT ở nhóm đối chứng với tỷ suất chênh $OR = 1,83$ (95% CI = 1,17 - 2,88) với $p < 0,005$. Kết quả này vô cùng ý nghĩa và phù hợp với rất nhiều các nghiên cứu như của; Nan song và cộng sự năm 2011 với $OR = 2,0$ (95% CI = 1,4 - 2,8) $p < 0,002$ [46], Joachim Schneider và cộng sự năm 2004 có $OR = 1,06$ (95% CI = 1,06 - 1,6) [81], Peddireddy và cộng sự 2016 [82], Sheikh M Shaffi cùng cộng sự năm 2009 với $OR = 2,65$ (95% CI = 1,56 - 4,49) $p < 0,002$ [83]. Khi phân tích các kiểu gen này theo từng nhóm giải phẫu bệnh mà kết quả tại bảng 3.5 cho thấy nhóm ung thư phổi biểu mô tuyến có $OR = 1,53$ (95% CI = 0,91 - 2,6) không cho thấy sự khác biệt so với nhóm đối chứng với $p < 0,9$. Nhóm ung thư tế bào vảy có $OR = 2,37$ (95% CI = 1,22 - 4,79) là khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng với $p < 0,006$. Kết quả này tương tự kết quả của Sheikh M Shaffi

cùng cộng sự năm 2009 với $OR = 3,30$ (95% $CI = 1,72 - 6,32$) $p < 0,0001$ [83], Nan song và cộng sự năm 2011 với $OR = 2,2$ (95% $CI = 1,4 - 3,5$) $p < 0,05$ [46]. Nhóm ung thư tế bào nhỏ $OR = 2,69$ (95% $CI = 0,55 - 25,8$) nhưng không có sự khác biệt với $p < 0,2$. Từ những phân tích trên càng cho thấy kiểu gen TC và CC của đa hình T6235C của gen CYP1A1 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi là làm tăng nguy cơ mắc ung thư phổi hay là tăng có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng theo nghiên cứu của chúng tôi.

Ở đa hình A4889G của gen CYP1A1 hay m2 khi so sánh kiểu gen AG-GG ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi với kiểu gen AA ở nhóm đối chứng được thể hiện ở bảng 3.12; Nhóm ung thư phổi nói chung có $OR = 1,30$ (95% $CI 0,86 - 1,95$) $p < 0,18$. Nhóm ung thư phổi biểu mô tuyến có $OR = 1,35$ (95% $CI 0,83 - 2,17$) $p < 0,2$. Nhóm ung thư phổi tế bào vảy có $OR = 1,25$ (95% $CI 0,71 - 2,19$) $p < 0,4$ nhưng đều không có sự khác biệt so với nhóm đối chứng và trái ngược với kết quả của đa hình CYP1A1 T6235C hay m1. Kết quả này cũng trái ngược với kết quả của một số tác giả người châu Á như Nan song và cộng sự năm 2011 với $OR = 1,9$ (95% $CI = 1,3 - 2,7$) $p < 0,002$ [46], Peddireddy và cộng sự 2016 [82], Sheikh M Shaffi cùng cộng sự năm 2009 với $OR = 2,24$ (95% $CI = 1,35 - 3,73$) $p < 0,002$ [83]. Nhưng kết quả này lại tương tự như một số nghiên cứu của các tác giả châu Âu như Joachim Schneider và cộng sự năm 2004 có $OR = 1,09$ (95% $CI = 0,63 - 1,88$) [81], Paula Mota và cộng sự năm 2010 có $OR = 1,1$ (95% $CI = 0,7 - 1,7$) [86]. Khi phân tích theo các nhóm giải phẫu bệnh thì cũng thu được kết quả tương tự là chưa tìm thấy sự khác biệt so với nhóm đối chứng. Từ phân tích này cho thấy kiểu gen A4889G hay m2 trong nghiên cứu của chúng tôi chưa cho thấy sự khác biệt giữa nhóm bệnh nhân ung thư phổi và đối chứng như đa hình

T6235C hay m1 nhưng nó cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả châu Âu.

Kết quả so sánh sự phân bố kiểu gen tại bảng 3.18 giữa đa hình T6235C (m1) và đa hình A4889G (m2) trên gen CYP1A1 lại cho thấy sự khác biệt rất rõ ràng với $p < 0,001$ như kết quả của tác giả Paula Mota và cộng sự năm 2010 đã công bố với p cũng $< 0,001$ [86]. Đặc biệt ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi mang kiểu gen dị hợp tử ở cả hai đa hình m1(TC) và m2 (AG) chiếm tỷ lệ cao nhất 77 (74,8%). Điều này cho thấy sự độc lập giữa hai đa hình và càng minh chứng cho việc đa hình m1 trong nghiên cứu của chúng tôi là tăng có ý nghĩa so với nhóm đối chứng và cũng như đã tìm thấy mối liên quan làm tăng nguy cơ ung thư phổi như kết quả của các tác giả châu Á và châu Âu đã công bố, trong khi các đa hình m2, m3, m4 thì chưa tìm thấy mối liên quan làm tăng nguy cơ ung thư phổi theo nghiên cứu của chúng tôi.

4.2.2. Tính đa hình thái và sự phân bố kiểu gen CYP2D6 với ung thư phổi.

Hệ thống CYP P450 đóng vai trò quan trọng trong chuyển hóa và bài tiết các chất nội sinh và ngoại sinh, trong đó có các chất gây ung thư khác nhau như hydrocarbon có nhân thơm, các amin dị vòng, nitrosamine và thuốc nhuộm azo [11],[29]. Nhiều cytochrome P450 là các chất gây ung thư, trong khi nhiều cytochrome P450 lại đóng vai trò là những thuốc chống ung thư. Do đó, cytochrome đóng vai trò quan trọng việc hình thành và phát triển khối u [19]. Từ những năm 1990 Caporaso và cộng sự đã nghiên cứu thấy mối liên quan giữa ung thư phổi và CYP2D6 [87]. Tiếp sau đó, năm 1996 Bouchardy và cộng sự thực hiện nghiên cứu 128 bệnh nhân ung thư phổi và 157 đối chứng về mối liên quan với CYP2D6 [88]. Nghiên cứu của London SJ năm 1997 đưa ra kết luận về mối liên quan giữa CYP2D6 và ung thư phổi ở người

Châu Mỹ gốc Âu và gốc Mỹ, đặc biệt ở ung thư phổi biểu mô tuyến có tỷ suất chênh $OR = 3,61$ (95% $CI = 1,08 - 11,7$) với người gốc Mỹ, $OR = 2,20$ (95% $CI = 1,69 - 6,0$) với người gốc Âu. Ông cũng khuyến cáo cần thêm những nghiên cứu khác sâu hơn và nhiều hơn về genotype của gen CYP2D6 [89].

Năm 2005, Guo Zhanlin và cộng sự đưa ra kết luận những người mang kiểu genotype không T/T (TC và CC) của gen CYP2D6 có nguy cơ mắc ung thư phổi tế bào vảy với $OR = 2,084$ (95% $CI = 1,024 - 4,244$) $p = 0,043$ so với người mang genotype T/T của gen CYP2D6. Đặc biệt ở người hút thuốc lá mang hai genotype này có nguy cơ mắc ung thư phổi cao gấp 2,92 so với người mang genotype T/T (95% $CI = 1,087 - 7,828$) [90]. Nghiên cứu gần đây của Kang Hui và cộng sự năm 2011 kết luận genotype C4268/C của gen CYP2D6 như là nhân tố bảo vệ ở những người không hút thuốc và làm giảm nguy cơ mắc ung thư phổi [91].

Tomohiro S và các cộng sự (2012) ở Nhật Bản đã tiến hành nghiên cứu khảo sát ảnh hưởng của enzym CYP2D6 đến sự chuyển hóa thuốc Gefitinib và Erlotinib là 2 thuốc được sử dụng điều trị ung thư phổi trên lâm sàng. Tiến hành trên 256 bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ được điều trị bằng Gefitinib và 94 bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ được điều trị bằng Erlotinib. Kết quả cho thấy rằng, những bệnh nhân được điều trị bằng Gefitinib mà có hoạt động của enzym CYP2D6 giảm thì có tần số bị phát ban cao hơn nhiều so với bệnh nhân có hoạt động của enzym CYP2D6 bình thường. Như vậy, kiểu hình của gen CYP2D6 là một yếu tố nguy cơ gây phát ban trên những bệnh nhân ung thư phổi điều trị bằng Gefitinib. Nguy cơ này tăng cao hơn rất nhiều nếu các đối tượng đồng thời mang kiểu gen CYP2D6* (HEM). Kiểu gen này cũng gây ra mối nguy cơ đối với ung thư phổi cao gấp 7 lần trên các đối tượng hút thuốc lá lâu năm so với những người không hút thuốc. Bên cạnh đó

nhiều nghiên cứu cũng đã được thực hiện để đánh giá mối tương quan giữa các kiểu gen khác nhau của CYP2D6 với sự hình thành ung thư phổi trên các đối tượng hút thuốc lá lâu năm [79].

Ở Việt Nam, các nghiên cứu về mối liên quan giữa đa hình gen CYP2D6 và nguy cơ mắc ung thư phổi đặc biệt liên quan đến yếu tố nguy cơ như hút thuốc lá còn hạn chế. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện để hiểu rõ hơn về mối liên quan giữa các kiểu đa hình trên gen CYP2D6 với ung thư phổi cùng với yếu tố nguy cơ là hút thuốc lá.

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.21 của chúng tôi cho thấy, tỷ lệ kiểu gen GG, GC, CC của đa hình G4268C của gen CYP2D6 lần lượt là 26 (11,8%), 126 (57,3%), 68 (30,9%) là khác biệt rất có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$ so với nhóm đối chứng với kiểu gen GG, GC, CC lần lượt là 28 (14,0%), 51 (25,5%), 121 (60,5%). Đặc biệt khi chúng tôi phân tích từng kiểu gen này theo phân loại giải phẫu bệnh lại càng cho thấy sự khác biệt. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.21 như sau; Nhóm ung thư phổi biểu mô tuyến kiểu gen GG 14 (11,0%), kiểu gen GC 72 (56,7%), kiểu gen CC (32,3%). Nhóm ung thư phổi tế bào vảy kiểu gen GG chiếm 11 (13,6%), GC chiếm 46 (56,8%), CC chiếm 24 (29,6) đều khác biệt rất có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$ so với nhóm đối chứng. Kết quả này là tương tự với các nghiên cứu của Tomohiro Suzumra cùng cộng sự năm 2012, Bouchardy và cộng sự, London SJ và cộng sự, Zhanlin Guo và cộng sự năm 2005 [79],[88],[89],[90].

Tại bảng 3.22 khi chúng tôi tiến hành so sánh kiểu gen không C4268C bao gồm kiểu gen GC và GG của đa hình G4268C trên gen CYP2D6 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi nói chung với nhóm đối chứng thì cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê rất cao với $OR = 3,42$ (95% CI = 2,24 - 5,22) $p <$

0,001. Kết quả này có ý nghĩa và phù hợp với báo cáo mới nhất của Tomohiro S và cộng sự (2012) [79], Zhanlin Guo và cộng sự năm 2005 [90], Kang Hui và cộng sự năm 2011 với $OR = 1,73$ (95% $CI = 1,02 - 2,95$) [91]. Khi phân tích theo từng nhóm giải phẫu bệnh thì ở nhóm ung thư phổi biểu mô tuyến có $OR = 3,21$ (95% $CI = 1,96 - 5,28$) $p < 0,001$ so với Kang Hui và cộng sự năm 2011 ở loại giải phẫu bệnh này có $OR = 2,75$ (95% $CI = 1,27 - 5,94$) [91]. Nhóm ung thư phổi tế bào vảy có $OR = 3,63$ (95% $CI = 2,02 - 6,63$) $p < 0,001$. Nhóm ung thư phổi tế bào nhỏ có $OR = 4,59$ (95% $CI = 1,1 - 26,99$) $p < 0,02$. Kết quả này tương đương kết quả của Zhanlin Guo và cộng sự năm 2005 với OR ở nhóm ung thư tế bào vảy có $OR = 2,084$ (95% $CI = 1,02 - 4,244$) $p < 0,04$ [90]. Từ phân tích trên chúng tôi thấy sự phân bố kiểu gen của đa hình G4268C trên gen CYP2D6 là khác biệt và tăng có ý nghĩa ở nhóm ung thư phổi so với nhóm đối chứng theo kết quả nghiên cứu của chúng tôi.

Chúng tôi cũng tiến hành phân tích, so sánh kiểu gen CC, CT, TT của đa hình C188T trên gen CYP2D6 của nhóm bệnh nhân ung thư phổi với nhóm đối chứng và cho kết quả tại bảng 3.28 với kiểu gen CC, CT, TT lần lượt là 32 (14,5%), 73 (32,2%), 115 (52,3%) nhưng chưa tìm thấy sự khác biệt với nhóm đối chứng với $p < 0,8$ và kiểu gen CC, CT, TT ở nhóm đối chứng lần lượt là 26 (13%), 71 (35,5%), 103 (51,5%). Khi chúng tôi chia nhóm bệnh nhân ung thư phổi theo từng loại giải phẫu bệnh và phân tích như đa hình G4268C thì cũng thu được kết quả không có sự khác biệt so với nhóm đối chứng với $p < 0,6$. Kết quả này là khác biệt với tác giả Tomohiro Suzumra cùng cộng sự cũng như một số tác giả Nhật Bản và Trung Quốc [79],[83]. Nhưng cũng có thể lý giải được như đa hình m2 của gen CYP1A1 do số lượng nghiên cứu của chúng tôi có thể là chưa đủ lớn hay là yếu tố địa lý ảnh hưởng đến sự phân bố kiểu gen do vậy chúng tôi chưa có được kết quả như

mong đợi. Cũng tương tự như trên, chúng tôi tiến hành so sánh đa hình G1846T/A và đa hình G1934A trên gen CYP2D6 của nhóm bệnh nhân ung thư phổi với nhóm đối chứng cũng chưa tìm thấy sự khác biệt với $p > 0,05$. Kết quả này được thể hiện tại bảng 3.36 và bảng 3.37. Đặc biệt ở bảng 3.29 khi chúng tôi phân tích sâu hơn để tìm nguy cơ làm tăng ung thư phổi khi mang kiểu gen không T188T bao gồm kiểu gen CT và CC của đa hình C188T trên gen CYP2D6 giữa nhóm bệnh nhân ung thư phổi với nhóm đối chứng cho kết quả ở nhóm ung thư phổi nói chung với $OR = 0,97$ (95% CI = 0,65-1,45) là không có ý nghĩa thống kê và trái ngược với kết quả của Yan Zhen và cộng sự với $OR = 1,7$ (95% CI = 1,01 - 2,92), đặc biệt ở nhóm ung thư phổi tế bào vảy kết quả của tác giả có $OR = 2,49$ (95% CI = 1,07 - 5,79) còn kết quả của chúng tôi chỉ là $OR = 0,77$ (95% CI = 0,44 - 1,3) cũng không cho thấy sự khác biệt [92]

Chúng tôi cũng tiến hành so sánh các kiểu gen của đa hình G4268C và đa hình C188T của cùng một gen CYP2D6 tại bảng 3.35 thì cho thấy sự phân bố các gen GG, GC, CC của đa hình G4268C với kiểu gen CC, CT, TT của đa hình C188T là khác biệt rất rõ ràng với $p < 0,001$. Điều này giải thích tại sao dưới sự tác động của các yếu tố nguy cơ, cũng như sự thay đổi của các đa hình thái đơn là độc lập với nhau. Ở đa hình G4268C thì chúng tôi thấy khác biệt rất rõ ràng còn ở đa hình C188T trên cùng gen CYP2D6 lại chưa cho thấy sự khác biệt như các tác giả của Nhật, Trung Quốc và Ấn Độ [83],[91],[92]. Điều này cho thấy giữa các đa hình trên cùng một gen cũng có sự thay đổi khác nhau dưới tác động với yếu tố nguy cơ cũng như khả năng gây bệnh độc lập nhau.

Như đa hình m1 và m2 của gen CYP1A1, ở hai đa hình G4268C và C188T cũng có kiểu gen dị hợp tử CT - GC có tỷ lệ mắc ung thư phổi cao

nhất, kiểu gen đồng hợp tử CC-GG có tỷ lệ thấp nhất và như là yếu tố bảo vệ ở người không hút thuốc, đặc biệt ở kiểu gen đồng hợp tử CC của đa hình G4268C trên gen CYP2D6 như nghiên cứu Kang Hui và cộng sự công bố năm 2011[91].

4.3. Sự tác động của các yếu tố nguy cơ lên ung thư phổi

4.3.1. Yếu tố về tuổi

Ung thư phổi theo nghiên cứu của chúng tôi cũng như các nghiên cứu khác trên Thế giới thường gặp nhiều nhất ở nhóm tuổi 40 đến 60, dưới 40 tuổi ít gặp và trên 70 tuổi tỷ lệ cũng thấp. Theo kết quả nghiên cứu của chúng tôi chỉ có 1,8% số bệnh nhân ung thư phổi dưới 40 tuổi còn lại là nhóm tuổi > 40 tuổi. Tuy nhiên ung thư phổi có thể gặp ở bất kỳ tuổi nào [5]. Trong nghiên cứu của chúng tôi khi phân tích các kiểu gen của các đa hình CYP1A1, CYP2D6 theo nhóm tuổi tại các bảng 3.10, 3.17, 3.27 đều cho một kết quả trung là ở lứa tuổi 40 đến 60 là có nguy cơ mắc ung thư phổi cao nhất với kết quả $OR = 1,89$ (95% CI = 1,07 - 4,51) $p < 0,05$ đối với đa hình T6235C (m1), $OR = 2,22$ (95% CI = 1,02 - 4,87) $p < 0,02$ đối với đa hình A4889G (m2) trên gen CYP1A1 và $OR = 2,66$ (95% CI = 1,21 - 5,84) $p < 0,007$ của đa hình G4268C trên gen CYP2D6. Kết quả này cho thấy ở độ tuổi 40 đến 60 cùng với sự tác động của các yếu tố nguy cơ cũng như những thay đổi kiểu gen ở trên thì nguy cơ mắc ung thư phổi rất cao và kết quả này cũng tương đồng với rất nhiều các báo cáo đã được công bố trên Thế giới [42],[46],[82],[83].

4.3.2. Yếu tố về giới

Cùng với yếu tố về tuổi thì yếu tố về giới cũng là một nhân tố tác động đến sự hình thành và phát sinh ung thư phổi, như ở nam giới với sự tác động của yếu tố nguy cơ là hút thuốc lá, thuốc Lào thì các báo cáo trên thế giới đều cho thấy tỷ lệ mắc ung thư phổi ở nam cao hơn nữ và xấp xỉ

3/1[1],[2],[5]. Theo kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng không phải là ngoại lệ với tỷ lệ 2,8/1, mặc dù các báo cáo gần đây chỉ ra tỷ lệ này ngày càng được thu hẹp.

Khi phân tích kết quả về sự phân bố kiểu gen của các đa hình trên gen CYP1A1 và CYP2D6 chúng tôi thấy rõ sự khác biệt ở hai giới nam và nữ; ở đa hình T6235C trên gen CYP1A1 ở nữ giới với kết quả bảng 3.9 có OR = 1,53 (95% CI = 0,66-3,61) và không có ý nghĩa thống kê trong khi ở nam giới có OR = 1,98 (95% CI = 1,14 - 3,45) là khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng $p < 0,05$. Đa hình A4889G trên gen CYP1A1 cũng cho kết quả tương tự giữa nữ có OR = 1,16 (95% CI = 0,55 - 2,45) cũng không có ý nghĩa thống kê trong khi ở nhóm nam có OR = 1,3 (95% CI = 1,08 - 2,15). Đặc biệt trên đa hình G4268C của gen CYP2D6 lại càng cho thấy sự khác biệt giữa nữ giới với OR = 2,35 (95% CI = 1,09 - 5,12) so với nam OR = 4,11 (95% CI = 2,43 - 6,97). Kết quả này cho thấy cùng với yếu tố nguy cơ là hút thuốc lá thì những thay đổi kiểu gen luôn làm tăng nguy cơ mắc ung thư phổi một cách có ý nghĩa ở nam so với nữ giới.

4.3.3. Thói quen hút thuốc lá với sự phân bố kiểu gen CYP1A1, CYP2D6 và ung thư phổi

Theo Tổ chức Y tế Thế giới, trong thế kỷ XX, hút thuốc lá, thuốc Lào, xì gà, tẩu hoặc các dạng hút thuốc khác có đốt sợi thuốc lá đã gây chết 100 triệu người trên toàn thế giới. Hiện nay hút thuốc lá giết hại khoảng 5 triệu người [27]. Những người hút thuốc có tuổi thọ trung bình ngắn hơn người không hút thuốc 5-8 năm và làm tăng tỷ lệ tử vong 30 - 80% chủ yếu do mắc bệnh ung thư phổi, bệnh phổi mạn tính tắc nghẽn và các bệnh tim mạch.

Khói thuốc lá chứa hơn 4000 loại hóa chất, 200 loại có hại cho sức khỏe, khoảng 60 chất gây ung thư trong số đó có hợp chất thơm có vòng đóng

như: 3-4 benzopyren, các dẫn chất hydrocacbon đa vòng có khí nitơ, aldehyt, nitrosamine, ceton [5].

Hút thuốc lá được coi là yếu tố nguy cơ chính gây ung thư phổi, khoảng 90% trong số các ca được chẩn đoán ung thư phổi trên Thế giới là người hút thuốc lá [3]. Khoảng 87% ung thư phổi được nghĩ là do hút thuốc lá hoặc phơi nhiễm khói thuốc lá bị động. Các nghiên cứu ở Việt Nam cũng thấy kết quả tương tự [9],[19].

Bảng 3.6 cho thấy mối liên hệ giữa kiểu gen TC, CC của đa hình T6235C (m1) trên gen CYP1A1 so với kiểu gen nguyên thủy TT giữa nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng với yếu tố nguy cơ là hút thuốc lá với kết quả OR tăng dần từ không hút thuốc đến hút thuốc, từ hút < 20 bao/năm đến ≥ 20 bao/năm; OR = 1,66 (95% CI = 0,83 - 3,36) nhóm không hút thuốc, OR = 1,91 (95% CI = 0,97 - 3,72) nhóm hút thuốc, OR = 1,51 (95% CI = 0,59 - 3,93) nhóm hút < 20 bao/năm, OR = 1,96 (95% CI = 0,59 - 6,01) nhóm ≥ 20 bao/năm. Khi chúng tôi phân tích yếu tố nguy cơ hút thuốc và kiểu gen theo phân loại giải phẫu bệnh thì kết quả thấy rõ nhất ở nhóm ung thư phổi tế bào vảy với OR ở nhóm hút thuốc OR = 3,32 (95% CI = 0,96 - 5,81) cao hơn rõ ràng so với nhóm không hút thuốc OR = 2,44 (95% CI = 0,74 - 10,4). Cũng tương tự ở bảng 3.13, 3.14, 3.15 kiểu gen AG, GG của đa hình A4889G (m2) của gen CYP1A1 giữa nhóm bệnh nhân ung thư phổi và nhóm đối chứng với yếu tố nguy cơ là hút thuốc cũng cho kết quả tương tự. Tuy nhiên, kết quả của chúng tôi chưa cho thấy sự khác biệt chặt chẽ ở hai đa hình T6235C, A4889G của gen CYP1A1 so với với kết quả nghiên cứu của các tác giả đã được công bố trên thế giới về mối liên quan giữa hút thuốc lá và nguy cơ mắc UTP: Sheikh M Shaffi và cộng sự năm 2009 [83] với đa hình T6235C (m1) có OR = 3,12 (95% CI = 1,656 - 5,876) với đa hình A4889G có

OR = 2,59 (95% CI = 1,04 - 4,94). Joachim Schneider và cộng sự năm 2004 [81] với đa hình T6235C (m1) có OR = 7,94 (95% CI = 3,81 - 16,58), với đa hình A4889G (m2) cho kết quả OR = 7,81 (95% CI = 3,59 - 16,98), Sobti và cộng sự năm 2003 trong một nghiên cứu ở cộng đồng dân cư ở phía bắc Ấn Độ [51]. Đặc biệt theo kết quả nghiên cứu mới nhất của Peddireddy và cộng sự năm 2016 ở 246 bệnh nhân ung thư phổi ở phía nam của Ấn Độ cũng cho thấy mối liên quan chặt chẽ giữa CYP1A1m1 và m2 với yếu tố nguy cơ hút thuốc lá [82].

Bảng 3.23 cho thấy, kiểu gen không C bao gồm GG, GC của đa hình G4268C trên gen CYP2D6 ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi không hút thuốc có OR = 3,35 (95% CI = 1,25 - 4,42) $P < 0,004$ nhưng ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi có hút thuốc lá có tỷ suất chênh rất cao với OR = 4,45 (95% CI = 2,35 - 8,5) $P < 0,001$ và khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê này cho thấy mối tương tác giữa các chất độc có trong khói thuốc đến những biến đổi của các đa hình, đặc biệt liên quan đến các gen của đa hình G4268C trên hệ thống CYP2D6. Cũng ở bảng 3.23 khi chúng tôi chia nhóm bệnh nhân hút thuốc thành nhóm hút thuốc < 20 bao/năm và ≥ 20 bao/năm thì lại càng thấy rõ vai trò của yếu tố nguy cơ hút thuốc lá đến nguy cơ mắc ung thư phổi qua chỉ số OR rất có ý nghĩa thống kê; nhóm hút < 20 bao/năm OR = 5,04 (95% CI = 1,93 - 13,5) $P < 0,002$, nhóm hút thuốc ≥ 20 bao/năm OR = 5,17 (95% CI = 1,74 - 16,4) $P < 0,001$. Kết quả của chúng tôi tương đồng với kết quả nghiên cứu của Kang Hui và cộng sự năm 2011[91] khi đưa ra chỉ số OR nhóm không hút thuốc OR = 2,59 (95% CI = 1,24 - 4,49), ở nhóm hút thuốc OR = 5,29 (95% CI = 2,31 - 8,57), hút thuốc > 20 bao/năm OR = 6,36 (95% CI = 2,48 - 19,51), cùng với một số tác giả khác như; Guo Zhanlin và cộng sự năm 2009 [90], Yan Zhen và cộng sự

năm 2008 [92]... Bảng 3.24, 3.25 khi phân tích yếu tố nguy cơ hút thuốc lá theo nhóm bệnh nhân ung thư phổi biểu mô tuyến và ung thư phổi tế bào vảy thì cũng cho kết quả rất có ý nghĩa thống kê, đặc biệt nhóm bệnh nhân ung thư phổi tế bào vảy có hút thuốc ≥ 20 bao/năm có OR = 7,88 (95% CI = 1,40 - 19,46) $p < 0,001$.

Ở bảng 3.30, 3.31, 3.32 khi phân tích kiểu gen không T188T bao gồm CC, CT của đa hình C188T trên gen CYP2D6 của nhóm bệnh nhân ung thư phổi với yếu tố nguy cơ hút thuốc lá so với kiểu gen TT thì không thu được kết quả như đa hình G4268C và cũng không tương đồng kết quả của Guo Zhanlin và cộng sự năm 2009 [90] với tỷ suất chênh OR = 2,92 (95% CI = 1,087-7,828), Guo Zhanlin và cộng sự năm 2009 [90], Yan Zhen và cộng sự năm 2008 [92].

Cũng theo kết quả bảng 3.23, kiểu gen CC ở nhóm đối chứng không hút thuốc lá là 76/128 (59,4%) so với kiểu gen CC ở nhóm ung thư phổi không hút thuốc lá là 28/73 (38,3%) và có tỷ suất chênh OR = 2,35 (95% CI = 1,25 - 4,42) $p < 0,004$ khác biệt rất có ý nghĩa thống kê. Điều này cho thấy kiểu gen CC của đa hình G4268C trên gen CYP2D6 như là yếu tố bảo vệ ở những người không hút thuốc như Tomohiro S báo cáo gần đây [79].

Như vậy, qua kết quả và phân tích trong đề tài nghiên cứu của chúng tôi cho thấy yếu tố nguy cơ hút thuốc lá đóng một vai trò rất quan trọng đến nguy cơ mắc ung thư phổi đặc biệt nếu yếu tố này liên quan đến đa hình G4268C của gen CYP2D6.

4.4. Phân bố kiểu gen các đa hình gen CYP1A1, CYP2D6 theo phân loại giải phẫu bệnh

Theo mô bệnh học, ung thư phổi được chia làm hai loại chính là: ung thư phổi tế bào nhỏ (SCLC: small cell lung carcinoma), loại này chiếm từ 15-20% các trường hợp ung thư phổi và ung thư phổi không tế bào nhỏ (NSCLC: non-small cell lung carcinoma) chiếm 80 - 85% các trường hợp ung thư phổi. Có nhiều loại tế bào ung thư trong nhóm ung thư phổi không tế bào nhỏ nhưng có ba loại chính hay gặp; ung thư phổi tế bào vảy, ung thư phổi tế bào biểu mô tuyến và ung thư phổi tế bào biểu mô lớn [5].

Kết quả ở bảng 3.4 của đa hình T6235C (m1) trên gen CYP1A1 theo phân loại giải phẫu bệnh; nhóm ung thư phổi biểu mô tuyến kiểu gen; TT 33 (26%), TC 69 (54,3%), CC 25 (19,7%) không có sự khác biệt so với nhóm chứng $p < 0,23$; nhóm ung thư tế bào vảy TT 15 (18,5%), TC 47 (58%), CC 19 (23,5%) khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng với $p < 0,02$; nhóm ung thư phổi tế bào nhỏ không có sự khác biệt với $p < 0,09$. Khi chúng tôi phân tích kiểu gen TC-CC giữa các nhóm giải phẫu bệnh với nhóm đối chứng thì chỉ có nhóm ung thư phổi tế bào vảy là cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $OR = 2,37$ (95% CI = 1,22 - 4,79) $p < 0,006$ (bảng 3.5). Kết quả của Nan song và cộng sự năm 2011 cũng chỉ cho thấy sự khác biệt ở loại ung thư phổi tế bào vảy này và có $OR = 2,2$ (95% CI = 1,4 - 3,5) [46]. Sheikh M Shaffi cùng cộng sự năm 2009 cũng cho kết quả tương tự kết quả của chúng tôi ở loại ung thư phổi tế bào vảy này với $OR = 3,30$ (95% CI = 1,72 - 6,32) [83]. Carmen San Jose năm 2010 cũng cho thấy sự khác biệt ở loại tế bào vảy này với $OR = 5,01$ (95% CI = 1,6 - 14,3) $p < 0,01$ [61]. Tuy nhiên, ở đa hình A4889G cũng trên gen CYP1A1 lại không cho thấy sự khác

biệt so với nhóm đối chứng và cũng tương đồng với các tác giả khác trên thế giới, kết quả được thể hiện bảng 3.11; bảng 3.12 [46],[61],[83].

Đối với đa hình G4268C của gen CYP2D6 lại cho thấy rõ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở tất cả các nhóm giải phẫu bệnh với phân bố kiểu gen GG, GC, CC đều có $p < 0,001$ so với nhóm đối chứng (bảng 3.21). Khi chúng tôi phân tích kiểu gen GG - GC giữa các nhóm giải phẫu bệnh với nhóm đối chứng thì lại càng cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $OR = 3,21$ (95% CI = 1,96 - 5,28) $p < 0,001$ ở nhóm ung thư biểu mô tuyến; $OR = 3,63$ (95% CI = 2,02 - 6,63) $p < 0,001$ ở nhóm ung thư tế bào vảy; $OR = 4,59$ (95% CI = 1,10 - 26,99) $p < 0,02$ ở nhóm ung thư tế bào nhỏ (bảng 3.22). Kết quả của Guo Zhanlin và cộng sự năm 2005 cũng cho thấy sự khác biệt ở loại ung thư phổi tế bào vảy với $OR = 2,084$ (95% CI = 1,024 - 4,244) [90]; Kang Hui và cộng sự năm 2011 lại cho thấy sự khác biệt ở nhóm biểu mô tuyến với $OR = 2,75$ (95% CI = 1,27 - 5,94) [91]; Carmen San Jose năm 2010 cũng cho thấy sự khác biệt ở loại tế bào vảy với $OR = 5,01$ (95% CI = 1,6 - 14,3) $p < 0,01$ [61]. Cũng như đa hình A4889G (m2) của gen CYP1A1 thì ở đa hình C188T của gen CYP2D6 cũng chưa cho thấy sự khác biệt về phân bố kiểu gen theo từng loại giải phẫu bệnh như đa hình G4268C.

KẾT LUẬN

1. Sự phân bố kiểu gen các đa hình thái đơn trên gen CYP1A1, CYP2D6 ở bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng.

1.1. Sự phân bố kiểu gen đa hình thái đơn T6235C (m1) của gen CYP1A1 ở bệnh nhân ung thư phổi:

Phân bố kiểu gen TT, TC, CC ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi lần lượt là 50 (22,7%), 121 (55,0%), 49 (22,3%) khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,02$ so với nhóm đối chứng có kết quả là 70 (35,0%), 95 (47,5%), 35 (17,5%).

Phân bố kiểu gen TC và CC ở nhóm ung thư phổi tăng có ý nghĩa với $OR = 1,83$ (95% CI = 1,17 - 2,88) $p < 0,005$ so với nhóm đối chứng.

1.2. Sự phân bố kiểu gen đa hình thái đơn G4268C của gen CYP2D6 ở bệnh nhân ung thư phổi:

Phân bố kiểu gen GG, GC, CC ở nhóm bệnh nhân ung thư phổi lần lượt là 26 (11,8%), 126 (57,3%), 68 (30,9%) khác biệt rất có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$ so với nhóm đối chứng với kết quả 28 (14,0%), 51 (25,5%), 121 (60,5%).

Phân bố kiểu gen không C4268/C (GG, GC) tăng có ý nghĩa với $OR = 3,42$ (95% CI = 2,24 - 5,22) $p < 0,001$ so với nhóm đối chứng.

2. Mối liên quan giữa các đa hình thái đơn của gen CYP1A1, CYP2D6 với các yếu tố nguy cơ và ung thư phổi.

2.1. Nguy cơ hút thuốc lá

Đa hình G4268C của gen CYP2D6 là nhân tố quan trọng cùng với nguy cơ hút thuốc lá làm tăng nguy cơ mắc bệnh ung thư phổi với $OR = 4,45$ (95% CI = 2,35 - 8,5) $p < 0,001$. Đặc biệt ở nhóm hút thuốc lá ≥ 20 bao/ năm có $OR = 4,88$ (95% CI = 1,52 - 16,4) $p < 0,002$.

Kiểu gen CC của đa hình G4268C của gen CYP2D6 như là yếu tố bảo vệ ở người không hút thuốc với $OR = 3,35$ (95% CI = 1,25 - 4,42) $p < 0,04$.

2.2. Nguy cơ theo tuổi và giới

Đa hình T6235C của gen CYP1A1, đa hình G4268C của gen CYP2D6 đều tăng có ý nghĩa ở giới nam bị ung thư phổi so với giới nữ.

Nhóm tuổi từ 40 đến 60 ở cả hai đa hình T6235C của gen CYP1A1 và đa hình G4268C của gen CYP2D6 là nhóm có nguy cơ mắc ung thư phổi cao nhất.

2.3. Theo giải phẫu bệnh.

Phân bố kiểu gen TC và CC của đa hình T6235C gen CYP1A1 ở nhóm ung thư phổi tế bào vảy tăng có ý nghĩa với $OR = 2,37$ ($95\% CI = 1,22 - 4,79$) $p < 0,006$ so với nhóm đối chứng.

Phân bố kiểu gen không C4268/C (GG, GC) của đa hình G4268C gen CYP2D6 ở cả ba nhóm giải phẫu bệnh; ung thư phổi biểu mô tuyến, ung thư phổi tế bào vảy và ung thư phổi tế bào nhỏ đều cho kết quả khác biệt có ý nghĩa thống kê với kết quả lần lượt: $OR = 3,21$; $OR = 3,63$; $OR = 4,59$ so với nhóm đối chứng với $p < 0,001$.

KIẾN NGHỊ

Qua nghiên cứu này, chúng tôi xin đề xuất một số ý kiến như sau.

Theo kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng như các nghiên cứu của các tác giả trên thế giới thì nhóm tuổi từ 40 đến 60 có nguy cơ bị ung thư phổi cao nhất. Do vậy, ở nhóm tuổi này cần được khám và sàng lọc thường xuyên để phát hiện sớm ung thư phổi để điều trị vì ung thư phổi thường tiến triển nhanh và áp dụng các phương pháp điều trị giai đoạn muộn thường kém hiệu quả.

Từ lâu hút thuốc lá được cho là yếu tố nguy cơ rõ ràng nhất gây ung thư phổi và gây ra những đột biến gen trên người bệnh. Chính vì vậy cần xác định sớm các kiểu đột biến với yếu tố nguy cơ hút thuốc trên từng thể bệnh theo phân loại giải phẫu bệnh để áp dụng phương pháp điều trị mới cho người bệnh bị ung thư phổi như; điều trị đích, điều trị miễn dịch...

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU ĐÃ ĐƯỢC CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Lê Hồng Công, Trần Văn Khánh, Lê Hoàng Bích Nga, Nguyễn Trọng Tuệ, Nguyễn Đức Hình, Tạ Thành Văn, Trần Huy Thịnh (2015). Tính đa hình T6235C của gen CYP1A1 và nguy cơ với ung thư phổi. *Tạp chí nghiên cứu Y học*, 94(2), 1-8.
2. Lê Hồng Công, Trần Huy Thịnh, Phạm Lê Anh Tuấn, Trần Văn Khánh, Phạm Ngọc Minh, Ngô Thanh Tùng, Tạ Thành Văn (2016). Tính đa hình G4268C của gen CYP2D6 trên bệnh nhân ung thư phổi. *Tạp chí nghiên cứu Y học*, 100(2), 42-49.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cancer research.org (2012). Cancer fact and figures 2012. *cancer.org*, 2012, 15-16.
2. Cancer research.org (2016). Cancer fact and figures 2016. *cancer.org*, 2016, 13-16.
3. Cancer research UK (2010). Lung cancer incidence statistics. *cancer research UK*, 2010, 1-12.
4. Phạm Hoàng Anh, Nguyễn Hoài Nga, Trần Hồng Trường và cộng sự (1998). Tình hình ung thư tại Hà Nội giai đoạn 1996 - 1999. *Tạp chí Y học thực hành*, 431, 8-11.
5. Ngô Quý Châu (2008). *Ung thư phổi*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 28-148.
6. Nguyễn Việt Cồ, Nguyễn Viết Nhung, Phạm Thị Hoàng Anh và cộng sự (1996). Tổng kết nghiên cứu dịch tễ và điều tra ung thư phổi nguyên phát. *Tổng hội Y dược học Việt Nam, Hội lao và bệnh phổi*, Hà Nội, 11-34.
7. Nguyễn Bá Đức (2006). Tình hình ung thư ở Việt Nam giai đoạn 2001-2004 qua nghi nhận ung thư tại 5 tỉnh thành Việt Nam. *Tạp chí Y học thực hành*, 541/2006, 9-17.
8. Bộ y tế (2003). Các giá trị sinh học người Việt Nam bình thường thập kỷ 90. *Tạp chí Y học thực hành*, 1, 15-26.
9. Ngô Quý Châu (2005). Tình hình bệnh phế quản - phổi qua soi phế quản ống mềm tại khoa Hô hấp - Bệnh viện Bạch Mai từ 12/2000 đến 7/2001. *Tạp chí nội khoa*, 3, 26-31.
10. Smith G, Stubbins M.J, Harries L.W et al (2000). Molecular genetics of the human cytochrome p450 monooxygenase superfamily. *xenobiotica*, 12, 1129-1165.

11. Gonzalez J.F and Gelbion H.V (2004). Role of human cytochromes P450 in the metabolic activation of chemical carcinogen and toxins. *Drug Metab Rev*, 26, 83-165.
12. Minna J.D (2005). Neoplasm of the lung. *Harrison's principle of internal medicine*, Mc Graw Hill, 15, 552-562.
13. Spira A and Ettinger D.S (2004). Multidisciplinary management of lung cancer. *N Eng J Med* 22, 350(4), 379-392.
14. Anthony J.A, Jean G.F, Jonathan M.S (2007). Epidemiology of lung cancer, Guidelines-2nd edition. *Chest*, 2, 295-355.
15. Woods, Williams C.J, Levi J et al (2010). A randomised trial of cisplatin videsine versus supportive only in advanced NSCLC. *Br J cancer*, 61(4), 608-611.
16. Murray G.I (2000). The role of cytochrome P450 in tumour development and progression and its potential in therapy. *J Pathol*, 192, 26-419.
17. Nguyễn Việt Cồ, Đỗ Việt Khuong (1982). Một vài nhận xét nhân 24 trường hợp phẫu thuật ở bệnh nhân lứa tuổi già (trên 60 tuổi). *Y học Việt Nam*, 112(5), 9-25.
18. Nguyễn Việt Cồ, Nguyễn Viết Nhung, Nguyễn Thị Minh (1991). Tình hình ung thư phổi ở Việt Nam. *Y học Việt Nam*, 158, 29-34.
19. Nguyễn Đình Kim (1996). Ung thư phổi nguyên phát, *Bệnh học lao và bệnh phổi*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 2, 262-300
20. Nguyễn Văn Tường, Nguyễn Đình Hương, Trịnh Bình Di (1994). Đề nghị tiêu chuẩn hóa một số kỹ thuật thăm dò chức năng hô hấp. *Nội san lao và bệnh phổi*, 16 (1994), 99-105.

21. Colt H.G, Russack V.T, Chiu Y.A et al (2006). A comparison of thoracoscopic talc insufflation, clurry and mechanical abrasion pleurodesis. *Chest*, 111, 142-148.
22. Hung H.S, Wu W.J, Cheng Y.W et al (2007). Association of cooking oil fumes exposure with lung cancer: involvement of inhibitor of apoptosis proteins in cell survival and proliferation in vitro. *Mutat*, 928(2), 107-116.
23. Ramanakumar A.V, Parent M.E, Siemiatycki J.A (2007). Risk of lung cancer from residential heating and cooking fuels in Montreal, Canada. *Am J Epidemiol*, 165(6), 634-642.
24. Revich B, Aksel E, Ushakova T et al (2001). Dioxin exposure and public healthy in chapaevsk, Russia. *Chemosphere*, 43(4-7), 951-966.
25. Trần Nguyên Phú, Ngô Quý Châu (2007). Nghiên cứu lâm sàng và phân loại TNM ung thư phế quản không tế bào nhỏ. *Tạp chí nghiên cứu Y học*, 53(5), 46-52.
26. Mountain C.F (1997). Revisions in the international system for staging lung cancer, *Chest*, 111, 1710-1717.
27. World Health Organization (2004). Tumors of lung , pleura, thymus and heart. *Travis, Classification of tumors*, 9-124.
28. Bùi Công Toàn, Hoàng Đình Chân (2008). *Bệnh ung thư phổi*, Nhà xuất bản y học, Hà Nội, 339-443.
29. Nguyễn Văn Kinh, Nguyễn Tuấn Anh (2015). *Sinh học phân tử ung thư áp dụng cho lâm sàng*, Nhà xuất bản y học, Hà Nội, 400-431.
30. Kern J.A, Slebos, Top B et al (2004). C-ERBB-2 expression an codon 12 K - RAS mutations both predict shorted survival for patients with pulmonary adenocarcinoma. *J Clin Invest*, 93, 516-520.

31. Kim Y.H, Fayos J.V (2001). Radiation tolerance of the cervical spinal cord. *Radiology*, 139(2), 473-478.
32. Brambilla E, Negoescu A, G Azzeris et al (2006). Apoptotic-related factors p53, Bcl2, and Bax in Neuroendocrine lung tumors. *Am J Pathol*, 149, 1941-1952.
33. Bradbury P.A, Shepherd F.A (2007). Chemotherapy and surgery for operable NSCLC. *The Lancet* 9, 369 (9597), 1903-1904.
34. Bennett W.P, Deiry E.L, Rush W.L et al (2001). P21 and Transforming growth factor B1 protein expression correlate with survival in NSCLC. *Clin cancer Res*, 4, 307-319.
35. Hensel C.H, Hisieh C.L, Gazdar A.F et al (2000). Altered structure and expression of the human retinoblastoma susceptibility gene in small cell lung cancer. *Cancer Res*, 50, 3067-3072.
36. Rancay J.L, Allen S.W (2001). Recent advances in p450 research. *Pharmacogenomics J*, 1(3), 178-186.
37. Zhou S.F, Liu J.B, Chowbay B et al (2009). Polymorphism of human Cytochrome p450 enzymes and its clinical impact. *Drug Metab Rev*, 41(2), 89-295.
38. Bartsch A.T (2000). Genetic polymorphism of cyp genes, alone or in combination, as a risk modifier of tobacco-related cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 9(1), 3-28.
39. Rodriguez A.C (2010). Molecular genetics and epigenetics of the cytochrome p450 gene family and its relevance for cancer risk and treatment. *Hum Genet*, 127(1), 1-27
40. Kawajiri K, Nakachi K, Imai K et al (1990). Identification of genetically high risk individuals to lung cancer by DNA polymorphisms of cytochrome p4501A1 gene. *Cancer Epidemiol Prev*, 1, 131-133.

41. Cosma G, Crofts F, Taioli E et al (1993). The relationship between genotype and function of the human CYP1A1 gen. *J Toxicol Environ Health*, 40, 309-316.
42. Garte S (1998). The role of ethnicity in cancer susceptibility gene polymorphisms: the example of CYP1A1. *Carcinogenesis*, 19, 1929-1932.
43. Hong Y.S, Chang J.H, Kwon O.J et al (1998). Polymorphism of the CYP1A1 and glutathione-S-transferase genes in Korean lung cancer patients. *Exp Mol Med*, 30, 192-198.
44. Bartch H, Nair U, Risch A et al (2000). Genetic Polymorphism of CYP genes, alone or in combination, as risk modifier of tobacco-related cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 10, 9-38.
45. Sugimura H, Wakai K, Genka K et al (1998). Association of Ile462Val (exon 7) polymorphism of cytochrome p4501A1 with lung cancer in Asian population. *Cancer Epidemiol Prev*, 7, 413-7.
46. Song N, Tan W, Xing D et al (2001). CYP1A1 polymorphism and risk of lung cancer in relation to tobacco smoking: a case - study in China. *Carcinogenesis*, 22, 11-6.
47. Sobti R, Sharma S, Joshi A et al (2003). CYP1A1, CYP2D6 polymorphism and risk of lung cancer in a North Indian population. *Biomarkers*, 8, 415-428.
48. Sreeja N, Syamala V, Hariharan S et al (2005). Possible risk modification by CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 gene polymorphism in lung cancer susceptibility in a South Indian population. *J Hun Genet*, 50, 618-627.
49. Chen Z (2011). The effect of CYP1A1 polymorphisms on the risk of lung cancer: a global meta-analysis based on 71 casecontrol studies. *Mutagenesis*, 26(3), 437-446.

50. San Jose C (2010). CYP1A1 gene polymorphisms increase lung cancer risk in a high-incidence region of Spain: a case control study. *BMC Cancer*, 30, 10-463.
51. Sobti R.C (2003). CYP1A1 and CYP2D6 polymorphism and risk of lung cancer in a North Indian population. *Biomarkers*, 8(5), 415-428.
52. Laforest L (2000). CYP2D6 gene polymorphism in caucasian smokers: lung cancer susceptibility and phenotype-genotype relationships. *Eur J Cancer*, 36(14), 1825-1832.
53. Legrand-Andresoletti M (1998). Cytochrome P450 CYP2D6 gene polymorphism and lung cancer susceptibility in Caucasians. *Pharmacogenetic*, 8(1), 7-14.
54. Shaw G.L (1998). Genetic polymorphism of CYP2D6 and lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 7(3), 215-219.
55. National Center for Biotechnology Information, United States National Library of Medicine (2015). *CYP1A1* cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1 [Homo sapiens (human)]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1543>
56. Agnes A.W, Grazyna D.S, Emily E.S et al (2013). Human Cytochrome P450 1A1 Structure and Utility In Understanding Drug and Xenobiotic Metabolism. Human CYP1A1 Structure and Use in Understanding Metabolism. *Eur J Cancer*, 16, 3-9.
57. Kawajiri K (1999). CYP1A1. *IARC Scientific Publications*, 148, 159-172.
58. The Human Gene Compenium (2014). *CYP1A1* Gene protein-coding. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CYP1A1>
59. Berka K.I, Hendrychovas T, Anzenbacher P et al (2011). Membrane position of ibuprofen agrees with suggested access path entrance to cytochrome P450 2C9 active site. *Journal of Physical Chemistry A*, 115 (41), 11248-11255.

60. Beresford A.P (1993). *CYP1A1*. *Drug Metabolism Reviews*, 25(4), 503-517.
61. Jose C.S, Cabanillas A, Benitez J et al (2010). *CYP1A1* gene polymorphisms increase lung cancer risk in a high-incidence region of Spain: a case control study. *BMC Cancer*, 10, 463.
62. Esteller M (1997). Germ line polymorphisms in cytochrome-p450 1A1 (C4887A *CYP1A1*) and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genes and endometrial cancer susceptibility. *Carcinogenesis*, 18, 2307-2311.
63. Barreiro L.B, Laval G, Quach H et al (2008). Natural selection has driven population differentiation in modern humans. *Nature Genetics*, 40(3), 340-345.
64. National Center for Biotechnology Information, United States National Library of Medicine (2014). NCBI dbSNP build 142 for human. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mailman/pipermail/dbsnp-announce/2014q4/000147.html>
65. Petersen D.D, McKinney C.E, Ikeya K et al (2001). Human *CYP1A1* gene: cosegregation of the enzyme inducibility phenotype and an RFLP. *American Journal of Human Genetics*, 48(4), 720-725.
66. Cosma G, Crofts F, Taioli E et al (2003). Relationship between genotype and function of the human *CYP1A1* gene. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 40(2-3), 309-316.
67. Crofts F, Taioli E, Trachman J et al (2004). Functional significance of different human *CYP1A1* genotypes. *Carcinogenesis*, 15(12), 2961-2963.
68. Kiyohara C, Hirohata T, Inutsuka S et al (2006). The relationship between aryl hydrocarbon hydroxylase and polymorphisms of the *CYP1A1* gene. *Japanese Journal of Cancer Research*, 87(1), 18-24.

69. Cascorbi I, Brockmoller J, Roots I et al (1996). C4887A polymorphism in Exon 7 of Human *CYP1A1*: Population Frequency, Mutation Linkages, and Impact on Lung Cancer Susceptibility. *Cancer Res*, 56, 4965-4969.
70. Gottfried K, Charles R.S et al (2003). Aryl Hydrocarbon Hydroxylase Inducibility and Bronchogenic Carcinoma. *N Engl J Med*, 289, 934-937.
71. Early D.S, Gao F, Ha C.Y et al (2010). The Association Between a Functional *CYP1A1* Polymorphism and Colorectal Neoplasia Risk in Post Menopausal Women. *Dig Dis Sci*, 55, 10.
72. NCBI (2011). Homo sapiens CYP2D6 (CYP2D6) gene, complete cds. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
73. Koch W.H (2004). Technology platforms for pharmacogenomic diagnostic assays. *Nature Reviews Drug Discovery*, 116-125.
74. NCBI (2015). CYP2D6 cytochrome P450, family 2, subfamily D, polypeptide 6 [Homo sapiens (human)]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
75. Bertilsson L (2002). Molecular genetics of CYP2D6: clinical relevance with focus on psychotropic drugs. *Br J Clin Pharmacol*, 53, 111-122.
76. Ingelman M.S, Karolinska I.T (2010). Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6). *clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity*, 1-5.
77. Bertilsson L.D, Dalens P, Shurbaji A.J et al (2002). Molecular genetics of CYP2D6: clinical relevance with focus on psychotropic drugs. *Clinical Pharmacol*, 53(2), 3-9.
78. Crespi C.L, Penman B.W, Gelboin H.V et al (1991). A tobacco smoke-derived nitrosamine, 4-(n-methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, is activated by multiple human cytochrome P450s including the polymorphic human cytochrome P4502D6. *Carcinogenesis*, (Lond), 1197-1201.

79. Tomohiro Suzumra (2012). Reduced CYP2D6 function is associated with gefitinib-induced rash in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Genomic*, 1, 315-329.
80. Ji Hong Pan, Jin Xiang Han et al (2007). CYP 450 polymorphisms predict clinic outcomes to vinorelbine - based chemotherapy in patients. *Acta Oncologica*, 46, 361-366.
81. Joachim Schneider, Ulrike Bernges et al (2004). CYP1A1 and CYP1B1 polymorphisms and lung cancer risk in relation Tobacco Smoking. *Cancer Genomic*, 1, 1889-1898.
82. Peddireddy D (2016). Association of CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 gene polymorphisms with risk of non-small cell lung cancer in Andhra Pradesh region of South India. *European Journal of Medical Research*, 1, 21-27.
83. Sheikh M.S, Mohd A.S, Imtiyaz A.B et al (2009). CYP1A1, CYP2D6 polymorphisms and risk of lung cancer in Ethnic Kashmiri Population. *Research communication*, 5, 651-656.
84. Wright C.M, Larsen J.E, Colosimo M.L et al (2010). Genetic association study of CYP1A1 polymorphisms identifies risk haplotypes in nonsmall cell lung cancer. *Thoracic oncology*, 7, 152-159.
85. Wenzlaff A.S, Cote M.L et al (2005). CYP1A1 and CYP1B1 polymorphisms and risk of lung cancer. *Carcinogenesis*, 26, 2207-2212.
86. Paula Mota, David S.M et al (2010). CYP1A1 m1 and m2 polymorphisms: genetic susceptibility to lung cancer. *Janeiro/Fevereiro*, Vol XVI(1), 89-97.
87. Caporaso N, DeBaun M.R, Rothman N et al (1990). Lung cancer and CYP2D6 (the debrisoquine polymorphism): sources of heterogeneity in the proposed association. *Pharmacogenetics*, 5, 129-134.

88. Bauchardy C, Benhamou S, Dayer P et al (1996). The effect of tobacco on lung cancer risk depends on CYP2D6 activity. *Cancer Res*, 56, 251 - 253.
89. London S.J, Daly A.K, Leathart J.B et al (1997). Genetic polymorphism of CYP2D6 and lung cancer risk in African-Americans and Caucasians in Los Angeles County. *Carcinogenesis*, 18(6), 1203-1214.
90. Zhanlin Guo, Qinghua Zhou, Wen Zhu et al (2005). A case- control study on the association between genetic polymorphisms of metabolizing enzymes CYP2D6 and susceptibility to lung cancer. *PubMed*, 8, 89-94.
91. Kang Hui, Xhao J.H, Zhang J.J et al (2011). Single nucleotide polymorphisms of CYP2D6 and their genetic susceptibility to lung cancer. *Journal of modern oncology*, 07/2011, 1275-1279.
92. Yan Zhen, Wu Yi Ming, Wu Yong Jun et al (2008). CYP2D6*10 polymorphisms and lung cancer susceptibility. *Scientific and technical literature*, 30(5), 564-568.

PHIẾU THÔNG TIN BỆNH NHÂN

I. Thông tin chung

- Họ và tên : Nam ☐ Nữ ☐
- Năm sinh :
- Địa chỉ :
- Điện thoại :
- Mã số hồ sơ :
- Chiều cao:..... cân nặng :.....

II. Tiền căn

- 1.Hút thuốc lá : có ☐ không ☐ Số bao-năm:
- 2.Tiếp xúc với hóa chất :
- 3.Các bệnh lý khác đã mắc trước đây :

III. Tình trạng bệnh ung thư phổi hiện tại (thời điểm vào nghiên cứu)

- 4.Thời điểm phát hiện ung thư phổi :
- 5.Phân độ ung thư phổi : (T...M...N...)
- 6.Loại mô bệnh học K phổi :☐ carcinoma tế bào tuyến
☐ carcinoma tế bào vảy
☐ carcinoma tế bào nhỏ
- 7.Điều trị :
 - ☐ Chưa từng điều trị gì
 - ☐ Đã được điều trị :