



## **Tổng quan**

# **Những tiến bộ trong chẩn đoán ung thư phổi: hiện tại và tương lai**

Dịch từ: Nooreldeen, R.; Bach, H. Current and Future Development in Lung Cancer Diagnosis. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 8661. <https://doi.org/10.3390/ijms22168661>

Người dịch: BS. Trương Thị Như Hào Email: [22310711560@student.ctump.edu.vn](mailto:22310711560@student.ctump.edu.vn)

Biên tập: TS.BS. Cao Thị Mỹ Thúy. Email: [bscaothimythuy@gmail.com](mailto:bscaothimythuy@gmail.com)

**Tóm tắt:** Ung thư phổi là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong do bệnh lý ung thư ở Bắc Mỹ và một số nước phát triển khác. Một trong những nguyên nhân dẫn đến điều này là do bệnh thường không được chẩn đoán cho đến khi ung thư ở giai đoạn tiến triển. Vì vậy, việc chẩn đoán sớm ung thư phổi là cực kỳ quan trọng, đặc biệt là vấn đề sàng lọc ở những đối tượng có nguy cơ cao, như người hút thuốc lá, phơi nhiễm với khói bụi, dầu mỡ, môi trường làm việc độc hại,... Dựa trên kiến thức hiện tại, nhu cầu tìm ra các dấu ấn sinh học mới dường như ngày càng trở nên cấp thiết. Chẩn đoán ung thư phổi hiện nay bao gồm các phương tiện hình ảnh học khác nhau kết hợp với kết quả giải phẫu bệnh qua sinh thiết, nhưng những kỹ thuật này vẫn không giúp phát hiện sớm sự phát triển của ung thư phổi. Trong bài tổng quan này, chúng tôi mô tả những ưu điểm và nhược điểm của các phương pháp đang được sử dụng trong chẩn đoán ung thư phổi và phân tích tiềm năng của việc sử dụng các dấu ấn sinh học từ dịch cơ thể có khả năng dự báo sự phát triển và tiến triển của ung thư.

**Từ khóa:** ung thư phổi; chẩn đoán; hình ảnh học; dấu ấn sinh học; yếu tố dự đoán; dịch cơ thể

### **1. Giới thiệu:**

Ung thư phổi là nguyên nhân phổ biến nhất gây tử vong liên quan đến ung thư ở Bắc Mỹ và một số nước phát triển khác. Theo báo cáo về ung thư phổi năm 2020, đây là loại ung thư phổ biến nhất và là nguyên nhân tử vong hàng đầu do ung thư ở Canada [1]. Điều này được nhấn mạnh bởi các thống kê cho thấy số người Canada chết vì ung thư phổi cao hơn so với ung thư đại trực tràng, tuyến tụy và ung thư vú cộng lại. Có khoảng 30.000 người Canada được chẩn đoán ung thư phổi, với dự đoán 21.000 ca tử vong vào năm 2020. Trên phạm vi toàn cầu, gánh nặng ung thư dự kiến sẽ tăng gấp đôi vào năm 2050, trong đó ung thư phổi đứng đầu [1].

Tử vong vì ung thư phổi là do bệnh thường không được chẩn đoán cho đến khi ung thư tiến triển đến giai đoạn cuối. Hiểu về cơ chế bệnh sinh, chẩn đoán sớm, lựa chọn phương pháp điều trị phù hợp giúp điều trị ung thư phổi hiệu quả. Do đó, chẩn đoán sớm ung thư phổi là rất quan

trọng, đặc biệt là trong việc sàng lọc các đối tượng có nguy cơ cao (ví dụ: người hút thuốc lá, phơi nhiễm với khói bụi, dầu mỏ, môi trường làm việc độc hại,...), nhu cầu tìm ra các dấu ấn sinh học mới dường như ngày càng trở nên cấp thiết. Hơn nữa, việc chẩn đoán chính xác là rất quan trọng hướng tới cá thể hóa điều trị bệnh nhân ung thư phổi. Vì vậy, việc tìm ra các dấu ấn sinh học đủ nhạy và đặc hiệu cho phép chẩn đoán sớm ung thư phổi càng trở nên cần thiết hơn bao giờ hết.

Hiện nay, CT liều thấp (LDCT – Low-Dose Computed Tomography) thường được sử dụng thường quy để tầm soát ung thư phổi. Ngoài ra, thử nghiệm NELSON cũng chỉ ra rằng công cụ sàng lọc này có độ nhạy là 85% và độ đặc hiệu là 99% so với không tầm soát [2]. Tuy nhiên, một nghiên cứu gần đây cho thấy tỷ lệ dương tính giả lên đến 81% [3]. Số liệu dương tính giả này khá cao đòi hỏi cần kết hợp các phương tiện hình ảnh học khác hoặc các xét nghiệm khác để xác nhận chẩn đoán.

Bài tổng quan này sẽ tập trung vào các biện pháp tầm soát hiện dùng để chẩn đoán sớm ung thư phổi, việc sử dụng các dấu ấn sinh học tiềm năng, và cập nhật về cách tiếp cận tầm soát dựa vào sinh thiết lỏng cũng sẽ được bàn luận.

## **2. Giai đoạn ung thư phổi**

Để hiểu về thời điểm sàng lọc và tiến triển của ung thư phổi, các giai đoạn ung thư phổi được trình bày như sau.

Ung thư phổi được chia thành 2 loại chính, ung thư phổi tế bào nhỏ (SCLC – Small Cell Lung Cancer) và ung thư phổi không tế bào nhỏ (NSCLC – Non-Small Cell Lung Cancer).

Ung thư phổi tế bào nhỏ (SCLC). Đây là khối u trung tâm xuất phát từ lớp dưới niêm biểu mô đường thở, thường là khối u xung quanh rốn phổi. Các nghiên cứu mô học cho thấy loại ung thư này thường bắt nguồn từ tế bào thần kinh nội tiết của lớp màng đáy biểu mô phế quản. Các tế bào được mô tả thường nhỏ, hình trụ hay tròn, với bào tương ít, nhân tăng sắc và có thể có hoại tử bên trong. SCLC có hai dạng chính, bao gồm ung thư biểu mô tế bào nhỏ và ung thư biểu mô tế bào nhỏ kết hợp. Loại ung thư này đặc trưng bởi khả năng di căn não, gan và xương và được phân thành giai đoạn khu trú hay lan tràn [6].

Ung thư phổi tế bào nhỏ giai đoạn khu trú khi bệnh ở giới hạn có thể bao phủ bởi một trường chiếu xạ trị, trung thất cùng bên, hạch vùng, gồm hạch trung thất và hạch thượng đòn cùng bên.

Mặt khác, ung thư phổi tế bào nhỏ giai đoạn lan tràn được định nghĩa là giai đoạn không thể bao phủ bởi một trường chiếu xạ trị, có di căn đến thùy phổi thứ hai, hạch bạch huyết và các tạng khác của cơ thể chẳng hạn tủy xương.

Ung thư phổi không tế bào nhỏ (NSCLC). Loại ung thư này được phân loại về mặt mô học gồm: ung thư biểu mô tuyến, ung thư biểu mô tế bào lớn, ung thư biểu mô tế bào vảy,... Danh pháp các giai đoạn được xây dựng bởi Ủy ban Ung thư Hoa Kỳ (AJCC) [7], được gọi là hệ thống phân giai đoạn TNM. Hệ thống TNM cho phép xác định giai đoạn ung thư dựa vào đánh giá các đặc điểm khối u (T) phân loại từ T1 đến T4, các hạch bạch huyết (N0-N3) và sự hiện diện (M1)

hay không có di căn (M0) (Bảng 1).

Bảng 1: Phân loại TNM

Kích thước khối u (T)		Hạch (N)		Di căn (M)	
T1	<3 cm	N0	Không có di căn hạch	M0	Không có di căn xa
T2	T2a 3-5 cm T2b 5-7 cm	N1	Hạch quanh phế quản/ rốn phổi cùng bên		
T3	>7cm	N2	Hạch trung thất cùng bên/ hạch dưới carina	M1	Di căn xa
T4	Xâm lấn Các cơ quan trong trung thất, thân đốt sống	N3	Hạch trung thất/rốn phổi/ thượng đòn đối bên		
Giai đoạn I			Giai đoạn II		
IA	T1, N0, M0		IIA	T2b, N0, M0 T1, N1, M0 T2a, N1, M0	
IB	T2a, N0, M0		IIB	T2b, N1, M0 T3, N0, M0	

Dựa theo đặc điểm khối u, trong phân loại T2, có thể thấy xẹp phổi hoặc viêm phổi tắc nghẽn một phần phổi. Khối u có thể xâm lấn màng phổi tạng, phế quản gốc nhưng cách carina  $\geq 2$ cm. Trong phân loại T3, xẹp hoàn toàn một phổi. Khối u xâm lấn thần kinh hoành, cơ hoành, thành ngực, màng phổi trung thất, và tiếp cận gần hơn phế quản gốc, cách carina  $< 2$ cm. T4, giai đoạn xâm lấn, khi khối u xâm lấn các cơ quan trong trung thất, thân đốt sống và carina.

Liên quan đặc điểm di căn hạch bạch huyết, N0 đến N3 (Bảng 1), hạch bạch huyết được chia thành các giai đoạn từ không có hạch đến cùng bên và đối bên.

Di căn được phân loại M1, khi quan sát thấy tổn thương hai bên, di căn xa và tràn dịch màng phổi ác tính. Mặt khác, không di căn được định nghĩa là M0.

Thách thức chính của ung thư phổi đối với sức khỏe cộng đồng chính là tiên lượng xấu do giai đoạn tiến triển, hầu hết bệnh nhân (>75%) đã ở giai đoạn III hoặc IV khi được chẩn đoán. Hơn nữa, tiên lượng của bệnh nhân ung thư phổi có mối tương quan chặt chẽ với giai đoạn bệnh. Ví dụ, nếu bệnh nhân ở

giai đoạn IA có tỷ lệ sống sót sau 5 năm khoảng 60%, thì giai đoạn II-IV có tỷ lệ sống sót sau 5 năm dao động từ 40% đến dưới 5%.

Hơn hai phần ba bệnh nhân có di căn hạch vùng hoặc di căn xa tại thời điểm chẩn đoán [8]. Điều này là do thiếu các chiến lược phát hiện sớm, hiệu quả cho phép gia tăng tỷ lệ điều trị khỏi. Thêm vào đó, ung thư phổi thường đề kháng với các phương thức điều trị chuẩn như hóa trị và xạ trị, kết hợp với việc thiếu các phương pháp điều trị thành công cho giai đoạn di căn, càng làm cho kết cục điều trị xấu hơn [8].

Trước đây, các xét nghiệm chẩn đoán duy nhất để phát hiện ung thư phổi ở giai đoạn sớm là chụp X quang ngực và xét nghiệm tế bào học đàm. Tuy nhiên, hai phương pháp sàng lọc này đã thất bại trong các thử nghiệm lâm sàng và không thể chứng minh được hiệu quả trong vai trò là công cụ sàng lọc hàng loạt [9]. Hiện nay, việc sàng lọc ung thư phổi bằng CT liều thấp được khuyến cáo cho các đối tượng nguy cơ cao, người từ 55 đến 74 tuổi có tiền sử hút thuốc lá từ 30 gói – năm trở lên (số gói – năm = số gói thuốc lá hút mỗi ngày x số năm hút), người đang hút thuốc lá hoặc đã bỏ thuốc trong 15 năm qua và không mắc bệnh tại thời điểm sàng lọc [10]. Hơn nữa, những tiến bộ gần đây về bộ gen được ứng dụng để xác định các dân số nguy cơ cao và ngày càng được sử dụng rộng rãi trong sàng lọc sớm ung thư phổi [11].

Một hệ thống kiến thức liên quan đến các yếu tố tiên lượng và lịch sử tự nhiên của ung thư phổi cùng với các phát hiện về sinh bệnh học cho phép chẩn đoán ung thư, nhưng còn nhiều câu hỏi còn bỏ ngỏ. Người ta tin rằng việc xác định các tổn thương tiền ung thư có thể phát triển các phương pháp can thiệp sớm, đầy hứa hẹn và chuyển đổi các hướng nghiên cứu về các phương pháp điều trị nhắm trúng đích.

Ung thư phổi đại diện cho nhóm bệnh ung thư được nghiên cứu nhiều nhất về miễn dịch học. Điều này là do ung thư phổi được thúc đẩy bởi sự sai lệch di truyền gen và ngoại gen được giải thích bằng đột biến ảnh hưởng đến các gen sinh ung thư và chất ức chế khối u với sự xuất hiện của sự mất cân bằng miễn dịch của cơ thể. Những tiến bộ trong công nghệ miễn dịch - gen đã cung cấp một nền tảng cho phép hiểu rõ bản chất ung thư phổi ở cấp độ phân tử và gen. Về vấn đề này, khảo sát bộ gen các tổn thương tiền ung thư đã làm sáng tỏ những thay đổi ban đầu trong quá trình tiến hóa của chúng, điều này cho phép xác định các mục tiêu điều trị “thuốc điều trị mọi thể loại ung thư” cho việc điều trị và chẩn đoán sớm [12].

### **3. Phân loại**

Như đã đề cập ở trên, ung thư phổi được phân thành hai loại chính là ung thư phổi tế bào nhỏ SCLC và ung thư phổi không tế bào nhỏ NSCLC [13]. SCLC có mức độ ác tính cao, thường do hút thuốc và chiếm 15–20% trong tất cả các bệnh ung thư phổi nguyên phát. Thật thú vị, sự khuếch đại gen điều hòa phiên mã MYC là phổ biến trong SCLC [14,15]. NSCLC có thể được chia thành bốn các loại: Ung thư biểu mô tuyến (LUAD), ung thư biểu mô tế bào vảy (LUSC), ung thư biểu mô tế bào lớn và khối u carcinoid phế quản. Trong số này, LUAD là phổ biến nhất. LUAD thường phát sinh ở những phụ nữ không hút thuốc lá, đây là nhóm thường bị bỏ qua trong sàng lọc. Nó biểu hiện qua biểu mô tuyến với các gen thúc đẩy được kích hoạt bởi các đột biến như gen sinh ung KRAS và BRAF và thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì EGFR [12,13]

#### 4. Ung thư phổi tế bào nhỏ SCLC

Đây là khối u thần kinh nội tiết kém biệt hóa và tổn thương tế bào mức độ cao, chiếm 10–15% ung thư phổi. SCLC được đặc trưng bởi thời gian nhân đôi ngắn và di căn ở giai đoạn sớm, với hơn một nửa số bệnh nhân được chẩn đoán ở giai đoạn muộn. Vì vậy, sàng lọc và chẩn đoán sớm có thể mang đến tiên lượng tốt hơn. Điều trị chuẩn cho bệnh nhân SCLC bao gồm hóa trị kết hợp với xạ trị [16].

Hệ thống miễn dịch đóng một vai trò cốt lõi trong việc kiểm soát sự phát triển và tiến triển của khối u thông qua giám sát miễn dịch ung thư. Tuy nhiên, các khối u có thể thoát khỏi sự giám sát miễn dịch bằng cách tạo ra các tế bào T điều hòa để thúc đẩy các rối loạn chức năng của tế bào T và các tế bào giết tự nhiên. Tình trạng ức chế miễn dịch này trên bệnh nhân SCLC có ảnh hưởng đến tiên lượng. Do đó, hướng tới việc đảo ngược tình trạng ức chế miễn dịch mang lại hy vọng về liệu pháp miễn dịch cho bệnh nhân SCLC. Các thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng về liệu pháp ức chế kiểm soát miễn dịch (Checkpoint inhibitors) và liệu pháp tế bào chuyển giao nuôi (Adoptive cell transfer – ACT) đã giới thiệu là các phương thức điều trị SCLC dựa vào các dấu ấn sinh học mới để đạt được hiệu quả chẩn đoán sớm và điều trị chính xác [16]

Về mặt lâm sàng, bảy kháng thể ức chế điểm kiểm soát miễn dịch đã được Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) phê duyệt để điều trị nhiều loại khối u khác nhau: Ipilimumab ngăn chặn kháng nguyên tế bào lympho T-4 gây độc tế bào và sáu kháng thể ngăn chặn PD-1/PD-L1 bao gồm pembrolizumab, nivolumab, atezolizumab, durvalumab, cemiplimab và avelumab. Những kháng thể này đã đạt được kết quả đầy hứa hẹn trong điều trị SCLC tái phát. Mặt khác, vaccin ung thư, điều hòa miễn dịch, miễn dịch tế bào và các phương pháp trị liệu miễn dịch khác có thể đóng vai trò ngày càng to lớn trong liệu pháp điều trị toàn diện ung thư. Thời điểm điều trị hợp lý và kết hợp tối ưu các chiến lược điều trị là những vấn đề nóng của liệu pháp miễn dịch SCLC [17].

#### 5. Ung thư phổi không tế bào nhỏ NSCLC

Trong thập kỷ qua, các dấu ấn sinh học từ mô và/hoặc máu đã giúp định hướng các phương pháp điều trị ở bệnh nhân với ung thư phổi không tế bào nhỏ giai đoạn tiến triển. Việc tìm ra các dấu ấn sinh học cho phép cung cấp dữ liệu giúp phân nhóm bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ. Các bằng chứng nghiên cứu cho thấy các liệu pháp nhắm trúng đích cho kết quả điều trị tốt hơn so với phương pháp hóa trị liệu gây độc tế bào truyền thống [18,19].

Bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ mới được chẩn đoán được chỉ định xét nghiệm các dấu ấn sinh học để lựa chọn phương pháp điều trị tối ưu. Các khuyến cáo điều trị CAP/IASLC/AMP, ASCO và Mạng lưới Ung thư Toàn diện Quốc gia Hoa Kỳ (National Comprehensive Cancer Network) giúp lựa chọn các xét nghiệm dấu ấn sinh học phù hợp nhất. [20].

Có nhiều loại xét nghiệm khác nhau về dấu ấn sinh học dựa trên mẫu mô và máu, mỗi loại đều có ưu điểm và nhược điểm riêng đòi hỏi bác sĩ lâm sàng cần hiểu trước khi quyết định sử dụng xét nghiệm nào. Ví dụ, xét nghiệm huyết tương có nhiều ưu điểm hơn so với xét nghiệm mô vì không

xâm lấn, nhanh chóng và có thể lặp lại theo thời gian. Tuy nhiên, chúng kém nhạy hơn so với xét nghiệm mô và không thể sử dụng như là xét nghiệm độc lập cho bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ. Ví dụ: xét nghiệm đột biến EGFR, một trong những đột biến có khả năng điều trị trúng đích phổ biến nhất, đã trở thành một phần trong quy trình chẩn đoán và điều trị tiêu chuẩn cho bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ từ năm 2011.

Ung thư phổi không tế bào nhỏ được minh họa là mô hình áp dụng thành công “y học chính xác” hay khái niệm sử dụng phân tích di truyền tiên tiến về khối u từ đó đề ra kế hoạch cá thể hóa điều trị, khác với phác đồ điều trị ung thư truyền thống được chỉ định dựa trên định tính khối u và chủ yếu dựa trên cơ quan ban đầu phát sinh khối u. Thử nghiệm NCI-MATCH (NCI-MATCH Trial - National Cancer Institute-Molecular Analysis for Therapy Choice Trial) (thử nghiệm phân tích phân tử để lựa chọn phương pháp điều trị). Đây là cuộc thử nghiệm lâm sàng quốc gia tại Hoa Kỳ, được tiến hành bởi Viện Ung thư Quốc gia (NCI) nhằm tìm kiếm các phương pháp điều trị cá thể hóa dành cho bệnh nhân ung thư. NCI-MATCH Trial sử dụng phân tích di truyền tiên tiến để xác định các đột biến di truyền trong khối u và phân loại bệnh nhân vào các nhóm điều trị phù hợp mà không phụ thuộc vào cơ quan ban đầu phát sinh khối u. Các xét nghiệm chẩn đoán mới là cần thiết để hướng tới những tiến bộ trong lĩnh vực y học chính xác, đồng thời cung cấp thông tin phản hồi chính xác (tốt nhất là định lượng) dành cho các bác sĩ chuyên khoa ung thư về hiệu quả của liệu pháp điều trị [21].

Liệu pháp ức chế kiểm soát miễn dịch (CPI – Checkpoint inhibitors) trong ung thư phổi không tế bào nhỏ giai đoạn di căn và sự xuất hiện các dấu ấn sinh học dự đoán về hiệu quả của CPI càng nhấn mạnh tầm quan trọng của xét nghiệm đột biến có thể điều trị được và các dấu ấn sinh học liên quan đến miễn dịch. Vì vậy, các hướng dẫn điều trị quốc gia và quốc tế hiện nay đã khuyến cáo nên kiểm tra các đột biến như EGFR, ALK, ROS1, BRAP, RET, MET và HER2 cùng với các dấu ấn sinh học miễn dịch như PD-L1 và mức độ đột biến khối u (TMB – tumor mutational burden) [22].

Như đã nhấn mạnh ở trên, cả ung thư phổi tế bào nhỏ và ung thư phổi không tế bào nhỏ đều được hưởng lợi từ việc sử dụng các dấu ấn sinh học trong chẩn đoán sớm, lựa chọn phác đồ điều trị và theo dõi điều trị.

## **6. Các phương pháp sàng lọc và chẩn đoán truyền thống**

### *6.1 Sàng lọc các nhóm nguy cơ cao*

Sàng lọc các nhóm nguy cơ cao cho phép phát hiện sớm ung thư ở giai đoạn có khả năng điều trị và chữa khỏi. Như đã đề cập ở trên, nhóm nguy cơ cao bao gồm tiền sử hút thuốc lá (hơn 30 gói-năm), người đang hút thuốc lá hoặc đã bỏ thuốc lá chưa đến 15 năm và tuổi từ 55 đến 80. Theo Hiệp hội Ung thư Hoa Kỳ dự đoán có 135.720 ca tử vong do ung thư phổi vào năm 2020, việc sàng lọc rộng rãi có thể giúp cứu sống 30.000–60.000 người mỗi năm tại Hoa Kỳ. Cơ quan Y tế dự phòng Hoa Kỳ (USPSTF - The U.S Preventive Services Task Force) khuyến cáo giảm độ tuổi bắt đầu sàng lọc từ 55 xuống 50 tuổi và tiền sử hút thuốc từ 30 xuống 20 gói-năm. Các nhà cung cấp dịch vụ y tế cũng khuyến nghị nên làm quen với các hướng dẫn sàng lọc ung thư phổi và chỉ định các xét nghiệm này

cho những bệnh nhân có nguy cơ cao. Hiện tại, chỉ một phần nhỏ dân số được khuyến nghị sàng lọc ung thư phổi [23–25].

### 6.2 Sàng lọc và chẩn đoán bằng X quang

Tại Nhật Bản, một nghiên cứu đã quan sát thấy rằng việc sàng lọc ung thư phổi bằng X-quang ngực hàng năm tại phòng khám giúp giảm 25% tỷ lệ tử vong do ung thư phổi đối với các đối tượng được sàng lọc hàng năm [26]. Một điều thú vị khác, kết quả công bố từ nghiên cứu được thực hiện ở Osaka, Nhật Bản, cho thấy sàng lọc người hút thuốc lá nguy cơ cao bằng chụp cắt lớp vi tính xoắn ốc liều thấp (LDCT) cho thấy giảm 20% tỷ lệ mắc ung thư phổi so với sàng lọc bằng X quang tiêu chuẩn [27].

Trong chẩn đoán ung thư phổi bằng chụp X quang ngực, độ nhạy để phát hiện khối u là khoảng 1 cm đường kính, tức là đã có hơn  $10^9$  tế bào có khả năng phá hủy lớp biểu mô phế quản và mạch máu. CT hiệu quả hơn trong việc phát hiện các tổn thương phổi ngoại biên so với chụp X quang thường quy hoặc chụp cắt lớp toàn bộ phổi thông thường. Máy quét CT xoắn ốc có thể liên tục thu thập dữ liệu dẫn đến thời gian quét ngắn hơn, phơi nhiễm bức xạ thấp hơn và cải thiện độ chính xác chẩn đoán so với chụp X quang thông thường. Kỹ thuật này có thể chụp toàn bộ lồng ngực trong thời gian rất ngắn (một hoặc hai nhịp thở), đồng thời giảm thiểu xáo ảnh qua đó cải thiện kết quả phát hiện các nốt nhỏ. Các nốt nhỏ từ 1–5 mm có thể phát hiện được bằng công nghệ CT xoắn ốc hiện đại. CT được sử dụng thường quy trong sàng lọc ung thư phổi hiện nay, có hay không có kết hợp với các xét nghiệm bổ sung như tế bào học đàm. Hai rào cản đối trong việc áp dụng phương pháp là chi phí và khả năng tiếp cận. Ngoài ra, việc tiếp xúc với bức xạ liều thấp làm tăng nguy cơ phát triển ung thư vú, tuyến giáp hoặc phổi, đặc biệt nếu bệnh nhân trải qua nhiều lần quét CT. CT liều thấp (LDCT) có khả năng phát hiện những bất thường không phải là ung thư (dương tính giả) và đòi hỏi bệnh nhân phải tiếp tục xét nghiệm xâm lấn hơn như sinh thiết và phẫu thuật để loại bỏ khối u đó, làm tăng nguy cơ các tai biến và biến chứng trong và sau phẫu thuật [26,27].

CT xoắn ốc cho khả năng chẩn đoán tốt hơn đối với khối u nhỏ ở ngoại vi. Tuy nhiên, độ nhạy của CT xoắn ốc đối với các khối u trung tâm (chủ yếu là ung thư biểu mô tế bào vảy) thấp hơn đáng kể so với các khối u ngoại vi [27]. Đáng chú ý, có đến 40% trong số những người tham gia nghiên cứu của Thử nghiệm sàng lọc ung thư phổi quốc gia bằng CT xoắn ốc liều thấp cho thấy ít nhất một lần sàng lọc dương tính, tỷ lệ dương tính giả lên đến 96% [28]. Tỷ lệ dương tính giả cao dẫn đến quá trình sàng lọc và thủ thuật xâm lấn tốn kém đối với những đối tượng hút thuốc lá không bị ung thư phổi. Tóm lại, việc sàng lọc ung thư phổi bằng các phương tiện ít tổn kém và các kỹ thuật không xâm lấn là một ưu tiên hàng đầu.

### 6.3 Xét nghiệm đàm

Một phương pháp khác cho phép chẩn đoán ung thư phổi là xét nghiệm tế bào học đàm, đặc biệt là nhiều mẫu, giúp phát hiện các khối u trung tâm có nguồn gốc từ phế quản lớn (ví dụ: ung thư biểu mô tế bào vảy và tế bào nhỏ). Nhìn chung, các mẫu đàm không phát hiện được các ung thư biểu mô tuyến nhỏ (đường kính  $\leq 2$ cm) bắt nguồn từ các nhánh phế quản, chẳng hạn như phế quản nhỏ, tiểu phế quản và phế nang. Điều này càng trở nên quan trọng hơn bởi vì những sự thay



đôi khi tiếp xúc với thuốc lá làm tăng nguy cơ ung thư biểu mô tuyến và giảm ung thư biểu mô vảy. Thông qua các nghiên cứu sàng lọc cho thấy, độ nhạy của xét nghiệm tế bào đàm trong chẩn đoán ung thư phổi giai đoạn đầu chỉ khoảng 20–30%. Các nghiên cứu cho thấy khả năng phát hiện các tổn thương tiền ung thư phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau như số lượng và các loại tế bào (đường dẫn khí nhỏ) [29]. Các nghiên cứu cũng đưa ra kết luận rằng xét nghiệm tế bào học đàm không đủ độ nhạy hay độ chính xác để đưa vào xét nghiệm thường quy cho bệnh nhân nghi ngờ ung thư phổi [30].

Các nghiên cứu chỉ ra rằng hóa mô miễn dịch có thể đem đến kết quả khả quan hơn so với xét nghiệm tế bào học. Ví dụ, một nghiên cứu kéo dài 8 năm tại bệnh viện Johns Hopkins tiến hành thu thập các mẫu đàm của các đối tượng nghiên cứu hàng năm. Các mẫu đàm được lưu trữ và sàng lọc các dấu ấn sinh học có thể phát hiện ra u phổi ở giai đoạn sớm hay giai đoạn tiền ung thư [31]. Nhờ nghiên cứu này hai kháng thể đơn dòng đã được tìm ra giúp phân biệt các biểu hiện của chất đánh dấu. Các kết quả cũng cho thấy nhuộm màu dương tính với các kháng thể này dự báo sự xuất hiện ung thư phổi sớm hơn 2 năm trước khi bệnh được phát hiện dựa trên X quang ngực và xét nghiệm tế bào học. Ngoài ra, một trong hai kháng thể này (703D4) có độ nhạy cao hơn và sau đó được xác định là hnRNP (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein) A2/ B1, đây là nhóm protein có chức năng nhận diện và liên kết với RNA trong nhân tế bào [32]. Sau nghiên cứu này, vai trò của hnRNP A2/B1 trong việc phát hiện ung thư phổi tiền lâm sàng đã được nghiên cứu trên một nhóm dân số có nguy cơ cao, gồm 6000 thợ mỏ thiếc Trung Quốc, hút thuốc lá nặng và có tỷ lệ ung thư phổi cao. Nghiên cứu này chỉ ra sự biểu hiện của hnRNP A2/B1 trong các tế bào biểu mô phân lập từ đàm có độ nhạy gấp 2 - 3 lần so với các phương pháp chẩn đoán tiêu chuẩn như X quang ngực và tế bào học đàm trong phát hiện sớm ung thư phổi [31].

#### *6.4 Nội soi phế quản và sinh thiết*

Nội soi phế quản ánh sáng trắng (WLB – White light bronchoscopy) là công cụ phổ biến nhất được dùng để có được chẩn đoán mô học xác định ung thư phổi. Tuy nhiên, nội soi phế quản có những hạn chế nhất định trong chẩn đoán đối với các tổn thương tiền ung thư. Các tổn thương này thường khó phát hiện bằng mắt thường vì chúng chỉ bao gồm một vài lớp tế bào có độ dày từ 0,2–1 mm và đường kính chỉ vài mm.

Việc quan sát hay phát hiện các tổn thương vảy nhỏ đòi hỏi trình độ đào tạo cao, vì chỉ có 29% trường hợp được phát hiện bởi bác sĩ nội soi phế quản có kinh nghiệm. Sự phát triển của nội soi phế quản huỳnh quang đã giải quyết hạn chế này. Tuy nhiên, mặc dù phương pháp này có thể định vị được ung thư biểu mô xâm lấn tối thiểu và ung thư biểu mô tại chỗ, tuy nhiên việc phát hiện loạn sản vẫn là vấn đề khó khăn. Hơn nữa, sự phát triển của hệ thống chẩn đoán quang động học bị ảnh hưởng bởi các vấn đề về độ nhạy và can thiệp vào quá trình tự phát huỳnh quang của mô. Để khắc phục điều này, hệ thống mới chẩn đoán quang động học bằng laser được phát triển bằng cách sử dụng chất huỳnh quang đặc hiệu cho khối u ở bước sóng 630 nm. Bước sóng này khác biệt hoàn toàn với huỳnh quang nội sinh điển hình của mô, nằm trong khoảng bước sóng 500–580nm.

Bằng việc sử dụng cảm biến tích điện kép chất lượng cao và các thuật toán độc đáo, thiết bị nội soi



huỳnh quang hình ảnh phổi (LIFE – lung imaging fluorescene endoscopy) được phát triển dựa trên nguyên tắc các mô loạn sản và ác tính giảm tín hiệu huỳnh quang so với mô lành [33].

Nhiều nghiên cứu được thực hiện nhằm so sánh độ nhạy và độ đặc hiệu của nội soi phế quản ánh sáng trắng và huỳnh quang trong chẩn đoán các tổn thương tiền ung thư và ung thư xâm lấn tối thiểu. Hầu hết các nghiên cứu đều báo cáo độ nhạy của nội soi phế quản huỳnh quang cao hơn trong việc phát hiện các tổn thương tiền ung thư và ung thư xâm lấn tối thiểu nhưng đổi lại độ đặc hiệu thấp (tức là dương tính giả cao). Đáng ngạc nhiên, tỷ lệ tiền ung thư và ung thư xâm lấn tối thiểu rất khác nhau qua các nghiên cứu. Sự dao động này có thể lý giải là do sự khác biệt về kinh nghiệm của các bác sĩ nội soi.

Việc sử dụng thiết bị nội soi phế quản huỳnh quang hình ảnh phổi (LIFE) đã phát hiện được một thương tổn mới được định nghĩa là dị sản vảy tân sinh mạch (ASD - Angiogenic Squamous Dysplasia). Nghiên cứu cũng chỉ ra những thay đổi loạn sản mạch máu thường được tìm thấy ở các tổn thương tiền ung thư và ung thư giai đoạn sớm ở phế quản. ASD được tìm thấy trong giai đoạn tiền ung thư ở những người hút thuốc. Do đó, ASD có ý nghĩa quan trọng trong theo dõi dài hạn và mở đường cho các nghiên cứu trong tương lai nhằm đánh giá vai trò của ASD như một dấu ấn sinh học của các tổn thương sớm là một lĩnh vực rất đáng quan tâm [34–37].

## 7. Sinh thiết mô phổi

Tiêu chuẩn vàng để chẩn đoán xác định ung thư phổi là sinh thiết mô. Các mẫu sinh thiết phải đủ lớn để đảm bảo quy trình giải phẫu bệnh cho phép trả lời được các phân loại ung thư phổi. Việc sinh thiết ban đầu là rất quan trọng để chẩn đoán xác định sớm, tránh việc phải lặp lại sinh thiết làm gia tăng nguy cơ biến chứng và trì hoãn khởi đầu điều trị. Nhiều kỹ thuật được sử dụng trong chẩn đoán ung thư phổi gồm có nội soi phế quản quang học kèm hay không kèm chọc hút bằng kim xuyên phế quản, siêu âm nội phế quản, chọc hút bằng kim xuyên thành ngực dưới sự hướng dẫn của hình ảnh học, nội soi trung thất, phân tích dịch màng phổi (chọc hút dịch màng phổi), nội soi lồng ngực và phẫu thuật. Các thủ thuật này tốn kém, dễ xảy ra biến chứng và có thể cần phải lấy thêm mẫu để kiểm tra [36].

### *Câu nói giữa các phương pháp sàng lọc truyền thống và hiện đại*

Việc giới thiệu các xét nghiệm dấu ấn sinh học, các xét nghiệm đột biến đã tận dụng hiệu quả nhất các mẫu sinh thiết mô. Đột biến EGFR là loại thường gặp nhất có khả năng điều trị nhắm trúng đích, theo đó, việc kiểm tra đột biến EGFR đã trở thành một phần trong thực hành chuẩn kể từ năm 2011, tuy nhiên không được đánh giá liên tục. Một số ý kiến cho rằng các xét nghiệm có thể giảm thời gian bắt đầu điều trị. Một trở ngại khác là các mẫu mô từ sinh thiết thường đủ để chẩn đoán mô học nhưng không đủ để xét nghiệm dấu ấn sinh học, đòi hỏi phải thực hiện sinh thiết lại, điều này có thể là thách thức về mặt rủi ro, chi phí và sự chấp nhận của bệnh nhân. Các thử nghiệm có thể thất bại vì lý do kỹ thuật. Để chẩn đoán chính xác cần sự phối hợp đa chuyên ngành gồm bác sĩ hô hấp, bác sĩ chẩn đoán hình ảnh để đảm bảo thu thập đủ mẫu mô để xét nghiệm [20,37].

Oncomine (chỉ kiểm tra *EGFR*, *BRAF*, và *ROS1*), MSK IMPACT (Integrated Mutation

Profiling of Actionable Cancer Targets – nền tảng cho phép phân tích di truyền hàng trăm gen có thể xử lý được trong cùng một lần thử nghiệm) và Foundation One CDx là các nền tảng dựa trên giải trình tự gen thế hệ mới (NGS – Next-Generation Sequencing) được FDA chấp thuận để thử nghiệm cấp độ phân tử. Các xét nghiệm dựa trên giải trình tự gen thế hệ mới có thể đánh giá các dấu ấn sinh học chỉ với một xét nghiệm duy nhất do đó làm giảm chi phí, kiểm tra nhiều bệnh nhân hơn và giảm nhu cầu thực hiện lại sinh thiết.

Xét nghiệm giải trình tự gen thế hệ mới thường được sử dụng trong các phòng thí nghiệm sinh học phân tử là PCR đa môi để khuếch đại trực tiếp các vùng gen quan tâm. Tuy nhiên, xét nghiệm này có hạn chế về số lượng gen và vùng gen được bao phủ một cách hiệu quả cùng lúc. Do đó, các xét nghiệm này thường lựa chọn các vùng gen là các điểm nóng hoặc được quan tâm trên lâm sàng [38,39].

Một trong những vấn đề quan trọng mà các bác sĩ thực hành ung thư phải đối mặt là liệu cần kiểm tra sinh thiết mô so với sinh thiết lỏng hay không, thực hiện xét nghiệm DNA khối u lưu hành trong tuần hoàn (ctDNA – circulating tumor DNA) và liệu ctDNA hiện có thể thay thế sinh thiết mô thông thường hoặc lặp lại sinh thiết trong một số trường hợp lâm sàng [39,40]. Tuy nhiên, phân tích này không thực tế đối với chẩn đoán ung thư phổi vì các đột biến được quan sát được ở DNA tự do lưu hành trong tuần hoàn (cfDNA – circulating free DNA) không nhất thiết trùng khớp với DNA có nguồn gốc từ khối u của cùng một cơ thể. Hơn nữa, DNA tự do lưu hành tuần hoàn (cfDNA) cũng có thể được tìm thấy ở những người khỏe mạnh [41], điều này khiến cho việc phân biệt cfDNA với các mô lành trở thành một nhiệm vụ phức tạp. Mặc dù một giải pháp thay thế để giải quyết vấn đề này là trình tự đột biến trong cfDNA, các mô lành có thể phát triển các đột biến bắt nguồn từ các tế bào gốc tạo máu. Những đột biến này bắt nguồn từ quá trình tạo máu đơn dòng tiềm năng không xác định (CHIP - clonal hematopoiesis of indeterminate potential) là kết quả của các đột biến tế bào sinh dưỡng mắc phải theo tuổi tác [42].

Các rào cản đối với việc sàng lọc và chẩn đoán sớm ung thư phổi bằng các phương pháp truyền thống (đã thảo luận trước đó) có thể được khắc phục bằng một phương pháp đơn giản, chính xác, có thể lặp lại và không tốn kém, có thể kiểm tra hàng năm như một công cụ sàng lọc định kỳ. Một số dấu ấn sinh học đang nổi lên là công cụ cho phép chẩn đoán sớm. Bởi vì các dấu ấn sinh học huyết thanh học có thể được phân tích một cách thuận tiện và kinh tế do đó có thể sử dụng để sàng lọc hàng loạt. Các dấu ấn sinh học huyết thanh hiện có dành cho ung thư phổi không tế bào nhỏ là kháng nguyên ung thư biểu mô phôi (CEA – Carcinoembryonic Antigen) và các mảnh phân đoạn của cytokeratin 19 huyết thanh (CYFRA 21-1) được trình bày chi tiết bên dưới [43].

Các loại dịch ngoại bào, như huyết thanh, là bệnh phẩm ưa thích để xác định dấu ấn sinh học nhằm phát hiện sớm khối u. Một số nghiên cứu cũng gợi ý có thể phát hiện sớm ung thư phổi bằng cách phân tích các dấu ấn sinh học từ các mẫu mô từ đường hô hấp, bao gồm đàm, nước bọt, các tế bào biểu mô của đường hô hấp mũi/phế quản được thở ra. Hơn nữa, việc sử dụng các dấu ấn sinh học từ máu (sinh thiết lỏng) bao gồm acid nucleic tuần hoàn, protein và tế bào ung thư lưu hành trong tuần hoàn (CTCs – Circulating Tumor Cells). Việc đánh giá các dấu ấn sinh học này đòi hỏi một

phương pháp xâm lấn tối thiểu, có thể lặp lại và ít tốn kém so với các phương pháp chẩn đoán hình ảnh [44].

## 8. Chuyên sang ứng dụng dấu ấn sinh học

Trên thực tế, như đã thảo luận trước đó, nền tảng của việc chẩn đoán ung thư phổi là X quang ngực và sinh thiết mô. Tuy nhiên, khi cân nhắc về những hạn chế của chúng như bỏ lỡ chẩn đoán sớm, chi phí và nguy cơ của các phương pháp chẩn đoán, đặc biệt là sinh thiết, các kỹ thuật đơn giản như xét nghiệm máu mang đến một lựa chọn an toàn và nhanh chóng hơn nhiều. Trung tâm Ung thư MDAnderson báo cáo kết quả ghi nhận tỷ lệ biến chứng xảy ra hơn 17% sau sinh thiết lồng ngực chẩn đoán ung thư phổi. [45].

### 8.1 DNA tự do trong tuần hoàn (cfDNA – Circulating free DNA)

Đây là một phương pháp sinh thiết lỏng không xâm lấn giúp phân tích DNA tự do trong tuần hoàn (cfDNA) và tế bào ung thư lưu hành trong tuần hoàn (CTCs – Circulating Tumor Cells) từ mẫu máu thông thường hoặc mẫu nước tiểu. DNA tự do lưu hành tuần hoàn (cfDNA) được giải phóng bởi các tế bào bình thường và các tế bào có mặt trong các quá trình bệnh lý (ví dụ: viêm và tân sinh). DNA khối u lưu hành tuần hoàn (ctDNA) là một tập hợp con của cfDNA được giải phóng bởi các tế bào khối u xảy ra thông qua các quá trình: chết theo chương trình, hoại tử và bài tiết. Phân tích các biến đổi di truyền bao gồm đột biến điểm, kiểu methyl hóa, tái sắp xếp nhiễm sắc thể, tái sắp xếp cấu trúc và số lượng bản sao. Ví dụ về các tế bào đóng góp vào DNA tự do (cfDNA) bao gồm các tế bào bị thay đổi do: (i) Các quá trình bình thường (ví dụ: niêm mạc ruột), (ii) quá trình viêm nhiễm hoặc qua trung gian miễn dịch khác và (iii) liên quan đến ung thư. Do đó, ctDNA là một sản phẩm của khối u. Thông thường, thực bào làm sạch các mảnh vụn tế bào; tuy nhiên, điều này xảy ra không hiệu quả trong khối u rắn vì các mảnh vụn tế bào tích tụ và chúng được giải phóng vào máu [46]. Sàng lọc di truyền ngoại gen là lĩnh vực nghiên cứu những thay đổi cấu trúc trong các vùng nhiễm sắc thể không liên quan đến các thay đổi trên DNA, nhằm đánh dấu các trạng thái hoạt động bất thường và tỏ ra là dấu ấn tiềm năng chẩn đoán ung thư phổi. Quá trình methyl hóa DNA và sửa đổi histone ảnh hưởng đến sự biểu hiện gen và có thể ảnh hưởng đến việc phát hiện sớm ung thư phổi [47].

Mặc dù việc ứng dụng DNA tự do (cfDNA) cho thấy kết quả đầy hứa hẹn, nhưng các phân tích sâu hơn qua các nghiên cứu lại cho thấy một bức tranh hoàn toàn khác. Một phân tích gộp bao gồm 10 nghiên cứu sử dụng cfDNA cho thấy độ nhạy chung là 0,8 và dao động từ 0,48 đến 0,91 qua các nghiên cứu [48]. Về độ đặc hiệu, độ đặc hiệu chung được tính toán là 0,77, dao động từ 0,47 đến 1. Giá trị  $I^2$  lần lượt là 86,6% và 93,4% cho thấy tính không đồng nhất giữa các nghiên cứu [48]. Những kết quả này biểu thị rằng độ nhạy và độ đặc hiệu chung của các nghiên cứu là kết quả của tính không đồng nhất chứ không phải ngẫu nhiên.

### 8.2 Kháng nguyên lưu hành trong máu

Một số kháng nguyên được tìm thấy trong máu được nghiên cứu trong nhiều năm chứng tỏ là dấu ấn sinh học tiềm năng trong ung thư phổi. Các dấu ấn sinh học được nghiên cứu nhiều nhất bao gồm CYFRA 21-1, kháng nguyên ung thư biểu mô phổi (CEA – Carcinoembryonic Antigen), enolase

đặc hiệu của tế bào thần kinh (NSE – neuron specific enolase) và kháng nguyên ung thư biểu mô tế bào vảy (SCC-Ag - squamous cell carcinoma antigen). Bảng sau đây cung cấp về độ nhạy và độ đặc hiệu được báo cáo qua các thử nghiệm lâm sàng (Bảng 2).

**Bảng 2.** Phân tích độ nhạy và độ đặc hiệu của các kháng nguyên phổ biến được tìm thấy trong ung thư phổi.

Tên kháng nguyên	Loại ung thư	Độ nhạy	Độ đặc hiệu	Tài liệu tham khảo
<b>CYFRA</b>	SCLC	34	95	[49]
	NSCLC	49	96	[49]
	ND	43	89	[50]
	ND	85.1	88.3	[51]
	NSCLC	59	94	[52]
	SQC	68	94	[52]
	SCLC	19	94	[52]
	NSCLC	40	95	[52]
<b>CEA</b>	NSCLC	29	95	[49]
	ND	69	68	[50]
	ND	55	79.6	[51]
	NSCLC	42	95	[53]
<b>SCC</b>	NSCLC	17	95	[49]
	ND	35.6	71.2	[51]
	SQC	95	32	[54]
	NSCLC	19	95	[53]
<b>NSE</b>	SCLC	54	95	[49]
	ND	23.4	91.2	[51]

SCLC: ung thư phổi tế bào nhỏ ; NSCLC: ung thư phổi không tế bào nhỏ; SQC: ung thư tế bào vảy; ND: không xác định.

Được đề cập trong Bảng 2, các kháng nguyên được tìm thấy trong loại ung thư phổi khác nhau. Những kháng nguyên này có thể bắt nguồn ung thư tại thời điểm lấy máu và/hoặc các phương pháp khác được sử dụng để phân tích, chẳng hạn như sự khác biệt trong bộ kit ELISA từ các nhà cung cấp khác nhau, bao gồm ngưỡng giá trị kháng nguyên do được đặt bởi công ty. Tổng hợp lại, dường như một dấu ấn sinh học kháng nguyên duy nhất không có giá trị để chẩn đoán và có thể cần xem xét phương pháp tiếp cận đa kháng nguyên kết hợp hay không kết hợp với các dấu ấn sinh học khác.

### 8.3 DNA tự do (cfDNA) và tế bào khối u lưu hành tuần hoàn (CTCs)

Khám phá đầu tiên về DNA và RNA tuần hoàn trong huyết tương của những người khỏe mạnh và người bệnh bắt đầu vào năm 1948 [55]. Khám phá này sau đó đã được thừa nhận sau hơn 30 năm khi có sự gia tăng số lượng ở bệnh nhân ung thư. Trong suốt thập kỷ 2000–2010, các nghiên cứu tiến hành cho thấy mối quan hệ trực tiếp giữa DNA tự do và ung thư, cụ thể lượng cfDNA trong tuần hoàn có tương quan với kích thước khối u [55]. Người ta cũng phát hiện ra rằng cfDNA tồn tại ổn định và gia tăng đồng thời do tổn thương tế bào. Do đó, cfDNA đã được đề xuất như là một dấu ấn cho sự chết của tế bào ung thư. Những nỗ lực sử dụng cfDNA như một dấu ấn sinh học sàng lọc và chẩn đoán đã được chứng minh là có thể xác định ung thư phổi giai đoạn sớm. Việc phát hiện DNA lưu hành tuần hoàn (ctDNA) trong huyết tương phụ thuộc vào việc giải phóng cfDNA, tốc độ giải phóng cfDNA được tính bằng cách so sánh tốc độ giải phóng DNA bởi các tế bào khối u so với độ thanh thải của thận. Một trong những biến số quan trọng là tốc độ phân bào và khối u. Ví dụ, việc phát hiện ctDNA sẽ thuận lợi khi có di căn, xương hoặc gan. Lượng cfDNA trung bình được tìm thấy ở một người bình thường dao động từ 5–10 ng/mL [55]. Ở bệnh nhân ung thư, tùy thuộc vào loại ung thư và giai đoạn, nồng độ cfDNA có thể tăng cao gấp 50 lần so với nồng độ bình thường.

Một cách khác xét nghiệm cfDNA là sử dụng phản ứng chuỗi polymerase (PCR). Một nghiên cứu thực hiện đo nồng độ DNA huyết tương ở 84 bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ, tiến hành so sánh với nhóm chứng gồm 43 người hiến máu khỏe mạnh [56]. Kết quả nghiên cứu này cho thấy rằng bệnh nhân ung thư phổi có thể khác biệt với nhóm chứng. Ngay cả ở bệnh nhân giai đoạn 1A, lượng cfDNA trong huyết tương cũng cao hơn đáng kể so với nhóm chứng. Tuy nhiên, một nghiên cứu khác cũng đo cfDNA như một công cụ sàng lọc cho thấy cfDNA không thể phân biệt sự khác biệt trong một nhóm gồm 1000 người hút thuốc lá có nguy cơ cao, do đó cho thấy dấu ấn này không thể dự đoán được sự tiến triển thành ung thư phổi. Mặc dù cfDNA có thể không phải là dấu ấn có hiệu quả để sàng lọc những người hút thuốc lá có nguy cơ cao, nhưng đây vẫn có thể có vai trò chẩn đoán các nốt được xác định bằng CT liều thấp là lành tính hay ác tính. Các nghiên cứu cũng nêu ra những hạn chế đối với việc áp dụng các dấu ấn sinh học một cách rộng rãi tại phòng khám, chủ yếu là do độ chính xác và duy trì việc sử dụng rộng rãi các dấu ấn sinh học trong sinh thiết lỏng [46,57–59].

Một yếu tố dự báo khác về sự tiến triển của ung thư là định lượng tế bào khối u lưu hành trong tuần hoàn (CTCs). CellSearch là thiết bị được sử dụng để phát hiện và đếm các tế bào ung thư lưu hành trong máu. Nền tảng này sử dụng máu toàn phần để đánh giá tế bào khối u lưu hành trong tuần hoàn có nguồn gốc biểu mô trong các nghiên cứu lâm sàng mở rộng đối với ung thư vú và ung thư tuyến tiền liệt như là dấu ấn về đáp ứng điều trị và các chỉ số tiên lượng. Các nghiên cứu chỉ ra rằng các tế bào khối u lưu hành trong tuần hoàn CTC trong máu có mối liên quan đến giảm tỷ lệ sống sót chung ở những bệnh nhân được điều trị ung thư vú, đại trực tràng hoặc tuyến tiền liệt di căn. Do đó, CTC mang đến cơ hội thu thập và phân tích các khía cạnh cá thể hóa trên bệnh nhân ung thư và đã được chứng minh là nền tảng quan trọng của y học chính xác. Những tiến bộ kỹ thuật hiện nay đã giúp phát hiện và mô tả đặc điểm của các CTCs riêng lẻ trong máu bệnh nhân [60]. Nền tảng

của việc xác định CTCs trong máu là đo lường phân tử kết dính biểu mô (EpCAM – Epithelial Cell Adhesion Molecule) [60]. Các phương pháp đo lường không dựa vào EpCAM cũng đang được nghiên cứu. Các nghiên cứu cũng đang tìm cách phân loại CTCs bằng các chỉ số chuyển tiếp từ biểu mô sang trung mô có thể được sử dụng để giám sát tiến triển của bệnh.

## 9. Sử dụng sinh thiết lỏng trong ung thư phổi

Sinh thiết lỏng bằng cách sử dụng các dấu ấn sinh học sàng lọc về di truyền, phiên mã và ngoại gen ở các đối tượng nguy cơ cao được xem là một công cụ sàng lọc sơ bộ trước khi sử dụng CT. Thêm nữa, chẩn đoán sớm bằng cách sử dụng dấu ấn sinh học giúp chẩn đoán phân biệt các nốt trung gian được xác định bằng CT, từ đó giúp lựa chọn các đối tượng cần hay không cần thực hiện sinh thiết.

Sinh thiết lỏng được ứng dụng trong việc phát hiện sớm, theo dõi các khối u nguyên phát và di căn, đánh giá và theo dõi điều trị cũng như sự đề kháng. Tuy nhiên, chúng có một nhược điểm dẫn đến khó triển khai hàng loạt là đòi hỏi các phương pháp phân tích phức tạp. Tuy nhiên, các dự án như Điều chỉnh chất lượng chuỗi gen - giai đoạn 2 (SEQC2 – Sequencing Quality Control Phase 2) của FDA và Bản đồ dấu ấn sinh học trong ung thư (BloodPAC – Blood Profiling Atlas in Cancer) đang tập trung nghiên cứu các khía cạnh này [55].

Sinh thiết lỏng phân tích một cách không xâm lấn với bệnh phẩm là các dịch cơ thể, mục đích là tìm các sản phẩm phân hủy DNA và các tế bào bất thường lưu hành trong tuần hoàn. Chúng được đánh giá sẽ là trụ cột trong lĩnh vực y học chính xác, vì các phân tích di truyền cung cấp phản hồi định lượng và theo dõi đáp ứng của bệnh nhân, cho phép tiếp cận chính xác, cá nhân hóa và hướng tới cá thể hóa điều trị.

Phương pháp sinh thiết lỏng không xâm lấn có thể thực hiện trên nhiều loại dịch cơ thể khác nhau như huyết tương, nước bọt, dịch màng phổi hoặc nước tiểu tại phòng khám, đây được coi là tiến bộ công nghệ trong miễn dịch ung thư.

Việc nghiên cứu kỹ lưỡng và phân loại ung thư phổi không tế bào nhỏ thông qua các phân tích di truyền cho phép hiểu rõ về cơ chế phân tử, từ đó giúp các lựa chọn điều trị hiệu quả hơn, giảm đáng kể độc tính nhờ vào việc điều trị nhắm trúng đích các phân loại ung thư phổi không tế bào nhỏ (ví dụ: *EGFR*, *ALK*, và *ROS1*). Thật không may, không có nhiều bệnh nhân được điều trị bằng liệu pháp này. Có đến gần 80% bệnh nhân ung thư không có kết quả đột biến gen trong lần khám ban đầu với bác sĩ chuyên khoa ung thư và khoảng 25% bắt đầu điều trị ung thư trước khi nhận được kết quả đột biến. Các công ty chẩn đoán phân tử cung cấp các dịch vụ nhanh chóng để khắc phục vấn đề này, theo đó máu toàn phần được chạy qua đệm để xác định các đột biến ctDNA (trong *EGFR* và *KRAS*) ứng dụng PCR vi giọt kỹ thuật số (ddPCR – Droplet Digital PCR) và kết quả được trả trong vòng 72 giờ [61].

Một trong những thách thức trong việc ứng dụng sinh thiết lỏng để phát hiện đột biến phát sinh từ khối u là khó khăn trong phát hiện đột biến với tần số rất thấp. Điều này có thể xảy ra sau khi phẫu thuật điều trị ung thư phổi (nghĩa là một khối u nhỏ, khu trú) khi nguồn ctDNA thải



ra đã bị loại bỏ, do thận tiếp tục đào thải ctDNA. Trong những trường hợp này, xét nghiệm máu sau phẫu thuật yêu cầu phát hiện các đột biến  $\leq 0,1\%$ . Do đó, việc cải thiện độ đặc hiệu và độ nhạy của xét nghiệm u phổi là một lĩnh vực nghiên cứu có thể được dùng một như liệu pháp hỗ trợ và sàng lọc ung thư.

## **10. Ứng dụng của dấu ấn sinh học trong các mẫu bệnh phẩm trên lâm sàng**

Các bệnh phẩm có khả năng đo lường các dấu ấn sinh học là:

### *10.1 Đám*

Mặc dù xét nghiệm tế bào học đám là công cụ sàng lọc hữu ích giúp chẩn đoán sớm ung thư phổi, nhưng các khối u ngoại vi, như ung thư biểu mô tuyến phát sinh từ các đường dẫn khí nhỏ, có thể bị bỏ sót.

Kỹ thuật PCR đã được sử dụng để phát hiện các dấu ấn sinh học phân tử có tiềm năng cho việc chẩn đoán ung thư phổi giai đoạn sớm. Điều này đã được nhấn mạnh trong nghiên cứu được thực hiện trên 15 bệnh nhân từ dự án The Johns Hopkins Lung Project (JHLP) [31,62]. Trong nghiên cứu này, 50% bệnh nhân tham gia nghiên cứu ( $N=15$ ) các đột biến ung thư biểu mô tuyến hoặc ung thư biểu mô tế bào lớn đã được phát hiện trong đám trước khi có chẩn đoán lâm sàng (sau 1–13 tháng) khi mà các phương pháp truyền thống có thể đã bỏ sót.

Một gen đáng quan tâm khác là gen p16, thường bị bất hoạt hoặc đột biến trong ung thư phổi [63]. Đo lường sự methyl hóa vượt mức của các đảo CpG trong đám ở bệnh nhân ung thư phổi đã cho thấy có mối tương quan cao với giai đoạn sớm của ung thư phổi không tế bào nhỏ, từ đó gợi ý rằng sự methyl hóa vượt mức p16 CpG có thể hữu ích trong chẩn đoán sớm ung thư phổi.

Khả năng ứng dụng các microRNAs huyết tương (miRNA) như là một dấu ấn sinh học mới có khả năng phát hiện sớm ung thư phổi đã được nghiên cứu. Dấu ấn sinh học miRNA có khả năng sàng lọc và phát hiện sớm ung thư phổi. Đây là những RNA không mã hóa có chiều dài 22 nucleotide nhắm vào các vùng cụ thể hay các chuỗi mRNA, thường được tìm thấy ở đầu 3' của các vùng không dịch mã của mRNA. Nó ngăn cản quá trình dịch mã hoặc thúc đẩy quá trình phân hủy mRNA và dẫn đến điều chỉnh giảm hoạt động các gen cụ thể. Vì miRNA có tính ổn định hơn so với mRNA nên có thể được sử dụng là các dấu ấn chỉ báo nguy cơ hay chẩn đoán ung thư phổi hướng tới ứng dụng rộng rãi trong thực hành lâm sàng.

Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng các miRNA này lưu hành khác nhau trong huyết tương của bệnh nhân ung thư phổi. Các miRNAs bao gồm miR-155, miR-197 và miR-182, đã được chứng minh có độ đặc hiệu và độ nhạy cao cho phép phân biệt tất cả các giai đoạn ung thư phổi, bao gồm cả giai đoạn I của ung thư phổi. Qua các thử nghiệm lâm sàng quy mô lớn, các dấu ấn này có thể được sử dụng như một xét nghiệm sàng lọc không xâm lấn bổ sung vào quy trình sàng lọc bằng CT liều thấp và có thể là xét nghiệm để giám sát và theo dõi lâm sàng bệnh nhân ung thư phổi [61].

Một số nghiên cứu đã khám phá công dụng của miRNA trong các mẫu đám. Dữ liệu miRNA trong đám có thể được dùng để chẩn đoán ung thư phổi không tế bào nhỏ. Gần đây, các nghiên cứu có thể nhận ra và phân biệt các dữ liệu miRNA, được sử dụng trong việc phát hiện sớm ung thư biểu mô tế



bào vảy (SCC) hay ung thư biểu mô tuyến. Ví dụ: Đặc trưng của ung thư biểu mô tế bào vảy gồm ba miRNA cho phép chẩn đoán sự hiện diện của SCC giai đoạn I trong đàm của bệnh nhân. Đặc trưng của ung thư biểu mô tế bào tuyến bao gồm bốn miRNA được phát hiện không có sự trùng lặp giữa hai miRNA được tìm thấy trong đàm ở bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến giai đoạn I. Bảy miRNA khác nhau đã được xác định trong hai đặc trưng này và những miRNA này có thể được dùng là yếu tố dự báo nguy cơ ung thư phổi. Trong các nghiên cứu phân tích miRNA trên các tổn thương đường thở tiền ác tính, đã tìm thấy 69 miRNA ở các bệnh nhân có nguy cơ cao từ giai đoạn tiền xâm lấn đến các giai đoạn xa hơn trong tiến triển của ung thư phổi [64].

Mặc dù biểu hiện miRNA trên đường thở có thể đóng vai trò là dấu ấn sinh học phát hiện sớm ung thư phổi, tuy nhiên nó chỉ phát hiện được từ các tổn thương tiền ung thư của các mẫu mô phế quản [65].

microRNA và methylome trong huyết tương hoặc nước tiểu.

### 10.2 Dịch rửa phế quản phế nang (BAL – Bronchoalveolar Lavage)

Xét nghiệm tế bào học bệnh phẩm dịch rửa phế quản phế nang (BAL) thường dùng trong chẩn đoán. Hiện nay, BAL cũng là một loại bệnh phẩm được sử dụng các xét nghiệm dấu ấn sinh học phân tử để có được chẩn đoán sớm. BAL được thu thập bằng cách bơm rửa và hút dung dịch nước muối sinh lý các đoạn phế quản xa qua nội soi phế quản ống mềm. Các dấu ấn phân tử bao gồm đột biến *p53*, đột biến *KRAS*, trạng thái methyl hóa của đảo CpG của gen *p16* và biến đổi microsatellite (Microsatellite là một chuỗi gồm các đơn vị lặp lại liên tiếp của các nucleotid trên DNA, độ dài ngắn, thường chỉ từ 1 đến 6 nucleotid. Microsatellite là một phần quan trọng của các khu vực không mã hóa trong genome và có vai trò quan trọng trong các quá trình tổ hợp và sửa chữa DNA) đã được nghiên cứu trong các mẫu dịch rửa phế quản phế nang. Ngoài ra, một nghiên cứu đã kiểm tra 50 bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ đã được cắt bỏ khối u và tiến hành so sánh các khối u và BAL về các dấu ấn sinh học phân tử đó. Ngoài trừ có thử nghiệm có biến đổi microsatellite, tất cả các thử nghiệm đều có độ nhạy tương đối cao, có thể phát hiện các tế bào đột biến khi có sự gia tăng đáng kể các tế bào bình thường. Kết quả cho thấy đột biến *p53* chiếm ưu thế trong các ung thư tế bào vảy, trong khi đột biến *KRAS* chiếm ưu thế trong ung thư biểu mô tuyến. Bên cạnh những biến đổi microsatellite, sự thay đổi di truyền trong mẫu BAL cũng như trong các khối u luôn được tìm thấy. Thật không may, khối u nhỏ, ở ngoại vi là ít đặc hiệu nhất, đây là nhóm khối u mà việc can thiệp sớm sẽ mang lại giá trị tốt hơn. Cần thêm các nghiên cứu sâu hơn sử dụng các dấu ấn này áp dụng cho các quần thể có nguy cơ cao, ví dụ như những người hút thuốc lá không bị ung thư phổi và những người sống sót sau khi mắc ung thư [66].

### 10.3 Máu ngoại vi

Như đã đề cập trước đây, sự hạn chế về khả năng tiếp cận các ung thư biểu mô đã dẫn đến việc cần thiết phải xác định các dấu ấn hòa tan liên quan đến khối u từ các mẫu bệnh phẩm không xâm lấn và dễ tiếp cận như huyết thanh hay huyết tương. Với sự phát triển của công nghệ DNA và việc sử dụng các kỹ thuật PCR cho khả năng phát hiện lượng rất nhỏ DNA lưu hành trong máu, người ta cũng phát hiện rằng huyết tương và huyết thanh bệnh nhân ung thư có nồng độ DNA

gấp bốn lần so với lượng DNA tự do trong nhóm chứng [67].

Một so sánh được thực hiện trên bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ về sự biến đổi microsatellite trong DNA khối u và huyết tương. Kết quả cho thấy 93% bệnh nhân có sự biến đổi microsatellite trong DNA khối u cũng cho thấy biến đổi DNA huyết tương [68]. Kết quả này cho thấy rằng những biến đổi DNA lưu hành huyết tương có thể được sử dụng như một dấu ấn sinh học sớm. Một dạng biến đổi khác trong DNA lưu hành có liên quan đến quá trình methyl hóa DNA bất thường. DNA methyl hóa vượt mức được tìm thấy trong tất cả các giai đoạn ung thư, mở ra khả năng phát hiện sớm ung thư phổi. Các đột biến gen khác như đột biến gen *p53* và *KRAS* được xác định là các dấu ấn trong huyết tương và huyết thanh của bệnh nhân mắc các bệnh ung thư khác như ung thư đại trực tràng và ung thư tụy nhưng vẫn chưa được thiết lập trong ung thư phổi [47]. Ngoài ra, sự thay đổi về biểu hiện gen trong các tế bào bạch cầu lưu thông trong máu cũng được xác định trong các khối u phổi.

Việc xác định dấu ấn sinh học biểu hiện gen là mong muốn đo mRNA trong máu, nhưng các nghiên cứu tương đối hạn chế do sự phân hủy RNA, hạn chế trong sử dụng dấu ấn sinh học dựa trên phiên mã để phát hiện sớm ung thư phổi. Chẳng hạn, một nghiên cứu đã phân tích biểu hiện gen trong các tế bào đơn nhân máu ngoại vi của những người hút thuốc lá có chẩn đoán mô học là ung thư phổi không tế bào nhỏ [69], đồng thời xác định đặc trưng của 29 gen giúp phân biệt bệnh nhân mắc và không mắc ung thư phổi. Một nghiên cứu khác đã phân tích sự biểu hiện gen của mô phổi bằng cách sử dụng RNA huyết thanh trong máu ngoại vi được thu thập bằng các ống PAXgene blood RNA (PAXgene Blood RNA Tubes là một loại ống thu mẫu máu được sử dụng để thu thập và bảo quản mẫu máu chứa RNA. Ống này chứa một hỗn hợp chất bảo quản RNA để ngăn ngừa phân hủy RNA trong quá trình vận chuyển và lưu trữ). Nghiên cứu gồm 2 nhóm gồm các bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến và nhóm chứng nhằm xác định các biểu hiện gen khác nhau, từ đó có thể được xét nghiệm trong máu để cải thiện việc nhận diện các bệnh nhân có nguy cơ mắc bệnh trong tương lai. Họ đã chỉ ra rằng các mẫu máu toàn phần được bảo quản RNA (RNA-stabilized whole-blood samples) có tiềm năng phát triển thành một phân loại dựa trên biểu hiện gen giúp phân biệt giữa bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ và nhóm chứng [67,70].

Tính ổn định của miRNA là vấn đề hấp dẫn cần được khám phá vì tiềm năng sử dụng như là một dấu ấn sinh học trong máu cho việc phát hiện sớm ung thư phổi. Các nghiên cứu trước đây cho thấy tính ứng dụng của miRNA trong chẩn đoán ung thư. Ví dụ, một bộ gồm bảy miRNA được biểu hiện khác biệt ở những bệnh nhân ung thư, đã được chứng minh bằng giải trình tự gene thế hệ mới với độ phủ sâu (ultra deep sequencing) trên các mẫu máu từ 10 bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ và 10 người khỏe mạnh đối chứng [71]. Kết quả cho thấy các đặc trưng miRNA có khả năng dự đoán sự phát triển và tiên lượng ung thư phổi.

Khi miRNA được phân tích song song với các đột biến gen gây ung thư, thì khả năng dự đoán về sự phát triển ung thư tốt hơn sau khi tìm thấy đặc trưng của 6 miRNA đặc hiệu cho ung thư phổi [72]. Phát hiện này rất quan trọng vì đây là câu hỏi cho mối liên hệ tiềm năng giữa tổn thương di truyền và kiểm soát sau di truyền được tạo ra bởi cơ chế miRNA. Phân tích này không xâm

lần và có thể phát hiện cả miRNA và đột biến gen gây ung thư trong cùng một mẫu. Hơn nữa, việc giải mã các đột biến gây ung thư, có thể đại diện cho đặc trưng của mỗi cá thể, vì thế có thể ứng dụng trong việc phát triển một loại thuốc cá nhân hóa trong phòng ngừa ung thư.

Tóm lại, việc sử dụng miRNA vẫn còn đặt ra nhiều câu hỏi và cần thêm các nghiên cứu để chứng minh tính ứng dụng trong chẩn đoán ung thư phổi.

Phương pháp ELISA để phát hiện protein mã hóa bởi vùng đọc khung mở 1 (ORF1p) trong dấu ấn sinh học huyết thanh có thể được sử dụng để xác định bệnh nhân có nguy cơ cao phát triển ung thư phổi dựa trên kết quả sàng lọc CT liều thấp. Như vậy, định lượng ORF1p trong huyết thanh có thể cung cấp một kỹ thuật xâm lấn tối thiểu có thể bổ sung cho sàng lọc ung thư phổi hiện tại bằng CT liều thấp [73].

#### 10.4 Nước tiểu

Nước tiểu hiếm khi được sử dụng để tìm kiếm các dấu ấn sinh học. Tuy nhiên, nước tiểu vẫn cho thấy tiềm năng được dùng như một dấu ấn sinh học trong ung thư phổi. Các chất được đề xuất là dấu ấn sinh học tiềm năng để chẩn đoán ung thư phổi gồm: các đặc trưng của các hợp chất hữu cơ dễ bay hơi (VOC - volatile organic compounds) và phân tích protein.

Trong trường hợp VOC, mỗi cá nhân sẽ có đặc trưng duy nhất. Một nghiên cứu nhằm đánh giá tính khả thi của phép đo VOC để tìm ra dấu ấn sinh học đã tiến hành tuyển chọn bệnh nhân ung thư phổi. Thu thập mẫu nước tiểu và phân tích bằng cảm biến cartridge (A urine cartridge sensor là một loại cảm biến được sử dụng để phân tích và đo lường các thành phần hóa học trong mẫu nước tiểu) với một dãy 73 điểm [74]. Kết quả cho thấy độ chính xác với độ nhạy và độ đặc hiệu khá dao động, với các giá trị lần lượt là 36–95,5% và 60–97,6. Những biến thể được quan sát khi so sánh giữa các loại ung thư so với nhóm chứng [74]. Mặc dù VOC rất hứa hẹn, nhưng cần có nhiều nghiên cứu hơn để đánh giá giá trị của xét nghiệm này trong thực hành lâm sàng. Hơn nữa, rõ ràng là VOC sẽ dao động tùy theo kiểu hình cá nhân cũng như chế độ ăn uống và dân tộc. Do đó, tất cả các yếu tố này sẽ có ảnh hưởng trực tiếp đến giá trị nền của VOC. Một hạn chế khác của nghiên cứu là cỡ mẫu, nhưng kết quả sơ bộ rất đáng khích lệ.

Một thử nghiệm gần đây là chuyển đổi thuốc kháng virus amantadine đã được FDA chấp thuận. Báo cáo cho thấy thuốc amantadine bị acetyl hóa bởi enzyme Spermidine N.1-acetyltransferase hoặc SSAT-1 [75], và nồng độ amantadine acetyl hóa có thể được phát hiện trong nước tiểu do sản phẩm acetyl hóa không còn được xúc tác nữa [76]. SSAT-1 là một loại enzyme tăng cường điều hòa trong ung thư, chúng có vai trò trong chu kỳ tế bào [77]. Xét nghiệm amantadine rất đơn giản và người bệnh được yêu cầu uống viên thuốc amantadine và lấy mẫu nước tiểu (thời điểm T=0). Sau 2 giờ, lấy mẫu nước tiểu thứ hai (thời điểm T = 2 giờ). Việc đo nồng độ acetyl amantadine trong nước tiểu có thể được sử dụng để chỉ ra sự tiến triển của ung thư và đây là kỹ thuật hoàn toàn không xâm lấn (chỉ cần mẫu nước tiểu), đơn giản, có khả năng ứng dụng lâm sàng cho phép chẩn đoán ung thư phổi. Ví dụ: Trong một thử nghiệm lâm sàng khi so sánh giữa nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm chứng, phân tích đường cong ROC (ROC - receiver operating characteristic) cho thấy diện tích dưới đường cong AUC (AUC – Area under curve) là 0,689 [76]. Do đó, nồng độ amantadine

acetyl hóa có thể được xem như là một xét nghiệm sàng lọc hữu ích và đơn giản để chẩn đoán sớm ung thư phổi [75,78–80]. Các ứng dụng khác là theo dõi người làm việc với các vật liệu gây ung thư (ví dụ: amiăng), người hút thuốc lá, dân số có nguy cơ cao và theo dõi tái phát ung thư sau khi điều trị.

Gần đây, tiềm năng ứng dụng các thể tiết ngoại bào EV (EVs – extracellular vesicles) đã được đề xuất [81]. Những túi này được phân lập từ các loại dịch cơ thể khác nhau, bao gồm nước tiểu, dịch rửa phế quản phế nang và huyết thanh của chuột. Nồng độ EpCAM được đo lường trong các túi này, vì protein này có vai trò quan trọng trong quá trình hình thành khối u như một trung gian kết dính tế bào với tế bào [82]. Khi cho chuột phơi nhiễm thuốc lá, đã quan sát thấy có sự gia tăng nồng độ các thể tiết ngoại bào trong dịch rửa phế quản phế nang, điều này kết luận rằng việc phát hiện các thể tiết ngoại bào các chất dịch cơ thể khác nhau có thể được ứng dụng để chẩn đoán sớm ung thư phổi. Tuy nhiên, đáng chú ý là các thể tiết ngoại bào này chưa được thử nghiệm trên người và cần thực hiện nhiều nghiên cứu hơn để xác nhận tính chính xác.

### 10.5 *Metabolomics*

Dữ liệu Metabolomics có ưu điểm là cung cấp thông tin về nồng độ chất chuyển hóa đặc trưng cho các giai đoạn bệnh. Gần đây, việc ứng dụng các chất chuyển hóa trong các loại dịch thể khác nhau như huyết thanh, đàm, nước tiểu dự báo sự phát triển đi của ung thư cho thấy các kết quả đầy hứa hẹn [83–87].

Các nghiên cứu về metabolomic sử dụng huyết thanh cho thấy các chất chuyển hóa acid aspartic và acid pyruvic có khác biệt giữa bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm chứng khỏe mạnh [84]. Tuy nhiên, một nghiên cứu khác cho thấy các chuyển hóa như glycerophospho- $\beta$ -arachidonoyl, ethanolamine và sphingosine với độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 77% và 93%, và 97% và 90% [86].

Khi phân tích các mẫu đàm nhằm phân biệt bệnh nhân ung thư phổi với nhóm chứng khỏe mạnh, các chất chuyển hóa cardiolipin (dẫn xuất), hexanal, axit cysteic và axit hydroxypyruvic cho thấy sự khác biệt đáng kể, với AUC nằm trong khoảng 0,81–1,0 [83]. Trong phân tích các mẫu mô hôi, trisaccharit MG (22:2), acid nonanedioic, tetrahexose và trihexose cho thấy độ nhạy và độ đặc hiệu được tính toán là 80% và 79%, với giá trị tiên đoán âm tính và dương tính giả xấp xỉ 20% [85].

Cuối cùng, giả thuyết rằng nồng độ SSAT-1 tăng lên trong ung thư phổi và xem xét rằng enzyme này có liên quan đến quá trình chuyển hóa polyamine [88], việc đánh giá những thay đổi của con đường polyamine là cần thiết. Do đó, bộ gồm sáu chất chuyển hóa tương ứng với con đường polyamine cho phép phân biệt bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm chứng với diện tích dưới đường cong (AUC) là 0,97 [87]. Khi sử dụng 5 chất chuyển hóa đánh giá các mẫu sinh thiết lỏng, cho diện tích dưới đường cong AUC > 0.9 tương ứng với các giai đoạn sớm của ung thư phổi không tế bào nhỏ, cho phép phân biệt giai đoạn I và II so với nhóm chứng [89].

Mặc dù metabolomics là một lĩnh vực mới nổi trong chẩn đoán ung thư, vì thế cần thực hiện nhiều nghiên cứu hơn để khẳng định tính nhất quán trong việc sử dụng nó. Nhiều yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả không đồng nhất khi so sánh các chất chuyển hóa trong cùng dung dịch. Sự thay đổi bất thường có thể bắt đầu từ thời điểm lấy mẫu, nhịp sinh học của các chất chuyển hóa,

phương pháp được sử dụng để phân tích, bao gồm các bộ kit, giai đoạn ung thư phổi và quy mô nghiên cứu. Kết hợp lại với nhau, tính giá trị của metabolomics đòi hỏi phải có các nghiên cứu xác nhận để được ứng dụng trong chẩn đoán lâm sàng.

## 11. Kết luận và hướng phát triển trong tương lai

Chẩn đoán sớm ung thư phổi vẫn là một thách thức vì hầu hết các kỹ thuật và phương pháp hiện đang sử dụng chỉ giúp phát hiện ung thư ở giai đoạn tiến triển, lúc này phương pháp điều trị không còn mang đến hiệu quả tối đa trong việc kiểm soát và chữa khỏi bệnh. Như vậy, mặc dù đã có nhiều tiến bộ đáng kể trong những năm qua nhưng việc chẩn đoán sớm vẫn chưa đạt được thành công.

Ung thư phổi chủ yếu được chẩn đoán bằng nội soi phế quản và sinh thiết. Trong nội soi phế quản, kinh nghiệm của bác sĩ nội soi là rất quan trọng để chẩn đoán chính xác bệnh. Mặc dù nội soi phế quản là một kỹ thuật xâm lấn tối thiểu nhưng cũng gây khó chịu cho bệnh nhân và có thể xuất hiện biến chứng, đặc biệt nếu thực hiện sinh thiết mẫu mô nghi ngờ. Do đó, sàng lọc để phát hiện sớm sự phát triển ung thư phổi là cần thiết để có thể điều trị sớm có thể cải thiện tiên lượng bệnh.

Trong những năm gần đây, việc tìm kiếm các dấu ấn sinh học dịch cơ thể là định hướng nghiên cứu đúng đắn. Ví dụ, các nghiên cứu đã chỉ ra các mẫu đàm, máu và nước tiểu có thể đáp ứng nhu cầu tìm kiếm dấu ấn sinh học. Hầu hết các dấu ấn sinh học đã công bố đều được phát hiện bằng PCR, metabolomics hoặc bằng các kỹ thuật sinh học phân tử khác, mang lại kết quả nhanh chóng cho việc can thiệp sớm. Ngoài ra, việc sử dụng các mẫu nước tiểu nhằm phát hiện chất chuyển hóa trong ung thư phổi được chứng minh khả thi và cho kết quả nhanh chóng (trong vài giờ).

Tóm lại, chúng tôi tin rằng xu hướng phát triển các xét nghiệm đáng tin cậy cho chẩn đoán sớm ung thư phổi nên tập trung vào khám phá dấu ấn sinh học, điều này góp phần làm giảm bớt sự khó chịu cho bệnh nhân, cũng như gánh nặng cho các cơ quan y tế, vì các kỹ thuật và phương pháp hiện đang được sử dụng là tốn kém.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Mercer, R. Canadian Cancer Statistics: A 2020 Special Report on Lung Cancer; Canadian Centre for Applied Research in Cancer Control: Vancouver, BC, Canada, 2020.
2. Horeweg, N.; Scholten, E.T.; de Jong, P.A.; van der Aalst, C.M.; Weenink, C.; Lammers, J.-W.J.; Nackaerts, K.; Vliegenthart, R.; ten Haaf, K.; Yousaf-Khan, U.A.; et al. Detection of Lung Cancer through Low-Dose CT Screening (NELSON): A Prespecified Analysis of Screening Test Performance and Interval Cancers. *Lancet Oncol.* **2014**, *15*, 1342–1350. [CrossRef]
3. Gartman, E.J.; Jankowich, M.D.; Baptiste, J.; Nici, L. Providence VA lung cancer screening program: Performance: Comparison of local false positive and invasive procedure rates to published trial data. In A98. Clinical Strategies to Improve Lung Cancer Early

Detection: Who Is at Risk Here? American Thoracic Society International Conference Abstracts; American Thoracic Society: New York, NY, USA, 2018; p. A2477.

4. Kuman, V.; Abbas, A.; Fausto, N.; Robbins, S.; Cotran, R. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease; Elsevier Saunders:

Philadelphia, PA, USA, 2005; p. 759.

5. Travis, W.D. Update on Small Cell Carcinoma and Its Differentiation from Squamous Cell Carcinoma and Other Non-Small Cell Carcinomas. *Mod. Pathol.* **2012**, *25*, S18–S30. [CrossRef]

6. Chan, B.A.; Coward, J.I.G. Chemotherapy Advances in Small-Cell Lung Cancer. *J. Thorac. Dis.* **2013**, *5* (Suppl. S5), S565–S578.

[CrossRef]

7. Edge, S.B.; Compton, C.C. The American Joint Committee on Cancer: The 7th Edition of the AJCC Cancer Staging Manual and

the Future of TNM. *Ann. Surg. Oncol.* **2010**, *17*, 1471–1474. [CrossRef]

8. Blandin Knight, S.; Crosbie, P.A.; Balata, H.; Chudziak, J.; Hussell, T.; Dive, C. Progress and Prospects of Early Detection in Lung Cancer. *Open Biol.* **2017**, *7*, 170070. [CrossRef]

9. Manser, R.; Irving, L.; Stone, C.; Byrnes, G.; Abramson, M.; Campbell, D. Screening for Lung Cancer. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2013**, CD001991. [CrossRef]

10. Wood, D.E.; Kazerooni, E.A.; Baum, S.L.; Eapen, G.A.; Ettinger, D.S.; Hou, L.; Jackman, D.M.; Klippenstein, D.; Kumar, R.; Lackner, R.P.; et al. Lung Cancer Screening, Version 3.2018, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J. Natl. Compr. Cancer Netw.* **2018**, *16*, 412–441. [CrossRef] [PubMed]

11. Ye, J.; Liu, H.; Xu, Z.-L.; Zheng, L.; Liu, R.-Y. Identification of a Multidimensional Transcriptome Prognostic Signature for Lung

Adenocarcinoma. *J. Clin. Lab. Anal.* **2019**, *33*, e22990. [CrossRef] [PubMed]

12. Wong, S.K.; Iams, W.T. Front Line Applications and Future Directions of Immunotherapy in Small-Cell Lung Cancer. *Cancers*

**2021**, *13*, 506. [CrossRef] [PubMed]

13. Howlader, N.; Forjaz, G.; Mooradian, M.J.; Meza, R.; Kong, C.Y.; Cronin, K.A.; Mariotto, A.B.; Lowy, D.R.; Feuer, E.J. The Effect of Advances in Lung-Cancer Treatment on Population Mortality. *N. Engl. J. Med.* **2020**, *383*, 640–649. [CrossRef]

14. Dragoj, M.; Bankovic, J.; Podolski-Renic, A.; Buric, S.S.; Pesic, M.; Tanic, N.; Stankovic, T. Association of Overexpressed MYC Gene with Altered PHACTR3 and E2F4 Genes Contributes to Non-Small Cell Lung Carcinoma Pathogenesis. *J. Med. Biochem.* **2019**, *38*, 188–195.

[CrossRef] [PubMed]

15. Kim, E.Y.; Kim, A.; Kim, S.K.; Chang, Y.S. MYC Expression Correlates with PD-L1 Expression in Non-Small Cell Lung Cancer.

*Lung Cancer* **2017**, *110*, 63–67. [CrossRef]

16. Horn, L.; Reck, M.; Spigel, D.R. The Future of Immunotherapy in the Treatment of Small

- Cell Lung Cancer. *Oncologist* **2016**, 21, 910–921. [CrossRef] [PubMed]
17. Melosky, B.; Cheema, P.K.; Brade, A.; McLeod, D.; Liu, G.; Price, P.W.; Jao, K.; Schellenberg, D.D.; Juergens, R.; Leighl, N.; et al. Prolonging Survival: The Role of Immune Checkpoint Inhibitors in the Treatment of Extensive-stage Small Cell Lung Cancer. *Oncologist* **2020**, 25, 981–992. [CrossRef]
18. Wang, J.; Zou, Z.-H.; Xia, H.-L.; He, J.-X.; Zhong, N.-S.; Tao, A.-L. Strengths and Weaknesses of Immunotherapy for Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: A Meta-Analysis of 12 Randomized Controlled Trials. *PLoS ONE* **2012**, 7, e32695. [CrossRef] [PubMed] *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, 22, 8661 16 of 18
19. Morgensztern, D.; Campo, M.J.; Dahlberg, S.E.; Doebele, R.C.; Garon, E.; Gerber, D.E.; Goldberg, S.B.; Hammerman, P.S.; Heist, R.S.; Hensing, T.; et al. Molecularly Targeted Therapies in Non-Small-Cell Lung Cancer Annual Update 2014. *J. Thorac. Oncol.* **2015**, 10, S1–S63. [CrossRef]
20. Pennell, N.A.; Arcila, M.E.; Gandara, D.R.; West, H. Biomarker Testing for Patients with Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: Real-World Issues and Tough Choices. *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book* **2019**, 39, 531–542. [CrossRef] [PubMed]
21. Flaherty, K.T.; Gray, R.; Chen, A.; Li, S.; Patton, D.; Hamilton, S.R.; Williams, P.M.; Mitchell, E.P.; Iafrate, A.J.; Sklar, J.; et al. The Molecular Analysis for Therapy Choice (NCI-MATCH) Trial: Lessons for Genomic Trial Design. *J. Natl. Cancer Inst.* **2020**, 112, 1021–1029. [CrossRef]
22. Hsu, P.-C.; Jablons, D.M.; Yang, C.-T.; You, L. Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Pathway, Yes-Associated Protein (YAP) and the Regulation of Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC). *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, 20, 3821. [CrossRef]
23. Usman Ali, M.; Miller, J.; Peirson, L.; Fitzpatrick-Lewis, D.; Kenny, M.; Sherifali, D.; Raina, P. Screening for Lung Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Prev. Med.* **2016**, 89, 301–314. [CrossRef] [PubMed]
24. Nanavaty, P.; Alvarez, M.S.; Alberts, W.M. Lung Cancer Screening: Advantages, Controversies, and Applications. *Cancer Control* **2014**, 21, 9–14. [CrossRef] [PubMed]
25. Updated USPSTF Lung Cancer Screening Guidelines Would Help Save Lives. Available online: <https://www.acr.org/Media-Center/ACR-News-Releases/2020/Updated-USPSTF-Lung-Cancer-Screening-Guidelines-Would-Help-Save-Lives> (accessed on 22 April 2021).
26. Sobue, T.; Moriyama, N.; Kaneko, M.; Kusumoto, M.; Kobayashi, T.; Tsuchiya, R.; Kakinuma, R.; Ohmatsu, H.; Nagai, K.; Nishiyama, H.; et al. Screening for Lung Cancer with



- Low-Dose Helical Computed Tomography: Anti-Lung Cancer Association Project. *JCO* **2002**, 20, 911–920. [CrossRef] [PubMed]
27. Toyoda, Y.; Nakayama, T.; Kusunoki, Y.; Iso, H.; Suzuki, T. Sensitivity and Specificity of Lung Cancer Screening Using Chest Low-Dose Computed Tomography. *Br. J. Cancer* **2008**, 98, 1602–1607. [CrossRef] [PubMed]
28. The National Lung Screening Trial Research Team Reduced Lung-Cancer Mortality with Low-Dose Computed Tomographic Screening. *N. Engl. J. Med.* **2011**, 365, 395–409. [CrossRef]
29. Risse, E.K.; Vooijs, G.P.; van't Hof, M.A. Relationship between the Cellular Composition of Sputum and the Cytologic Diagnosis of Lung Cancer. *Acta Cytol.* **1987**, 31, 170–176.
30. MacDougall, B.; Weinerman, B. The Value of Sputum Cytology. *J. Gen. Intern. Med.* **1992**, 7, 11–13. [CrossRef]
31. Tockman, M.S.; Gupta, P.K.; Myers, J.D.; Frost, J.K.; Baylin, S.B.; Gold, E.B.; Chase, A.M.; Wilkinson, P.H.; Mulshine, J.L. Sensitive and Specific Monoclonal Antibody Recognition of Human Lung Cancer Antigen on Preserved Sputum Cells: A New Approach to Early Lung Cancer Detection. *J. Clin. Oncol.* **1988**, 6, 1685–1693. [CrossRef]
32. Zhou, J.; Mulshine, J.L.; Unsworth, E.J.; Scott, F.M.; Avis, I.M.; Vos, M.D.; Treston, A.M. Purification and Characterization of a Protein That Permits Early Detection of Lung Cancer: Identification of Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein-A2/B1 as the Antigen for Monoclonal Antibody 703D4. *J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 10760–10766. [CrossRef]
33. Kurie, J.M.; Lee, J.S.; Morice, R.C.; Walsh, G.L.; Khuri, F.R.; Broxson, A.; Ro, J.Y.; Franklin, W.A.; Yu, R.; Hong, W.K. Autofluorescence Bronchoscopy in the Detection of Squamous Metaplasia and Dysplasia in Current and Former Smokers. *J. Natl. Cancer Inst.* **1998**, 90, 991–995. [CrossRef]
34. Venmans, B.J.; van der Linden, H.; van Boxem, T.J.; Postmus, P.E.; Smit, E.F.; Sutedja, T.G. Early Detection of Preinvasive Lesions in High-Risk Patients: A Comparison of Conventional Flexible and Fluorescence Bronchoscopy. *J. Bronchol. Interv. Pulmonol.* **1998**, 5, 280–283. [CrossRef]
35. Vermynen, P.; Pierard, P.; Roufosse, C.; Bosschaerts, T.; Verhest, A.; Sculier, J.-P.; Ninane, V. Detection of Bronchial Preneoplastic Lesions and Early Lung Cancer with Fluorescence Bronchoscopy: A Study about Its Ambulatory Feasibility under Local Anaesthesia. *Lung Cancer* **1999**, 25, 161–168. [CrossRef]
36. Kennedy, T.C.; Hirsch, F.R.; Miller, Y.E.; Prindiville, S.; Murphy, J.R.; Dempsey, E.; Proudfoot, S.; Bunn, P.A.; Franklin, W.A. A Randomized Study of Fluorescence Bronchoscopy versus White-Light Bronchoscopy for Early Detection of Lung Cancer in High Risk Patients. *Lung Cancer* **2000**, 1 (Suppl. S1), 244–245. [CrossRef]

37. Gazdar, A.F.; Minna, J.D. Angiogenesis and the Multistage Development of Lung Cancers. *Clin. Cancer Res.* **2000**, *6*, 1611–1612.
38. Messner, D.A.; Al Naber, J.; Koay, P.; Cook-Deegan, R.; Majumder, M.; Javitt, G.; Deverka, P.; Dvoskin, R.; Bollinger, J.; Curnutte, M.; et al. Barriers to Clinical Adoption of next Generation Sequencing: Perspectives of a Policy Delphi Panel. *Appl. Transl. Genom.* **2016**, *10*, 19–24. [CrossRef]
39. Planchard, D.; Popat, S.; Kerr, K.; Novello, S.; Smit, E.F.; Faivre-Finn, C.; Mok, T.S.; Reck, M.; Van Schil, P.E.; Hellmann, M.D.; et al. Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for Diagnosis, Treatment and Follow-Up. *Ann. Oncol.* **2018**, *29*, iv192–iv237. [CrossRef] [PubMed]
40. Hellmann, M.D.; Ciuleanu, T.-E.; Pluzanski, A.; Lee, J.S.; Otterson, G.A.; Audigier-Valette, C.; Minenza, E.; Linardou, H.; Burgers, S.; Salman, P.; et al. Nivolumab plus Ipilimumab in Lung Cancer with a High Tumor Mutational Burden. *N. Engl. J. Med.* **2018**, *378*, 2093–2104. [CrossRef] [PubMed]
41. Alborelli, I.; Generali, D.; Jermann, P.; Cappelletti, M.R.; Ferrero, G.; Scaggiante, B.; Bortul, M.; Zanconati, F.; Nicolet, S.; Haeghele, J.; et al. Cell-Free DNA Analysis in Healthy Individuals by next-Generation Sequencing: A Proof of Concept and Technical Validation Study. *Cell Death Dis.* **2019**, *10*, 534. [CrossRef] [PubMed] *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 8661 17 of 18
42. Swanton, C.; Venn, O.; Aravanis, A.; Hubbell, E.; Maddala, T.; Beausang, J.F.; Filippova, D.; Gross, S.; Jamshidi, A.; Shen, L.; et al. Prevalence of Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential (CHIP) Measured by an Ultra-Sensitive Sequencing Assay: Exploratory Analysis of the Circulating Cancer Genome Atlas (CCGA) Study. *JCO* **2018**, *36*, 12003. [CrossRef]
43. Cho, W.C.-S. Potentially Useful Biomarkers for the Diagnosis, Treatment and Prognosis of Lung Cancer. *Biomed. Pharmacother.* **2007**, *61*, 515–519. [CrossRef]
44. Chu, G.C.W.; Lazare, K.; Sullivan, F. Serum and Blood Based Biomarkers for Lung Cancer Screening: A Systematic Review. *BMC Cancer* **2018**, *18*, 181. [CrossRef] [PubMed]
45. El-Osta, H.; Hong, D.; Wheler, J.; Fu, S.; Naing, A.; Falchook, G.; Hicks, M.; Wen, S.; Tsimberidou, A.M.; Kurzrock, R. Outcomes of Research Biopsies in Phase I Clinical Trials: The MD Anderson Cancer Center Experience. *Oncologist* **2011**, *16*, 1292–1298. [CrossRef] [PubMed]
46. Johann, D.J.; Steliga, M.; Shin, I.J.; Yoon, D.; Arnaoutakis, K.; Hutchins, L.; Liu, M.; Liem, J.; Walker, K.; Pereira, A.; et al. Liquid Biopsy and Its Role in an Advanced Clinical Trial for Lung Cancer. *Exp. Biol. Med.* **2018**, *243*, 262–271. [CrossRef] [PubMed]

47. Esteller, M. Cancer Epigenomics: DNA Methylomes and Histone-Modification Maps. *Nat. Rev. Genet.* **2007**, *8*, 286–298. [CrossRef] [PubMed]
48. Zhang, R.; Shao, F.; Wu, X.; Ying, K. Value of Quantitative Analysis of Circulating Cell Free DNA as a Screening Tool for Lung Cancer: A Meta-Analysis. *Lung Cancer* **2010**, *69*, 225–231. [CrossRef]
49. Stieber, P.; Hasholzner, U.; Bodenmüller, H.; Nagel, D.; Sunder-Plassmann, L.; Dienemann, H.; Meier, W.; Fateh-Moghadam, A. CYFRA 21-1: A New Marker in Lung Cancer. *Cancer* **1993**, *72*, 707–713. [CrossRef]
50. Okamura, K.; Takayama, K.; Izumi, M.; Harada, T.; Furuyama, K.; Nakanishi, Y. Diagnostic Value of CEA and CYFRA 21-1 Tumor Markers in Primary Lung Cancer. *Lung Cancer* **2013**, *80*, 45–49. [CrossRef]
51. Muraki, M.; Tohda, Y.; Iwanaga, T.; Uejima, H.; Nagasaka, Y.; Nakajima, S. Assessment of Serum CYFRA 21-1 in Lung Cancer. *Cancer* **1996**, *77*, 1274–1277. [CrossRef]
52. Wieskopf, B.; Demangeat, C.; Purohit, A.; Stenger, R.; Gries, P.; Kreisman, H.; Quoix, E. Cyfra 21-1 as a Biologic Marker of Non-Small Cell Lung Cancer: Evaluation of Sensitivity, Specificity, and Prognostic Role. *Chest* **1995**, *108*, 163–169. [CrossRef]
53. Van der Gaast, A.; Schoenmakers, C.H.H.; Kok, T.C.; Blijenberg, B.G.; Cornillie, F.; Splinter, T.A.W. Evaluation of a New Tumour Marker in Patients with Non-Small-Cell Lung Cancer: Cyfra 21.1. *Br. J. Cancer* **1994**, *69*, 525–528. [CrossRef]
54. Kulpa, J.; Wójcik, E.; Reinfuss, M.; Kołodziejcki, L. Carcinoembryonic Antigen, Squamous Cell Carcinoma Antigen, CYFRA 21-1, and Neuron-Specific Enolase in Squamous Cell Lung Cancer Patients. *Clin. Chem.* **2002**, *48*, 1931–1937. [CrossRef]
55. Wan, J.C.M.; Massie, C.; Garcia-Corbacho, J.; Mouliere, F.; Brenton, J.D.; Caldas, C.; Pacey, S.; Baird, R.; Rosenfeld, N. Liquid Biopsies Come of Age: Towards Implementation of Circulating Tumour DNA. *Nat. Rev. Cancer* **2017**, *17*, 223–238. [CrossRef]
56. Hubers, A.J.; Prinsen, C.F.M.; Sozzi, G.; Witte, B.I.; Thunnissen, E. Molecular Sputum Analysis for the Diagnosis of Lung Cancer. *Br. J. Cancer* **2013**, *109*, 530–537. [CrossRef] [PubMed]
57. Szpechcinski, A.; Dancewicz, M.; Kopinski, P.; Kowalewski, J.; Chorostowska-Wynimko, J. Real-Time PCR Quantification of Plasma DNA in Non-Small Cell Lung Cancer Patients and Healthy Controls. *Eur. J. Med. Res.* **2009**, *14* (Suppl. S4), 237. [CrossRef] [PubMed]
58. Kumar, S.; Guleria, R.; Singh, V.; Bharti, A.C.; Mohan, A.; Das, B.C. Efficacy of Circulating Plasma DNA as a Diagnostic Tool for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer and Its Predictive Utility for Survival and Response to Chemotherapy. *Lung Cancer* **2010**, *70*, 211–217. [CrossRef] [PubMed]
59. Paci, M.; Maramotti, S.; Bellesia, E.; Formisano, D.; Albertazzi, L.; Ricchetti, T.; Ferrari, G.;

- Annessi, V.; Lasagni, D.; Carbonelli, C.; et al. Circulating Plasma DNA as Diagnostic Biomarker in Non-Small Cell Lung Cancer. *Lung Cancer* **2009**, *64*, 92–97. [CrossRef]
60. De Wit, S.; van Dalum, G.; Lenferink, A.T.M.; Tibbe, A.G.J.; Hiltermann, T.J.N.; Groen, H.J.M.; van Rijn, C.J.M.; Terstappen, L.W.M.M. The Detection of EpCAM<sup>+</sup> and EpCAM<sup>-</sup> Circulating Tumor Cells. *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 12270. [CrossRef]
61. Tsoulos, N.; Papadopoulou, E.; Metaxa-Mariatou, V.; Tsaousis, G.; Efstathiadou, C.; Tounta, G.; Scapeti, A.; Bourkoula, E.; Zarogoulidis, P.; Pentheroudakis, G.; et al. Tumor Molecular Profiling of NSCLC Patients Using next Generation Sequencing. *Oncol. Rep.* **2017**, *38*, 3419–3429. [CrossRef]
62. Tockman, M.S. Survival and Mortality from Lung Cancer in a Screened Population: The Johns Hopkins Study. *Chest* **1986**, *89*, 324S–325S. [CrossRef]
63. Liu, Y.; Lan, Q.; Siegfried, J.; Luketich, J.; Keohavong, P. Aberrant Promoter Methylation of P16 and MGMT Genes in Lung Tumors from Smoking and Never-Smoking Lung Cancer Patients. *Neoplasia* **2006**, *8*, 46–51. [CrossRef]
64. Xie, Y.; Todd, N.W.; Liu, Z.; Zhan, M.; Fang, H.; Peng, H.; Alattar, M.; Deepak, J.; Stass, S.A.; Jiang, F. Altered MiRNA Expression in Sputum for Diagnosis of Non-Small Cell Lung Cancer. *Lung Cancer* **2010**, *67*, 170–176. [CrossRef]
65. Ricciuti, B.; Mecca, C.; Crinò, L.; Baglivo, S.; Cenci, M.; Metro, G. Non-Coding RNAs in Lung Cancer. *Oncoscience* **2014**, *1*, 674–705. [CrossRef] [PubMed]
66. Spira, A.; Beane, J.E.; Shah, V.; Steiling, K.; Liu, G.; Schembri, F.; Gilman, S.; Dumas, Y.-M.; Calner, P.; Sebastiani, P.; et al. Airway Epithelial Gene Expression in the Diagnostic Evaluation of Smokers with Suspect Lung Cancer. *Nat. Med.* **2007**, *13*, 361–366. [CrossRef] [PubMed]
- Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 8661 18 of 18
67. Rotunno, M.; Hu, N.; Su, H.; Wang, C.; Goldstein, A.M.; Bergen, A.W.; Consonni, D.; Pesatori, A.C.; Bertazzi, P.A.; Wacholder, S.; et al. A Gene Expression Signature from Peripheral Whole Blood for Stage I Lung Adenocarcinoma. *Cancer Prev. Res.* **2011**, *4*, 1599–1608. [CrossRef]
68. Chen, X.Q.; Stroun, M.; Magnenat, J.L.; Nicod, L.P.; Kurt, A.M.; Lyautey, J.; Lederrey, C.; Anker, P. Microsatellite Alterations in Plasma DNA of Small Cell Lung Cancer Patients. *Nat. Med.* **1996**, *2*, 1033–1035. [CrossRef]
69. Showe, M.K.; Vachani, A.; Kossenkov, A.V.; Yousef, M.; Nichols, C.; Nikonova, E.V.; Chang, C.; Kucharczuk, J.; Tran, B.; Wakeam, E.; et al. Gene Expression Profiles in Peripheral Blood Mononuclear Cells Can Distinguish Patients with Non-Small Cell Lung Cancer from Patients with Nonmalignant Lung Disease. *Cancer Res.* **2009**, *69*, 9202–9210. [CrossRef]
70. Zander, T.; Hofmann, A.; Staratschek-Jox, A.; Classen, S.; Debey-Pascher, S.; Maisel, D.;

- Ansén, S.; Hahn, M.; Beyer, M.; Thomas, R.K.; et al. Blood-Based Gene Expression Signatures in Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin. Cancer Res.* **2011**, *17*, 3360–3367. [CrossRef] [PubMed]
71. Keller, A.; Backes, C.; Leidinger, P.; Kefer, N.; Boisguerin, V.; Barbacioru, C.; Vogel, B.; Matzas, M.; Huwer, H.; Katus, H.A.; et al. Next-Generation Sequencing Identifies Novel MicroRNAs in Peripheral Blood of Lung Cancer Patients. *Mol. BioSyst.* **2011**, *7*, 3187–3199. [CrossRef] [PubMed]
72. Izzotti, A.; Coronel Vargas, G.; Pulliero, A.; Coco, S.; Vanni, I.; Colarossi, C.; Blanco, G.; Agodi, A.; Barchitta, M.; Maugeri, A.; et al. Relationship between the MiRNA Profiles and Oncogene Mutations in Non-Smoker Lung Cancer. Relevance for Lung Cancer Personalized Screenings and Treatments. *J. Pers. Med.* **2021**, *11*, 182. [CrossRef]
73. Sharp, C.N.; Korte, E.A.; Hosseinejad, K.; Pitman, J.; Lavasanifar, A.; Eichenberger, D.J.; Sephton, S.; Cash, E.; Jortani, S.A. ELISA-Based Detection of Open Reading Frame Protein 1 in Patients at Risk of Developing Lung Cancer. *Clin. Chim. Acta* **2020**, *507*, 1–6. [CrossRef]
74. Mazzone, P.J.; Wang, X.-F.; Lim, S.; Choi, H.; Jett, J.; Vachani, A.; Zhang, Q.; Beukemann, M.; Seeley, M.; Martino, R.; et al. Accuracy of Volatile Urine Biomarkers for the Detection and Characterization of Lung Cancer. *BMC Cancer* **2015**, *15*, 1001. [CrossRef]
75. Bras, A.P.M.; Jänne, J.; Porter, C.W.; Sitar, D.S. Spermidine/Spermine N1-Acetyltransferase Catalyzes Amantadine Acetylation. *Drug Metab. Dispos.* **2001**, *29*, 676–680. [PubMed]
76. Maksymiuk, A.W.; Tappia, P.S.; Sitar, D.S.; Akhtar, P.S.; Khatun, N.; Parveen, R.; Ahmed, R.; Ahmed, R.B.; Cheng, B.; Huang, G. Use of Amantadine as Substrate for SSAT-1 Activity as a Reliable Clinical Diagnostic Assay for Breast and Lung Cancer. *Future Sci. OA* **2018**, *5*, FSO365. [CrossRef] [PubMed]
77. Hegde, S.S.; Chandler, J.; Vetting, M.W.; Yu, M.; Blanchard, J.S. Mechanistic and Structural Analysis of Human Spermidine/Spermine N1-Acetyltransferase [HSSAT]. *Biochemistry* **2007**, *46*, 7187–7195. [CrossRef]
78. Bras, A.P.; Hoff, H.R.; Aoki, F.Y.; Sitar, D.S. Amantadine Acetylation May Be Effected by Acetyltransferases Other than NAT1 or NAT2. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **1998**, *76*, 701–706. [CrossRef]
79. Matsui, I.; Wiegand, L.; Pegg, A.E. Properties of Spermidine N-Acetyltransferase from Livers of Rats Treated with Carbon Tetrachloride and Its Role in the Conversion of Spermidine into Putrescine. *J. Biol. Chem.* **1981**, *256*, 2454–2459. [CrossRef]
80. Pegg, A.E.; Seely, J.E.; Pösö, H.; della Ragione, F.; Zagon, I.A. Polyamine Biosynthesis and Interconversion in Rodent Tissues. *Fed. Proc.* **1982**, *41*, 3065–3072.
81. Pulliero, A.; Pergoli, L.; LA Maestra, S.; Micale, R.T.; Camoirano, A.; Bollati, V.; Izzotti, A.; de Flora, S. Extracellular Vesicles in Biological Fluids. A Biomarker of Exposure to Cigarette Smoke and Treatment with Chemopreventive Drugs. *J. Prev. Med. Hyg.* **2019**, *60*, E327–E336.

[CrossRef]

82. Bertolini, G.; D'Amico, L.; Moro, M.; Landoni, E.; Perego, P.; Miceli, R.; Gatti, L.; Andriani, F.; Wong, D.; Caserini, R.; et al.

Microenvironment-Modulated Metastatic CD133+/CXCR4+/EpCAM<sup>+</sup> Lung Cancer-Initiating Cells Sustain Tumor Dissemination and Correlate with Poor Prognosis. *Cancer Res.* **2015**, *75*, 3636–3649. [CrossRef] [PubMed]

83. Cameron, S.J.S.; Lewis, K.E.; Beckmann, M.; Allison, G.G.; Ghosal, R.; Lewis, P.D.; Mur, L.A.J. The Metabolomic Detection of

Lung Cancer Biomarkers in Sputum. *Lung Cancer* **2016**, *94*, 88–95. [CrossRef] [PubMed]

84. Kumar, N.; Shahjaman, M.; Mollah, M.N.H.; Islam, S.M.S.; Hoque, M.A. Serum and Plasma Metabolomic Biomarkers for Lung

Cancer. *Bioinformatics* **2017**, *13*, 202–208. [CrossRef]

85. Calderón-Santiago, M.; Priego-Capote, F.; Turck, N.; Robin, X.; Jurado-Gámez, B.; Sanchez, J.C.; Luque de Castro, M.D. Human Sweat Metabolomics for Lung Cancer Screening. *Anal. Bioanal. Chem.* **2015**, *407*, 5381–5392. [CrossRef] [PubMed]

86. Chen, Y.; Ma, Z.; Min, L.; Li, H.; Wang, B.; Zhong, J.; Dai, L. Biomarker Identification and Pathway Analysis by Serum Metabolomics of Lung Cancer. *BioMed Res. Int.* **2015**, *2015*, 183624. [CrossRef] [PubMed]

87. Singhal, S.; Rolfo, C.; Maksymiuk, A.W.; Tappia, P.S.; Sitar, D.S.; Russo, A.; Akhtar, P.S.; Khatun, N.; Rahnuma, P.; Rashiduzzaman, A.; et al. Liquid Biopsy in Lung Cancer Screening: The Contribution of Metabolomics. Results of a Pilot Study. *Cancers* **2019**, *11*, 1069. [CrossRef] [PubMed]

88. Fogel-Petrovic, M.; Vujcic, S.; Brown, P.J.; Haddox, M.K.; Porter, C.W. Effects of Polyamines, Polyamine Analogs, and Inhibitors of Protein Synthesis on Spermidine-Spermine N1-Acetyltransferase Gene Expression. *Biochemistry* **1996**, *35*, 14436–14444. [CrossRef]

89. Zhang, L.; Zheng, J.; Ahmed, R.; Huang, G.; Reid, J.; Mandal, R.; Maksymuik, A.; Sitar, D.S.; Tappia, P.S.; Ramjiawan, B.; et al. A High-Performing Plasma Metabolite Panel for Early-Stage Lung Cancer Detection. *Cancers* **2020**, *12*, 622. [CrossRef]