

BIOMARKER: DẤU ẤN SINH HỌC VÀ GIẢI PHÁP CHO CHẨN ĐOÁN, TRỊ LIỆU TƯƠNG LAI

Định nghĩa và nhu cầu của biomarker:

Biomarker hay “dấu ấn sinh học” là những phân tử biểu hiện một dữ kiện sinh học. Biomarker có thể đơn thuần là hóa chất, như glucose là dấu ấn của bệnh tiểu đường, hoặc phân tử protein như các kháng thể (antibody) là dấu ấn của bệnh nhiễm trùng, và gene hay DNA marker là dấu ấn cho các bệnh liên quan đến di truyền. Với phát triển của những kỹ thuật tân sinh học có khả năng nghiên cứu nhiều phân tử trên cùng một mẫu phẩm như microarray, proteonomics, ngày nay biomarker thường là một nhóm gene hay protein của dữ kiện sinh học.

Về bệnh lý, khác với các yếu tố bệnh (pathogen agent) được mô tả dưới dạng thức phân tử như gene hay vi khuẩn là những “nguyên nhân” gây bệnh, biomarker chỉ là “biểu hiệu” (symbol) của bệnh. Những biểu hiện này bao gồm tất cả mọi thay đổi của tế bào có liên quan đến bệnh lý. Như vậy, biomarker bao gồm những phân tử gây bệnh và những phân tử được tạo ra sau khi bệnh phát triển.

Biomarker còn được gọi là “chữ ký” (signature) của một hiện tượng sinh học, những nghiên cứu gần đây đã chứng minh tính hữu dụng của biomarker cho nhiều bộ môn sinh học từ nghiên cứu đến ứng dụng. Các nhà nghiên cứu biomarker tin tưởng rằng chữ ký sinh học chứa đựng những bí ẩn về bệnh lý, cho nên việc truy tìm chữ ký sinh học sẽ giúp đạt được những kết quả có tầm ứng dụng hữu hiệu và lớn lao trong y học. Những ứng dụng này gồm các phương pháp chẩn đoán chính xác cho các bệnh phức tạp liên hệ đến nhiều gene (ung thư, tiểu đường, tim mạch, thần kinh...), hoặc các bệnh miễn nhiễm, di truyền, nhiễm trùng hay bệnh do yếu tố môi trường. Biomarker cũng có nhiều kỳ vọng trong ứng dụng đo lường hiệu ứng của thuốc.

Chúng ta thường biết đến nhiều khám phá của gene và bệnh lý, nhưng trên thực tế việc ứng dụng của các gene này cho chẩn đoán cũng như trị liệu rất ít ỏi và giới hạn. Trên diễn đàn SHVN, giới hạn sử dụng các gene trong bệnh lý được đề cập từ bài viết của TS Nguyễn Văn Tuấn (số ngày 14/08/2006). Giới hạn của việc dùng gene trong chẩn đoán có thể được tóm lược như TS Tuấn đã viết: “Ngoại trừ vài bệnh do di truyền gây ra mà gen đóng một vai trò quan trọng trong việc chẩn đoán, phần lớn các bệnh mãn tính như đái đường, ung thư, bệnh tim, tai biến, loãng xương, v.v... thì gen không đóng một vai trò quan trọng như nhiều người tưởng. Việc chẩn đoán bằng gen cho các bệnh này do đó chưa thể đem lại lợi ích cho người bệnh.” Có hai lý do chính về giới hạn này. Thứ nhất, phần lớn các gene liên hệ đến di truyền có tần số (frequency) rất thấp trong quần thể đa dạng sinh học; thứ hai, các bệnh đều có sự tham gia của một phức hệ gene, mà phần lớn chưa biết tới, chứ không phải từ một gene.

Vì những lý do trên, biomarker đã là một trong những nghiên cứu trọng yếu của tân sinh học trong những năm qua, và đã có những kết quả cho thấy tầm quan trọng của biomarker trong việc mang lại ứng dụng của gene cho chẩn đoán bệnh lý cũng như rất nhiều khía cạnh y học, khoa học khác. Những ứng dụng chẩn đoán của biomarker phác họa dưới đây cho thấy tương quan lớn lao của biomarker trong rất nhiều ngành của bộ môn sinh học. Thực khó có thể trình bày mọi khía cạnh của biomarker trong giới hạn bài viết này

Mô hình ứng dụng chẩn đoán của biomarker trong rất nhiều ngành sinh học.

Phương pháp nghiên cứu biomarker:

Như đã nêu trên, biomarker bao gồm rất nhiều dạng, từ hóa chất cho đến gene và protein. Các phương pháp truy tìm biomarker chủ yếu dò tìm các phân tử protein, vì protein là sản phẩm cuối cùng của gene và tác động trực tiếp đến các hiện tượng sinh học. Lý do quan trọng hơn nữa là protein là thành phần sinh học phong phú nhất của tế bào so với mRNA hay xa hơn nữa là gene. Một gene có thể có nhiều bản sao mRNA và chu trình dịch mã (translation) và biến đổi sau dịch mã (post translational modification) của những bản sao thường tạo ra nhiều protein hơn số bản sao mRNA.

Theo ước lượng hiện nay, có khoảng từ 300.000 đến 500.000 protein từ số lượng khoảng 30.000 gene của bộ gene người. Sự phong phú về dạng thức và số lượng protein này sẽ là những dấu ấn làm nổi bật lên sự khác biệt về hiện tượng sinh học của tế bào khi có thay đổi. Một số nhóm nghiên cứu dùng các dữ kiện biểu hiện gene (gene expression profile) làm biomarker, hoặc kết hợp protein và RNA, DNA để có độ chính xác cao hơn, nhưng đương nhiên cũng sẽ phức tạp hơn. Gần đây, hiện tượng methyl hóa DNA và RNAi cũng là đối tượng mới của nghiên cứu biomarker vì vai trò quan trọng của chúng trong việc điều hành chức năng gene liên hệ đến bệnh lý.

Có thể nói về nguyên tắc, tìm kiếm biomarker đơn giản hơn nhiều so với việc truy tìm các gene bệnh lý. Khác với các nghiên cứu gene và bệnh lý, biomarker không đòi hỏi tìm hiểu cơ chế thường rất phức tạp của các mô hình bệnh. Theo định nghĩa, biomarker là tất cả những thay đổi được tế bào biểu hiện từ một trạng thái sinh học này so với trạng thái sinh học khác. Nói về bệnh tật, thì biomarker là tất cả những protein thay đổi từ trạng thái bình thường đến trạng thái bệnh lý. Cho nên, phương pháp chính xác định biomarker dựa trên hai bước kỹ thuật là: ly trích protein và so sánh sự thay đổi protein ở các mẫu phẩm.

Về thực dụng, việc tìm kiếm biomarker qua một số giai đoạn và có những khó khăn chưa được giải quyết vì bản chất còn mới mẻ của môn khoa học này. Các giai đoạn chính gồm:

- Tinh lọc protein của các mẫu phẩm: Nhiều nghiên cứu biomarker cần tinh lọc các mẫu phẩm để làm giàu (enrich) nồng độ protein liên hệ đến biomarker. Việc tinh lọc nhằm mục đích loại bỏ các protein có nồng độ cao và thường không có vai trò quan trọng về bệnh lý như serum albumin ở máu, các protein tạo thành của tế bào như actin, tubulin. Việc thanh lọc protein có thể thực hiện bằng nhiều phương pháp sinh hóa như sắc ký, hoặc dùng kháng thể đơn dòng để loại những protein. Việc làm giàu protein có tầm quan trọng về kỹ thuật, nghiên cứu từ các tiến trình sinh học của tế bào và về bệnh lý cho thấy các protein có vai trò chức năng (functional proteins) thường biểu hiện ở nồng độ rất thấp, nM so với mM, của những protein cấu trúc (structural proteins) hay vận chuyển (carrier proteins).

- Các phương pháp ly trích và phân tích protein: Có nhiều phương pháp ly trích protein được áp dụng để khởi công truy tìm biomarker. Các phương pháp này đều nhằm phân lập các protein sai biệt giữa hai trường hợp sinh học. Sắc ký cột (chromatography column), và điện di protein hai chiều (2 D protein gel electrophoresis) là hai phương pháp thông dụng. Phương pháp sắc ký cột loại các ion axit hay kiềm để ly trích các protein dựa theo đặc tính axit và kiềm; hoặc dựa vào độ ưa nước (hydrophilic) hay kỵ nước (hydrophobic). Phương pháp điện di protein hai chiều có thể giúp so sánh sự khác biệt protein dựa trên trọng lượng phân tử (molecular weight) và điện tích (charges) của các protein. Cả hai phương pháp sắc ký cột và điện di đều có trở ngại là số lượng protein được phân tích rất giới hạn. Điện di hai chiều chỉ có thể phân tích được khoảng từ 2.000

đến 10.000 protein trên một điện di đồ; chúng ta biết đó là một con số rất nhỏ so với tổng số protein có thể từ 300.000 đến 500.000 phân tử trong tế bào.

Trong các nghiên cứu hậu genome, ngành proteomics cộng với kỹ thuật khối phổ (mass spectrometry) đã tạo những bước tiến đột phá cho bộ môn nghiên cứu biomarker. Kỹ thuật này còn được gọi là Mass-spect /Proteomic-based Approach. Trong kỹ thuật này, protein được ion hóa để tách ra khỏi các phức hợp mẫu phẩm, và sau đó các phân tử protein sẽ được phá tan thành các mảnh nhỏ và trải trên một biểu đồ gồm những đoạn peptide xếp theo tỷ số trọng lượng và điện tích. Các protein trên biểu đồ được so sánh với dữ kiện protein đã được thiết lập từ proteomics và từ đó loại (type) và cấu trúc (structure) của protein sẽ được xác định chính xác. Việc so sánh biểu đồ của protein từ mẫu bệnh lý và protein từ mẫu không mang bệnh sẽ cần một hệ thống điện toán chuyên trách (như Correlogic Systems, Inc. được dùng ở NIH) để nhận diện một số protein có khả năng là biomarker của bệnh. Các mẫu phẩm có thể là máu, tế bào, mô (tissues), hoặc dịch bài tiết từ các tuyến. Với khả năng của máy khối phổ hiện nay, các thí nghiệm biomarker có thể xác định hàng ngàn protein từ một lượng nhỏ mẫu như một giọt máu. Việc xác định giá trị của các biomarker này sẽ đòi hỏi một chương trình nghiên cứu lâm sàng và thống kê qui mô.

Những thành quả của nghiên cứu biomarker:

Vì những giá trị khoa học của biomarker, việc nghiên cứu đề tài này đã được triển khai ở nhiều trung tâm nghiên cứu sinh học và y khoa ở nhiều quốc gia. Về kỹ nghệ, những hãng chuyên về chẩn đoán như Roche, Chiron, Abbott cũng có những phương hướng rộng lớn đi về nghiên cứu biomarker; ngoài ra các hãng công nghệ sinh học chuyên về biomarker như CIPHERgene Biosystem, Pathway Diagnostics, Thirdwave, Digene đang trên đà phát triển. Đặc biệt với những nhóm đại kỹ nghệ dược khoa như Pfizer, Novartis, Bristol Meyers, biomarker đang được sử dụng chung với các thí nghiệm thiết yếu như độc tính (toxicology), dược tính (pharmacology) trong qui trình thẩm định giá trị lâm sàng của dược phẩm.

Từ các công trình nghiên cứu biomarker ở nhiều trung tâm nghiên cứu, đã có những thành quả hứa hẹn những ứng dụng rất tốt đẹp của biomarker cho việc chẩn đoán bệnh và trị liệu. Việc ứng dụng biomarker để hoàn chỉnh hoặc thay thế các thử nghiệm thường quy sẽ chỉ còn là vấn đề thời gian. Những biomarker này nhằm giúp tiên đoán sớm và chính xác các trường hợp bệnh lý từ ung thư đến tim mạch và biến dưỡng; biomarker còn có giá trị tiên đoán hiệu ứng của thuốc để giúp các chuyên gia y tế lấy quyết định đúng đắn nhất cho việc điều trị bệnh nhân. Đi xa hơn nữa, biomarker có tiềm năng trong ứng dụng liệu pháp trị liệu cá nhân (personalized medicine).

Hiện có rất nhiều biomarker được tìm thấy từ chương trình nghiên cứu ở các trung tâm cũng như các hãng dược phẩm trên thế giới. Kết quả từ Viện nghiên cứu Y tế Hoa Kỳ (NIH) đã thu thập được 14 protein có khả năng dùng làm biomarker cho bệnh ung thư vú (breast cancer) từ các phân tích khối phổ với mẫu sữa lấy từ vú bệnh nhân. Trong các nhóm được thử nghiệm, độ chính xác của các biomarker này rất cao so với việc dùng các gene BRCA (BRCA là gene của bệnh ung thư vú di truyền được tìm thấy trong phả hệ ung thư vú; tuy nhiên gen này chỉ có tỷ lệ thấp từ 2-5% của bệnh này khi dùng chẩn đoán ở quần chúng); một số protein biomarker khác cũng đã được khám phá từ nghiên cứu các bệnh ung thư tiền liệt tuyến (prostate), ung thư phổi (lung), ung thư bàng quang (bladder), và ung thư buồng trứng (ovarian); về tim mạch đã có một số biomarker protein được đề cử là liên hệ đến bệnh nghẽn động mạch (arterosclerosis). Như nhiều kết quả từ những trung tâm nghiên cứu khác, các biomarker này của NIH được khám phá từ một số mẫu thử giới hạn, nên còn là đối tượng cho các thử nghiệm thống kê và lâm sàng rộng lớn để thẩm định mức tương quan

(frequency) trong quần chúng.

Những vấn đề cần hoàn chỉnh để ứng dụng biomarker

Như chúng ta đã biết, biomarker là tập thể của một số gene hay protein tiêu biểu cho một trạng thái thay đổi sinh học. Như đã nêu trên, nền tảng của nghiên cứu Biomarker dựa trên các protein, vì thế vai trò của nghiên cứu proteomics là thiết yếu. Tuy nhiên số lượng lớn lao (dự đoán khoảng từ 300.000 đến 500.000 protein), và đặc biệt là bản chất phức tạp của protein là một trở ngại lớn cho các nghiên cứu biomarker. Ý thức được những trở ngại này và tầm quan trọng của biomarker, Viện Nghiên cứu Y tế Quốc gia Hoa Kỳ (NIH) đã lập một chương trình với ngân quỹ khoảng trên 100 triệu dollar đặc trách giải quyết các vấn đề và đẩy mạnh tiến bộ của proteomics. Mục đích của chương trình này là: Thiết lập và tài trợ mạng lưới liên kết những phòng thí nghiệm trên thế giới nghiên cứu về proteomics; Đồng bộ hóa và hoàn chỉnh các kỹ thuật và phương pháp của proteomics cho mạng lưới nghiên cứu này. Việc đồng bộ hóa rất quan trọng về phương diện kỹ thuật vì trên thực tế, thường có những khác biệt về số lượng các biomarker thu nhận được từ những phòng thí nghiệm khác nhau dù cho cùng một loại bệnh. Thu thập từ các tài liệu nghiên cứu, hiện có khoảng gần 1.500 biomarker proteins liên hệ đến ung thư và đương nhiên là việc tiêu chuẩn hóa các protein này thật cần thiết để chọn lọc những protein có giá trị ứng dụng. Những yếu tố kỹ thuật bao gồm thuốc thử, các kháng thể, peptide; quản lý mẫu phẩm, và đặc biệt là phương pháp ly trích và phân tích các protein. Việc liên kết mạng lưới các phòng thí nghiệm nhằm tiến đến tạo dựng một kho dữ kiện (consortium) biomarker cho các loại bệnh lý và các đề tài sinh học.

Các nhà nghiên cứu tiên liệu rằng kho dữ kiện biomarker sẽ đóng vai trò trọng yếu trong chẩn đoán và điều trị bệnh trong một tương lai gần. Quan trọng hơn nữa, họ cũng tin tưởng rằng khi kết hợp các ngành nghiên cứu gồm tin sinh học (bioinformatics), genomics, y học thực chứng (evidence based medicine), biomarker sẽ giúp tạo được những mô hình phân tử tế bào về bệnh lý có khả năng khảo sát được bằng những thí nghiệm cụ thể từ các biomarker proteins. Và đây chính là đường hướng biomarker có khả năng đưa đến việc xác định các gene có vai trò chủ yếu liên hệ đến bệnh lý phức tạp do nhiều gene, thay vì chỉ được coi như những biểu hiện. Từ đó, vai trò của gene cho chẩn đoán và trị liệu sẽ được khẳng định rõ ràng như cộng đồng y học và xã hội đã luôn mong đợi.

Về ứng dụng, có thể nói giá trị của biomarker trong chẩn đoán và trị liệu đã được xác định trên bình diện khoa học. Tuy nhiên thực tế sẽ đòi hỏi những thử nghiệm lâm sàng chi tiết và cũng có thể dài hạn, trước khi triển khai thành sản phẩm có giá trị trong cộng đồng xã hội. Ngoài ra, để sử dụng hữu hiệu những biomarker sẽ cần huấn luyện có hệ thống các thông tin khoa học về biomarker đến các giới chức y tế gồm bác sĩ và các chuyên viên thử nghiệm.

Khả năng nghiên cứu và lợi ích ứng dụng biomarker ở Việt Nam:

Trong các nghiên cứu tân sinh học, biomarker có tính khả thi và ứng dụng rất cao trong môi trường nghiên cứu ở Việt Nam hiện nay. Tính khả thi cao vì như đã nói ở trên, biomarker không đòi hỏi các bước nghiên cứu nhiều thử thách như trong truy tìm gene liên hệ đến bệnh lý, hay như việc tạo những sản phẩm protein trị liệu, vaccine thường đòi hỏi kỹ thuật cao, công phu và tốn kém. Trang bị chính của nghiên cứu biomarker là máy khối phổ (mass spectrometry) cộng với khả năng sử dụng những chương trình điện toán về proteomics. Đương nhiên, cả hai kỹ thuật này cần được đảm trách bởi các chuyên viên. Ngoài ra, cũng như những khoa học khác, người đảm trách chương trình là những khoa học gia có khả năng suy luận cao về các chủ đề sinh học để phân tích dữ kiện thu được từ nghiên cứu biomarker.

Thật phấn khởi vì hiện đã có nghiên cứu biomarker ở Việt Nam. Trên thực tế, Việt Nam có những

lợi điểm so với các trung tâm nghiên cứu ở các nước tân tiến. Những lợi điểm này bao gồm số lượng mẫu phẩm dồi dào và cho nhiều loại bệnh; đây là những yếu tố cần thiết cho thống kê để thu được những biomarker có độ chính xác cao qua việc xác định cũng như loại trừ các protein trong nhóm biomarker. Ngoài ra, Việt Nam cũng dồi dào dữ kiện lâm sàng có vai trò quan trọng trong việc đánh giá khả năng ứng dụng các biomarker trong trị liệu. Nhưng điểm quan yếu nhất là giá trị đặc thù của biomarker liên hệ đến chủng tộc; có nhiều dữ kiện lâm sàng cũng như kinh nghiệm dân gian cho biết tần số cao của những bệnh xảy ra ở người Việt khi so sánh với các chủng tộc khác. Việc xác định các “dấu ấn” sinh học của chủng tộc Việt Nam hứa hẹn các ứng dụng thiết thực mang lại những dịch vụ y tế hữu hiệu, có phẩm chất cao cho quần chúng. Các dấu ấn này cũng sẽ là chủ đề quan trọng cho những nghiên cứu y học từ nguyên do bệnh lý cho đến tác động môi trường, cũng như được học trong việc tìm kiếm hay thẩm định tính trị liệu của các dược phẩm ở Việt Nam.

Thái Sơn NDT - Tokyo Jan. 02, 2007

Bài viết này có ý tưởng và tham khảo từ:

<http://www.plasmaproteome.org/plasmaframes.htm>

<http://www.biomedcentral.com/1471-2105/4/24/comments>

<http://www.nature.com/nbt/journal/v23/n3/full/nbt0305-297.html>

<http://mediwire.skyscape.com/main/Default.aspx?P=Content&ArticleID=177967>

www.sarec.gov.vn/docfile/Danh_muc7909.doc

<http://pubs.acs.org/cen/coverstory/8130/8130drugdiscovery2.html>