

NGHIÊN CỨU ĐÔNG KHÔ BEVACIZUMAB VÀ ĐÁNH DẤU VỚI TC-99M ĐỂ CHỤP HÌNH MIỄN DỊCH PHÓNG XẠ UNG THƯ

Study freeze-dried of bevacizumab and labeling with ^{99m}Tc for tumor radioimmunosciintigraphy

*Nguyễn Thị Khánh Giang**, *Nguyễn Thị Thu**, *Nguyễn Thị Ngọc**,
*Nguyễn Thanh Bình**, *Đặng Hồ Hồng Quang**, *Nguyễn Thanh Nhân**,
*Phạm Thành Minh**

Objective: Bevacizumab, a humanized monoclonal antibody against VEGF was lyophilized and labeled with radioisotope ^{99m}Tc using in tumor radioimmunosciintigraphy. The purpose of the study is to develop a formulation and process for lyophilization of bevacizumab.

Methods: Bevacizumab was studied on the lyophilization at the difference of buffers, pH, temperature and time. The antibody lyophilized compound was tested on the stable with time, radiolabeled with ^{99m}Tc radioisotope, radiochemical purity examination and stability of radioimmunoconjugates.

Results: The results of the study showed that bevacizumab was lyophilized to form a white porous dry form under optimal conditions, as a phosphate buffer 0.5 M, pH 7.4 at -40°C and a time of 24 hours. The lyophilized bevacizumab was stable after 6 months of follow-up. Radiochemical purity of ^{99m}Tc -bevacizumab has been reached more than 98% and passed the test for sterility, bacterial endotoxin.

Conclusion: Bevacizumab was prepared in a lyophilized formulation, can be used for radiolabeling with ^{99m}Tc , which met radiopharmaceutical criteria, and could be used in preclinical evaluations.

Keywords: *Monoclonal antibody bevacizumab, radioisotope ^{99m}Tc , lyophilization radioimmunosciintigraphy.*

* Viện Nghiên cứu hạt nhân,
Đà Lạt, Việt Nam

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Kháng thể đơn dòng bevacizumab là kháng thể nhân hoá, kháng các yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu VEGF (vascular endothelial growth factor) với ái lực cao. Bevacizumab đã được FDA cấp phép sử dụng trong điều trị các khối ung thư có tăng sinh mạch máu như ung thư thận, ung thư cổ tử cung, ung thư buồng trứng, ung thư đại tràng [1]. Bevacizumab có tác dụng ức chế sự phát triển khối u, ức chế sự kết hợp của VEGF với các thụ thể Flt-1 và KDR, ngăn chặn quá trình tăng sinh tế bào nội mô và ức chế sự di căn của khối u [2]. Ngoài tác dụng hỗ trợ điều trị ung thư, bevacizumab còn được nghiên cứu ứng dụng trong chụp hình chẩn đoán các khối ung thư và tăng sinh mạch trong các bệnh thành mạch máu, nhờ gắn với đồng vị phóng xạ ^{99m}Tc (năng lượng gamma 140 keV và thời gian bán rã 6,01 giờ), thích hợp dùng trong xạ hình nhắm đích có hiệu quả trong chụp hình miễn dịch phóng xạ radioimmunoscintigraphy và chụp hình khu vực tăng sinh mạch [3, 4]. Trong báo cáo này, chúng tôi nghiên cứu, phát triển công thức và quy trình đông khô thuốc bevacizumab, tạo sản phẩm để sử dụng, có thể đánh dấu với đồng vị phóng xạ ^{99m}Tc , thuận tiện cho việc sử dụng ^{99m}Tc -bevacizumab, đáp ứng nhu cầu sử dụng trong xạ hình chẩn đoán các khối ung thư.

II. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nguyên liệu, hóa chất: Bevacizumab 100 mg/4 ml, hãng Roche. Đồng vị phóng xạ ^{99m}Tc 20-50 mCi/ml, dạng $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4^-$, chiết từ máy phát $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$, hãng Polatom. Các hoá chất $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, sodium acetate, giấy sắc ký bản mỏng silicagel 60 F254, hãng Merck. Chai thủy tinh 10 ml Fiolax, hãng SCHOTT và nút cao su đông khô, hãng WEST, Mỹ. Máy PTS 100, hãng Charles River Laboratory, Mỹ. Máy phóng xạ tự chụp Cyclone hãng PerkinElmer, máy đo hoạt độ phóng xạ CR-127, Capintec, Mỹ, máy đông khô iShinBioBase, Hàn Quốc.

Phương pháp điều chế bevacizumab đông khô:

Khảo sát quy trình điều chế bevacizumab đông khô: Dựa trên các điều kiện tối ưu như trong nghiên cứu trước [5]. Cụ thể là, lượng thặng thể bevacizumab 2,0

mg, được đánh dấu với 20 mCi ^{99m}Tc trong môi trường đệm phosphat 0,5 M, pH 7,4 và clorua thiếc 0,4 mg. Quy trình điều chế bevacizumab đông khô được khảo sát bằng cách cố định hàm lượng kháng thể là 2,0 mg, clorua thiếc 0,4 mg, thay đổi đệm phosphat 0,5 M, pH 7,4, hoặc acetat 0,5 M, hoặc NaCl 0,9 %; pH 4, 5, 6, 7 và 8; thời gian đông khô 8, 16, 24, 32, 48 giờ (trong đệm phosphat) và theo dõi bảo quản từ 1, 2, 3 và 6 tháng. So sánh chất lượng dạng dung dịch và dạng khô bằng cách đánh dấu với ^{99m}Tc theo tỷ lệ 10mCi/mg. Để tính hiệu suất đánh dấu theo các điều kiện khảo sát, mỗi phức hợp ^{99m}Tc -bevacizumab được phân tích bằng sắc ký lớp mỏng, dung môi acetone, chụp bằng sắc ký bằng máy phóng xạ tự chụp, tính hiệu suất đánh dấu bằng phần mềm OptiQuant 5.0.

Quy trình điều chế chế phẩm đông khô bevacizumab: Để điều chế bevacizumab đông khô, 30 chai, 2,0 mg kháng thể mỗi chai, cho vào chai pha chế lần lượt 2,0 mL phosphat 0,5 M, pH 7,4, bevacizumab 60,0 mg (2,4 mL), $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1,2 mg/0,12 ml, trộn nhẹ dung dịch, thêm nước cất để tổng thể tích là 30,0 mL, pH cuối là 7,4. Lọc dung dịch qua phin lọc vô trùng 0,2 mm, chia 1,0 ml mỗi chai. Đông khô trên máy máy iShinBioBase, nhiệt độ lạnh đảm bảo -40°C , áp suất máy đạt 5,0 mTorr, thời gian đông khô 24 giờ, đóng nút chai kháng thể đông khô trong chân không. Cụ thể là ở giai đoạn tiền đóng băng, nhiệt độ cấp đóng băng trong buồng lạnh đạt -50°C đến -67°C . Ở giai đoạn thăng hoa, áp suất trong máy được giảm xuống 5,0 mTorr và duy trì 24 giờ và giai đoạn sấy thứ cấp không gia nhiệt.

Phương pháp kiểm tra chất lượng:

Độ tinh khiết hóa phóng xạ: Hoàn nguyên chai bevacizumab không khô với 1,0 ml nước cất pha tiêm, đánh dấu kháng thể với ^{99m}Tc , 10 mCi/mg kháng thể, thời gian ủ là 15 phút, nhiệt độ phòng, phân tích bằng sắc ký lớp mỏng. Chấm 5 ml ^{99m}Tc -bevacizumab lên băng sắc ký, triển khai trong dung môi acetone, thời gian 15-20 phút. Băng sắc ký được chụp trên máy phóng xạ tự chụp Cyclone, độ tinh khiết hóa phóng xạ được tính bằng phần mềm OptiQuant 5.0.

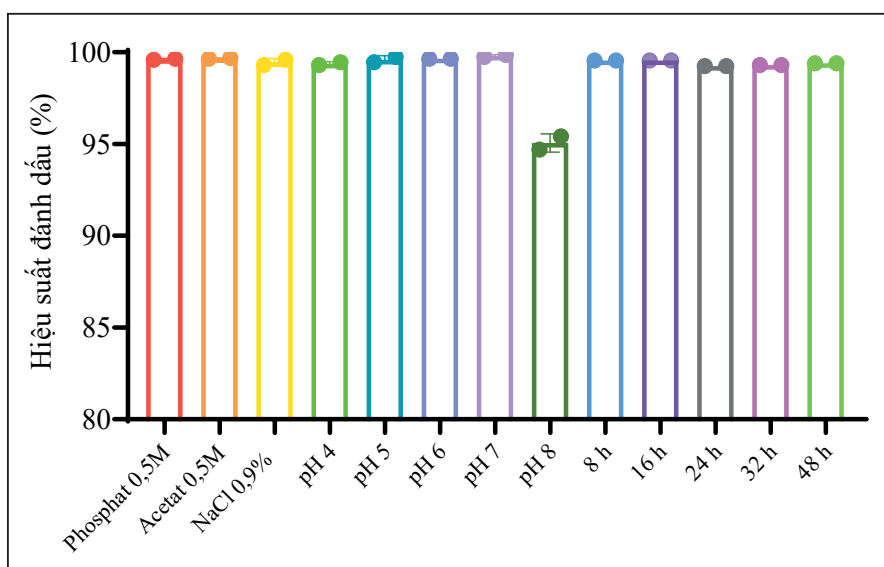
Thử vô khuẩn và nội độc tố vi khuẩn: Thử theo phụ lục 2.6.1 và 2.6.14 Dược điển châu Âu (*Ph. Eur. Monograph 2031*) [6]. Cây chế phẩm vào môi trường thioglicolat ủ ở nhiệt độ 30 – 35°C, môi trường soya - bean casein digest ủ ở nhiệt độ 20 – 25°C, quan sát 14 ngày liên tục; Thử nội độc tố vi khuẩn bằng phương pháp LAL, đo trên máy PTS-100.

Xử lý số liệu: Các số liệu được phân tích dùng phần mềm Prism 8 và tính độ tinh khiết hóa phóng xạ

bằng phần mềm OptiQuant 5.0. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

III. KẾT QUẢ

Kết quả điều chế bevacizumab đông khô: Kết quả đánh dấu chế phẩm với đồng vị phóng xạ ^{99m}Tc cả hai dạng, bevacizumab dạng dung dịch trước khi đông khô so với chế phẩm bevacizumab sau khi đông khô (13 mẫu khác nhau, $n=10$) được trình bày trong Hình 1.

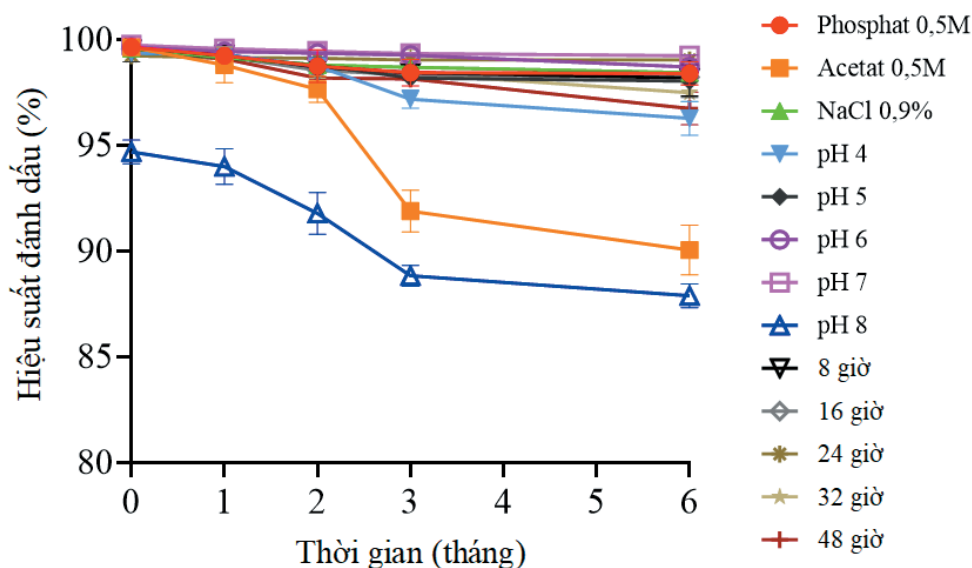


Hình 1. Hiệu suất đánh dấu với ^{99m}Tc của bevacizumab trước và sau khi đông khô

Đồ thị cho thấy không có sự khác biệt đáng kể về hiệu suất đánh dấu trước và sau khi đông khô ($P > 0,05$, one way Anova). Hiệu suất đánh dấu bevacizumab đông khô trong các đệm phosphat, NaCl 0,9 % và acetat 0,5 M lần lượt là $99,65 \pm 0,07$ %, $99,65 \pm 0,21$ % và $99,60 \pm 0,28$ %. So với dạng dung dịch chưa đông khô, hiệu suất đánh dấu đều > 99 %. Riêng tại pH 4 ($P < 0,05$) so với nhóm chế phẩm trong phosphat, hiệu suất đánh dấu trước và sau khi đông khô đều đạt hơn 99 %. Tại pH 8

hiệu suất đánh dấu trước và sau khi đông khô > 94 %. Trước và sau đông khô với thời gian 8, 16, 24, 32 và 48 giờ, kết quả không có sự khác biệt, hiệu suất đánh dấu với ^{99m}Tc đều đạt hơn 99 %.

Kết quả kiểm tra độ ổn định của bevacizumab đông khô theo thời gian: Chế phẩm bevacizumab đông khô được theo dõi độ ổn định đến 6 tháng, bảng số liệu và kết quả được biểu diễn trên đồ thị (Hình 2).



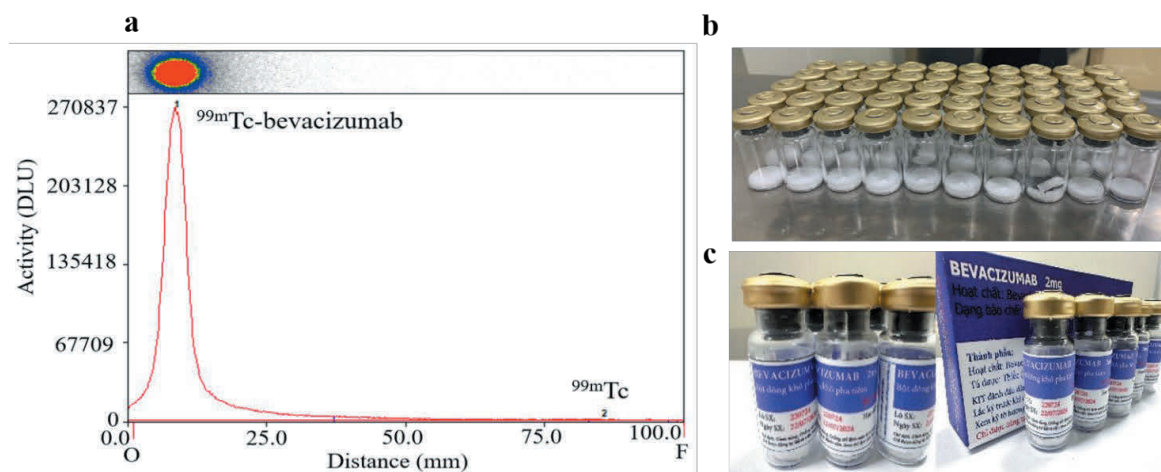
Đệm	Sau đông khô	1 tháng	2 tháng	3 tháng	6 tháng
Phosphat	99,65 ± 0,07	99,25 ± 0,21	98,75 ± 0,78	98,45 ± 0,64	98,41 ± 0,55
Acetat	99,65 ± 0,21	98,80 ± 0,85	97,67 ± 0,62	91,90 ± 0,99	90,07 ± 1,18
NaCl 0,9%	99,60 ± 0,28	99,15 ± 0,07	98,80 ± 0,14	98,70 ± 0,14	98,45 ± 0,07
pH 4	99,37 ± 0,13	99,28 ± 0,09	98,75 ± 0,21	97,20 ± 0,42	96,28 ± 0,79
pH 5	99,45 ± 0,49	99,15 ± 0,07	98,80 ± 0,14	98,20 ± 0,14	98,05 ± 0,78
pH 6	99,65 ± 0,21	99,45 ± 0,28	99,36 ± 0,09	99,27 ± 0,14	98,71 ± 0,56
pH 7	99,75 ± 0,21	99,58 ± 0,06	99,46 ± 0,07	99,35 ± 0,06	99,24 ± 0,17
pH 8	94,70 ± 0,56	94,00 ± 0,84	91,80 ± 0,99	88,80 ± 0,49	87,90 ± 0,56
8 giờ	99,55 ± 0,07	99,30 ± 0,14	98,70 ± 0,28	98,45 ± 0,07	98,20 ± 0,85
16 giờ	99,55 ± 0,35	99,20 ± 0,07	98,55 ± 0,21	98,34 ± 0,26	98,24 ± 0,15
24 giờ	99,25 ± 0,21	99,15 ± 0,21	99,13 ± 0,15	99,05 ± 0,49	99,05 ± 0,35
32 giờ	99,30 ± 0,28	99,25 ± 0,07	98,60 ± 0,42	98,40 ± 0,14	97,50 ± 0,42
48 giờ	99,40 ± 0,14	99,10 ± 0,14	98,20 ± 0,14	98,15 ± 0,07	96,75 ± 0,78

Hình 2. Theo dõi độ ổn định của bevacizumab theo thời gian

Kết quả cho thấy chế phẩm bevacizumab đông khô sau 6 tháng bảo quản trong đệm phosphat và trong NaCl 0,9 % có hiệu suất đánh dấu khi gắn với ^{99m}Tc là 98,41 ± 0,55 % và 98,45 ± 0,07 %. Trong đệm acetat, chế phẩm bevacizumab đông khô có hiệu suất đánh dấu 90,07 ± 1,18 % sau 6 tháng bảo quản. Bevacizumab đánh dấu với ^{99m}Tc đạt hiệu suất cao hơn 98 % trong miền pH trung tính, nhưng giảm tại pH 4 hoặc pH 8 lần lượt là 96,28 ± 0,79 % và 87,90 ± 0,56 %, cho thấy có sự giảm khả năng ổn định của kháng thể, có thể do chlorua thiếc khử ^{99m}Tc⁷⁺ về ^{99m}Tc⁴⁺. Về thời gian đông khô, từ 8 đến 48 giờ, chế phẩm khô với hiệu suất đánh dấu sau 6 tháng đạt hơn 95 %. Thời gian đông khô 8-16 giờ có thể tốt, nhưng bảo quản lâu dài có thể có sự giảm hiệu suất đánh dấu.

Thời gian đông khô lâu hơn 32-48 giờ có thể làm hao hụt khối lượng và có thể ảnh hưởng hoạt tính kháng thể, dù hiệu suất đánh dấu cao, nên không được chọn. Do vậy chọn thời gian đông khô tối ưu của bevacizumab là 24 giờ. Kết quả nghiên cứu các điều kiện tối ưu để điều chế kháng thể đơn dòng bevacizumab là chọn chế độ đông khô bevacizumab trong đệm phosphat 0,5 M, pH 7,4, thời gian 24 giờ, nhiệt độ cố định tối thiểu là -40°C trên thiết bị iShinBioBase, thực tế đạt được lạnh sâu hơn, áp suất máy 5 mTorr, nhiệt độ buồng lạnh -69°C.

Kết quả kiểm tra độ tinh khiết hoá phóng xạ: Độ tinh khiết hóa phóng xạ của ^{99m}Tc-bevacizumab đông khô đạt hơn 98 % (Hình 3).



Hình 3. a) Độ tinh khiết hoá phóng xạ của bevacizumab đông khô, sau khi hoàn nguyên và đánh dấu với ^{99m}Tc, pH 7,4, TLC ^{99m}Tc-bevacizumab, 10 × 100 mm, dung môi acetone, chụp trên máy phóng xạ tự chụp. b, c) bevacizumab đông khô.

Đồ thị hình 3a cho thấy phức ^{99m}Tc-bevacizumab lưu ở vị trí gốc của băng sắc ký, R_f = 0,1 - 0,25, ^{99m}Tc tự do di chuyển tới tuyến trên, R_f = 0,9 - 1,0. Chế phẩm bevacizumab đông khô đạt thử vô khuẩn và nội độc tố vi khuẩn đo được 2,0 EU/ml (<175/V USP). Tóm lại, quá trình đông khô kháng thể đơn dòng bevacizumab để đánh dấu với đồng vị phóng xạ ^{99m}Tc được thực hiện trong môi trường đệm phosphat 0,5 M, pH 7,4, trong đó hàm lượng kháng thể mỗi chai là 2,0 mg, 0,4 mg thiếc clorua và đông khô trong 24 giờ ở điều kiện nhiệt độ lạnh sâu -40°C, áp suất 5 mTorr. Sau khi hoàn nguyên, chế phẩm được đánh dấu với 40 - 60 mCi ^{99m}Tc, thời gian đánh dấu là 15 phút ở nhiệt độ phòng. Chế phẩm đạt chỉ tiêu chất lượng của dược chất phóng xạ dùng trong các nghiên cứu tiếp theo.

IV. BÀN LUẬN

Quá trình điều chế chế phẩm bevacizumab đông khô dùng để đánh dấu với đồng vị phóng xạ ^{99m}Tc đã được thực hiện và thu được hiệu suất đánh dấu đạt hơn 95 %. Kết quả cho thấy có sự giống nhau khi so sánh với các kháng thể đông khô như các nghiên cứu đã công bố, ví dụ kháng thể sulesomab đông khô đánh dấu với đồng vị phóng xạ ^{99m}Tc [7]. Baudhuin và cộng sự đã đông khô kháng thể đơn dòng kháng HER2 làm tiền chất để đánh dấu với ⁶⁸Ga [8]. Các tá dược trong chế phẩm đông khô kể cả clorua thiếc, clorua natri, phosphat được chọn dựa

trên nhiều nghiên cứu trước đây, đó là các thuốc phóng xạ đánh dấu với ^{99m}Tc đã thương mại và đã sử dụng an toàn trên lâm sàng [4]. Ngoài ra, kỹ thuật đánh dấu kháng thể đông khô với các đồng vị phóng xạ như ^{99m}Tc, ¹¹¹In đã phát triển từ lâu và đã sử dụng trong chụp hình chẩn đoán lâm sàng, như ^{99m}Tc-sulesomab chẩn đoán viêm và nhiễm trùng, ^{99m}Tc-arcitumomab chụp hình ung thư đại trực tràng, ¹¹¹In-capromab pentetide chẩn đoán ung thư tuyến tiền liệt [4, 7].

Hiệu suất đánh dấu của bevacizumab đông khô luôn đạt hơn 95 %, cho thấy đông khô thuận lợi trong quá trình bảo quản, tăng tính ổn định và sử dụng lâu dài [7, 8]. Ngoài ra, các tiêu chí chất lượng đối với sản phẩm đông khô như độ vô khuẩn, nội độc tố vi khuẩn đạt yêu cầu như trong dược điển đối với kháng thể đông khô [6]. Nghiên cứu của Taniwaki và cộng sự đã dùng bevacizumab đông khô để điều trị các tăng sinh mạch ở giác mạc và đã chứng minh rằng việc đông khô không làm mất hoạt tính kháng thể [9]. Về hàm lượng kháng thể 2,0 mg trong một chai kháng thể đông khô được chọn để có thể dùng cho 2 - 3 liều tiêm, hoạt độ phóng xạ là 40 - 60 mCi ^{99m}Tc. So sánh với liều tiêm của kháng thể sulesomab, đánh dấu 0,31 mg với 1110 MBq (29,7 mCi) ^{99m}Tc, đều tạo ra sản phẩm có độ tinh khiết hóa phóng xạ > 95 % và sẵn sàng sử dụng [7].

V. KẾT LUẬN

Kháng thể đơn dòng bevacizumab đông khô được nghiên cứu điều chế dùng để sẵn sàng đánh dấu với đồng vị phóng xạ ^{99m}Tc đạt hiệu suất cao. Chế phẩm đông khô đạt các chỉ tiêu về độ tinh khiết hóa phóng xạ, độ ổn định đạt vô khuẩn và nội độc tố vi khuẩn theo yêu cầu

của hợp chất đánh dấu dùng trong chụp hình chẩn đoán các khối ung thư. Để có thể sử dụng bevacizumab trên lâm sàng, cần có những nghiên cứu sâu hơn về các đánh giá tiền lâm sàng như xác định hoạt tính miễn dịch, phân bố trên động vật, đánh giá liều lượng cũng như hiệu quả chụp hình phóng xạ miễn dịch.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Yu Song, Qianqian Mao, Manling Zhou, Cheng-Jiang Liu, Li Kong and Ting Hu (2024). "Effectiveness of bevacizumab in the treatment of metastatic colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis", *BMC Gastroenterology*, 24:58 doi.org/10.1186/s12876-024-03134-w.
2. Hongtao Li, Xiangdi Zhao, Jing Xie, Xingyu Zhu, Yue Su, Cuixia He et al., (2023). "A phase I study comparing the biosimilarity of the pharmacokinetics and safety of recombinant humanized anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody injection with Avastin® in healthy Chinese male subjects", *BMC Pharmacol Toxicol*, 24: 36, doi:10.1186/s40360-023-00673-y.
3. Hui Tan, Jun Zhou, Xiangdong Yang, Dengfeng Cheng et al., (2017). " ^{99m}Tc -labeled bevacizumab for detecting atherosclerotic plaque linked to plaque neovascularization and monitoring antiangiogenic effects of atorvastatin treatment in ApoE $^{-/-}$ mic", *Sci Rep*, 7, 3504.
4. Bibi Faiza, Syed Qaiser Shah, (2020). "Synthesis of ^{99m}Tc -p-SCN-Bzl-TCMC-bevacizumab for vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor imaging using ovarian cancer model", *J Radioanal and Nucl Chem*, 325(1). <https://doi.org/DOI:10.1007/s10967-020-07202-9>.
5. Nguyễn Thị Khánh Giang, Nguyễn Thị Thu, Nguyễn Thị Ngọc và cộng sự, (2021). "Nghiên cứu đánh dấu kháng thể đơn dòng bevacizumab với đồng vị phóng xạ Tc-99m dùng trong chụp hình miễn dịch phóng xạ ung thư", *Tạp chí y dược lâm sàng 108*, T10, p10-15.
6. British Pharmacopoeia 2016: European Pharmacopoeia monographs in accordance with Directive 98/34/EEC. <https://Pharmacopoeia.com>
7. https://ec.europa.eu/health/documents/communityregister/2018/20180124139952/anx_139952_en.pdf.
8. Henri Baudhuin, Pieter-Jan Van Bockstal, Thomas De Beer, Ilse Vaneycken, Jessica Bridoux, Geert Raes et al., (2021). "Lyophilization of NOTA-sdAbs: First step towards a cold diagnostic kit for ^{68}Ga -labeling", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, Volume 166, 194-204, <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2021.06.012>.
9. Taniwaki, L., Mendonça, R., Cunha-Júnior, A. S., Faraco, A. A. G., Ribeiro, J. A. S., Scott, I. U., & Jorge, R. (2010). "Effect of lyophilization on the in vitro biological activity of bevacizumab", *Eye*, 24(10), 1628-1629. <https://doi.org/10.1038/eye.2010.96>.

TÓM TẮT

Mục tiêu: Bevacizumab, kháng thể đơn dòng nhân hoá kháng VEGF, được nghiên cứu đông khô và đánh dấu với ^{99m}Tc để tạo thành ^{99m}Tc -bevacizumab dùng trong chụp hình khối ung thư. Mục đích của nghiên cứu là phát triển công thức và quy trình đông khô thuốc bevacizumab.

Phương pháp: Bevacizumab được khảo sát đông khô theo hàm lượng các chất, pH, nhiệt độ và thời gian. Hợp chất đông khô được kiểm tra tính ổn định, đánh dấu với đồng vị phóng xạ ^{99m}Tc , kiểm tra độ tinh khiết hoá phóng xạ và độ bền.

Kết quả: Kết quả nghiên cứu cho thấy, bevacizumab được đông khô tạo thành dạng khô xốp, màu trắng, ở các điều kiện tối ưu như đệm phosphat 0,5 M, pH 7,4 ở nhiệt độ -40°C và thời gian 24 giờ. Bevacizumab đông khô ổn định sau 6 tháng theo dõi. Độ tinh khiết hóa phóng xạ của ^{99m}Tc -bevacizumab đạt hơn 98 %, đạt vô khuẩn và nội độc tố vi khuẩn.

Kết luận: Bevacizumab đã được điều chế dạng đông khô, có thể dùng để đánh dấu với ^{99m}Tc , đạt các chỉ tiêu về thuốc phóng xạ và có thể dùng trong các nghiên cứu tiền lâm sàng.

Từ khoá: Kháng thể đơn dòng bevacizumab, lyophilization, đồng vị phóng xạ Tc-99m, chụp hình miễn dịch phóng xạ.

Người liên hệ: Nguyễn Thị Thu. Email: khanhgiang55@gmail.com, ngthithu2019@gmail.com

Ngày nhận bài : 31/07/2024. Ngày nhận phản biện: 19/09/2024. Ngày chấp nhận đăng: 30/09/2024