

ĐỐI CHIẾU TÌNH TRẠNG BIỂU LỘ ĐỘT BIẾN BRAF V600E VÀ CÁC ĐẶC ĐIỂM BỆNH HỌC UNG THƯ TUYẾN GIÁP THỂ BIỆT HOÁ Ở TRẺ EM

Ngô Quốc Duy^{1,2,✉}, Lê Thế Đường¹, Ngô Xuân Quý¹

¹Bệnh viện K

²Trường Đại học Y Hà Nội

Ung thư tuyến giáp (UTTG) là bệnh ung thư phổ biến, ngày càng gia tăng tuy nhiên ít gặp ở trẻ em và chủ yếu gặp thể biệt hoá, bao gồm UTTG thể nhú và thể nang. Trong UTTG thể biệt hoá, đột biến BRAF V600E là một trong những đột biến gen được nghiên cứu nhiều nhất, đặc biệt là ở người lớn. Tuy nhiên, ở trẻ em, tỷ lệ đột biến và mối liên quan của tình trạng đột biến gen BRAF V600E với các đặc điểm bệnh học và tiên lượng bệnh còn chưa được sáng tỏ. Trong nghiên cứu này, bao gồm 99 bệnh nhân ung thư tuyến giáp thể biệt hoá ở trẻ em, có 18 bệnh nhân dương tính khi làm hoá mô miễn dịch biểu lộ đột biến gen BRAF V600E, chiếm 18,2%. Đối chiếu với các đặc điểm bệnh học, chưa phát hiện mối liên hệ giữa tình trạng biểu lộ đột biến gen BRAF V600E và các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của ung thư tuyến giáp ở trẻ em như tuổi, giới, ung thư hai thuỳ, tổn thương đa ổ, phá vỡ vỏ, tình trạng di căn hạch, tình trạng di căn xa và thể mô bệnh học.

Từ khoá: ung thư tuyến giáp, ung thư trẻ em, BRAF V600E.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư tuyến giáp (UTTG) là bệnh ung thư phổ biến, ngày càng gia tăng tuy nhiên ít gặp ở trẻ em và chủ yếu gặp thể biệt hoá, bao gồm UTTG thể nhú và thể nang. Theo Hiệp hội Tuyến giáp Hoa Kỳ, UTTG ở trẻ em được định nghĩa là bệnh UTTG gặp ở trẻ dưới 18 tuổi.¹ UTTG ở trẻ em có tỷ lệ u đa ổ, tổn thương hai bên, xâm lấn phá vỡ vỏ, di căn hạch và di căn xa cao hơn các lứa tuổi khác.¹⁻³ Hiện nay, xu hướng mới trong nghiên cứu y học nói chung và ung thư học nói riêng là nghiên cứu sâu về các đặc điểm sinh học phân tử. Trong UTTG thể biệt hoá, đột biến BRAF V600E là một trong những đột biến gen được nghiên cứu nhiều nhất, đặc biệt là ở người lớn. BRAF V600E đóng vai trò quan trọng trong việc thúc đẩy sự xâm nhập và tiến triển ung thư biểu mô tuyến giáp thể

nhú. UTTG thể biệt hoá có đột biến gen BRAF V600E thường liên quan tới giảm khả năng tổng hợp hormon tuyến giáp và giảm tổng hợp protein NIS (sodium I-ốtide symporter – có vai trò quan trọng trong tổng hợp hormon tuyến giáp nhờ khả năng vận chuyển I-ốt vào tế bào nang tuyến giáp. Ngoài ra, đột biến này có thể gây mất độ biệt hóa tế bào dẫn tới mất chức năng bắt giữ I-ốt, có thể làm cho khối u kháng với điều trị I-ốt phóng xạ.⁴⁻⁵ Tuy nhiên, ở trẻ em, tỷ lệ đột biến và mối liên quan của tình trạng đột biến gen BRAF V600E với các đặc điểm bệnh học và tiên lượng bệnh còn chưa được sáng tỏ. Các kỹ thuật sinh học phân tử xác định đột biến gen chủ yếu dựa vào kỹ thuật PCR. Những phương pháp này thường đắt tiền, nhiều công đoạn và tốn thời gian, đòi hỏi khâu tách chiết ADN phức tạp hơn. Tuy nhiên, hoá mô miễn dịch có giá trị rất cao trong đánh giá đột biến gen BRAF V600E ở UTTG. Trong nghiên cứu của tác giả Zhao J so sánh 3 phương pháp phát hiện đột biến gen BRAF V600E trong UTTG nhú cho thấy độ nhạy, độ đặc hiệu của phương pháp

Tác giả liên hệ: Ngô Quốc Duy

Bệnh viện K

Email: Duyyhn@gmail.com

Ngày nhận: 03/01/2023

Ngày được chấp nhận: 10/02/2023

giải trình gen là 97,2% và 95,2%, độ nhạy và độ đặc hiệu của phương pháp RT-PCR (Cobas 4800) là 99,3% và 90,5% còn độ nhạy và độ đặc hiệu của HMMD là 98,6 và 97,6%.⁶ Do vậy, trên thực hành lâm sàng, việc làm HMMD để đánh giá đột biến *BRAF V600E* vừa có ý nghĩa khoa học, vừa có hiệu quả kinh tế. Hiện tại ở Việt Nam, chưa có nghiên cứu nào đề cập đến mối liên quan giữa đột biến gen *BRAF V600E* trong bệnh học ung thư tuyến giáp thể biệt hóa ở trẻ em. Từ thực tế đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu: 1) Xác định tỷ lệ biểu lộ đột biến *BRAF V600E* trong ung thư tuyến giáp thể biệt hóa ở trẻ em; 2) Đối chiếu tình trạng biểu lộ đột biến *BRAF V600E* với các đặc điểm bệnh học.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Bao gồm các bệnh nhân trẻ em được chẩn đoán UTTG thể biệt hóa và điều trị tại Bệnh viện K từ tháng 01/2014 đến tháng 01/2021.

Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân

Tuổi < 18 tuổi.

Bệnh nhân được chẩn đoán UTTG dựa vào khám lâm sàng và cận lâm sàng.

Được điều trị tại Bệnh viện K.

Có kết quả xét nghiệm giải phẫu bệnh u tuyến giáp và/ hoặc hạch cổ, khẳng định là ung thư biểu mô tuyến giáp thể nhú hoặc thể nang.

Bệnh nhân được làm xét nghiệm hoá mô miễn dịch đánh giá tình trạng biểu lộ đột biến

BRAF V600E.

Tiêu chuẩn loại trừ

Mô bệnh học sau mổ là ung thư tuyến giáp thể tuỷ hoặc thể không biệt hoá hoặc ung thư của tổ chức liên kết hoặc u lympho ác tính biểu hiện ở tuyến giáp.

Ung thư từ nơi khác di căn đến tuyến giáp.

Bệnh nhân đã được điều trị ung thư tuyến giáp tại tuyến trước.

2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu: Mô tả hồi cứu kết hợp tiến cứu.

Cỡ mẫu nghiên cứu: Chọn mẫu toàn bộ, lấy toàn bộ các bệnh nhân trẻ em thỏa mãn tiêu chuẩn lựa chọn vào nghiên cứu. Thực tế, thu thập được 99 trẻ em đủ tiêu chuẩn lựa chọn vào nghiên cứu.

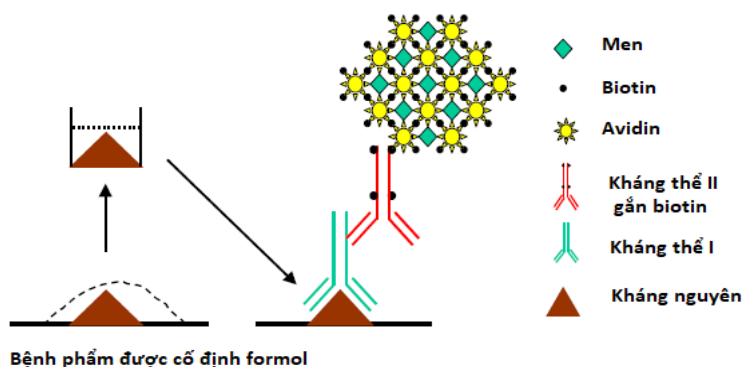
Đánh giá tình trạng bộc lộ hoá mô miễn dịch *BRAF V600E*

Đánh giá tình trạng biểu lộ hoá mô miễn dịch *BRAF V600E* bằng kỹ thuật enzyme Avidin Biotin Complex (ABC).

Xác định tỷ lệ biểu lộ protein *BRAF V600E* và đối chiếu với các đặc điểm bệnh học: tuổi, giới, kích thước u, đa ổ, giai đoạn u, tình trạng di căn hạch, di căn xa.

Quy trình đánh giá tình trạng biểu lộ hoá mô miễn dịch *BRAF V600E* tại Bệnh viện K

- Phương pháp nhuộm hoá mô miễn dịch được thực hiện trên các lát cắt mô vùi nền bằng kỹ thuật enzyme Avidin Biotin Complex (ABC).



Hình 1. Nguyên tắc nhuộm hoá mô miễn dịch bằng kỹ thuật ABC

Các kháng thể được sử dụng và nồng độ kháng thể: Anti-BRAF V600E (VE1) Mouse Monoclonal Primary Antibody 5ml (12 µg/ml).



Hình 2. Kit nhuộm hoá mô miễn dịch dấu ấn BRAF V600E



Hình 3. Các bước nhuộm hóa mô miễn dịch theo máy BenchMark Ultra tại Bệnh viện K

Điều kiện đọc kết quả

- Có tiêu bản chứng âm (trong quá trình nhuộm bỏ qua giai đoạn phủ kháng thể thứ

nhất) và chứng dương (nhuộm kèm với tiêu bản mô đã biết chắc chắn là dương tính), có thể dùng chứng dương ngay trong tiêu bản nhuộm,

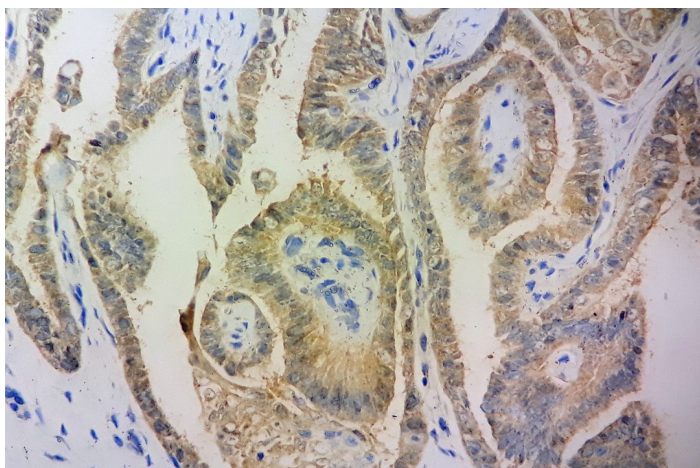
được gọi là nội chứng.

- Phải đối chiếu với tiêu bản nhuộm HE để biết vùng cần đọc kết quả là vùng nào.
- Biết rõ vị trí kháng nguyên cần xác định ở

nhân, bào tương hay màng tế bào.

Cách đọc kết quả

- Âm tính: chỉ có màu xanh của nhân.
- Dương tính: màu vàng nâu.



Hình 4. Hình ảnh HMMD dương tính BRAF V600E

BN N.T.N.Q. Số hồ sơ: 193137857. Mã tiêu bản K3-19-97014

Xử lý số liệu

Nhập số liệu và xử lý số liệu bằng phần mềm thống kê SPSS 25.0. Đối chiếu tình trạng biểu lộ BRAF V600E và các đặc điểm bệnh học UTTG thể biệt hóa ở trẻ em bằng kiểm định Fisher's Exact, mức ý nghĩa thống kê là $p < 0,05$.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tuân thủ các nguyên tắc trong đạo đức nghiên cứu y sinh học. Tất cả các bệnh nhân đều được nghiên cứu trên bệnh án vì vậy không có can thiệp trực tiếp trên người bệnh.

III. KẾT QUẢ

1. Tỷ lệ biểu lộ đột biến gen BRAF V600E

Đặc điểm lâm sàng, bệnh học của nhóm bệnh nhân UTTG thể biệt hóa ở trẻ em

Bảng 1. Đặc điểm lâm sàng, bệnh học của nhóm bệnh nhân

Chỉ số	Số lượng BN (n)	Tỷ lệ phần trăm (%)
Giới		
Nữ	68	68,7
Nam	31	31,3
Tuổi		
< 15	32	32,3
≥ 15	67	67,7

Chỉ số	Số lượng BN (n)	Tỷ lệ phần trăm (%)
Kích thước u (mm)		
≤ 10mm	17	17,2
> 10mm	82	82,8
Vị trí u		
Thùy phải	44	44,4
Thùy trái	37	37,4
Cả hai thùy	18	18,2
Số lượng u		
Đơn ổ	78	78,8
Đa ổ	21	21,2
Giải phẫu bệnh		
Thể nhú	95	96,0
Thể nang	4	4,0
Phá vỏ hay không		
Có	34	34,3
Không	65	65,7
pN1a		
Có	69	69,7
Không	30	30,3
pN1b		
Có	44	44,5
Không	55	55,6
Di căn xa		
Có (Phổi)	8	8,1
Không	91	91,9

Đa số bệnh nhân là nữ giới, tuổi từ 15 - 18 tuổi. Kích thước u trên 1cm chiếm 82,8%. UTTG thể nhú chiếm phần lớn (96,0%). Có 34,3% u phá vỏ xâm lấn cơ trước giáp. Di căn hạch cổ trung tâm, hạch cổ bên chiếm 69,7% và 44,5%.

Di căn xa chỉ gặp ở 8 BN (chiếm 8,1%).

Tỷ lệ bộc lộ đột biến gen BRAF V600E

Trong số 99 BN, có 18 BN dương tính khi làm hoá mô miễn dịch biểu lộ đột biến gen BRAF V600E, chiếm 18,2%.

Bảng 2. HMMĐ bộc lộ đột biến gen *BRAF V600E*

HMMĐ bộc lộ đột biến gen <i>BRAF V600E</i>	Số bệnh nhân (n = 99)	Tỷ lệ (%)
Dương tính	18	18,2
Âm tính	81	81,8
Tổng	99	100

2. Đối chiếu tình trạng bộc lộ *BRAF V600E* và các đặc điểm bệnh họcBảng 3. Đối chiếu tình trạng bộc lộ *BRAF V600E* và các đặc điểm bệnh học

Đặc điểm	Tình trạng biểu lộ đột biến <i>BRAF V600E</i>		Giá trị p
	Dương tính	Âm tính	
Tuổi	< 15	4 (12,5%)	0,311
	≥ 15	14 (20,9%)	
Giới	Nữ	12 (17,6%)	0,838
	Nam	6 (19,4%)	
Ung thư hai thùy	Có	4 (22,2%)	0,623
	Không	14 (17,3%)	
Đa ổ	Có	4 (19,0%)	0,908
	Không	14 (17,9%)	
Tình trạng phá vỡ vỏ	Có	6 (17,6%)	0,921
	Không	12 (18,5%)	
Kích thước u	≤ 1cm	3 (17,6%)	0,950
	> 1cm	15 (18,3%)	
pN1a	Có	14 (20,3%)	0,410
	Không	4 (13,3%)	
pN1b	Có	7 (15,9%)	0,600
	Không	11 (20,0%)	
M1	Có	1 (12,5%)	0,664
	Không	17 (18,7%)	
Mô bệnh học	Thể nhú	18 (18,9%)	0,336
	Thể nang	0 (%)	

Chưa phát hiện mối liên hệ giữa tình trạng bộc lộ đột biến gen *BRAF V600E* và các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của UTTG ở trẻ

em như tuổi, giới, ung thư hai thùy, tổn thương đa ổ, phá vỡ vỏ, tình trạng di căn hạch, tình trạng di căn xa và thể mô bệnh học.

IV. BÀN LUẬN

Hoạt hóa gen *BRAF* trong UTTG được báo cáo lần đầu tiên vào năm 2003 và các nghiên cứu tiếp theo đã chứng minh đột biến *BRAF V600E* liên quan với UTTG. Đột biến *BRAF V600E* xuất hiện trong UTTG gồm UTTG thể nhú, UTTG kém biệt hóa và giảm biệt hóa tiến triển từ UTTG nhú. *BRAF V600E* đóng vai trò quan trọng không chỉ gây UTTG mà còn có thể có vai trò thúc đẩy sự xâm nhập và tiến triển. Đột biến *BRAF V600E* liên quan đến sửa chữa mô đệm ngoài tế bào, điều hòa ngược việc gắn kết tế bào và thay đổi độ đặc chắc khối u, chuyển đổi biểu mô - trung mô trong suốt quá trình UTTG nhú có đột biến *BRAF V600E* thành UTTG kém biệt hóa. Ở những BN UTTG tái phát, di căn, việc điều trị chủ yếu vẫn bằng I-ốt phóng xạ. Tuy nhiên, một số các tế bào UTTG có thể mất đi khả năng bắt I-ốt. Đây là một trong những nguyên nhân chính dẫn đến thất bại trong điều trị bằng I-ốt phóng xạ.

Trong 99 BN nghiên cứu của chúng tôi, có 18 BN dương tính khi làm hoá mô miễn dịch biểu lộ đột biến gen *BRAF V600E*, chiếm 18,2%. Kết quả của các tác giả trên thế giới khi nghiên cứu về tình trạng đột biến gen *BRAF V600E* trên đối tượng UTTG ở trẻ em cũng cho kết quả tương tự, tỷ lệ đột biến gen *BRAF V600E* dao động từ 3 - 36,8%.⁷⁻⁹ Theo Chakraborty và cộng sự (2020), khi báo cáo trên 98 bệnh nhân UTTG trẻ em từ năm 2005 đến năm 2018, kết quả cho thấy có 14/98 bệnh nhân có đột biến gen *BRAF V600E*, chiếm 14,3%. Theo Givens và cộng sự (2014), tỷ lệ đột biến gen *BRAF V600E* ở trẻ em là 36,8%. Theo Sassolas và cộng sự (2012), tỷ lệ này là 20,3%. Theo Rosenbaum và cộng sự (2005), tỷ lệ này là 20%. Lý do có thể giải thích cho tỷ lệ này dao động đó là UTTG ở trẻ em ít gặp nên hầu hết các nghiên cứu đều có cỡ mẫu chưa đủ lớn. Tuy nhiên, các tác giả đều thống

nhất, tỷ lệ đột biến *BRAF V600E* ở trẻ em thấp hơn nhiều so với người lớn. Theo Oishi và cộng sự (2017) khi so sánh tỷ lệ đột biến gen *BRAF V600E* giữa trẻ em và người lớn, kết quả cho thấy tỷ lệ này ở người lớn cao hơn nhiều so với ở trẻ em (85% so với 54%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, $p < 0,001$.¹⁰

Đối chiếu tình trạng biểu lộ đột biến gen *BRAF V600E* và các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng UTTG trẻ em, kết quả của chúng tôi cho thấy chưa phát hiện mối liên hệ giữa tình trạng bộc lộ đột biến gen *BRAF V600E* và các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của UTTG ở trẻ em như tuổi, giới, ung thư hai θυ, tổn thương đa ổ, phá vỡ vỏ, tình trạng di căn hạch, tình trạng di căn xa và thể mô bệnh học. Kết quả của chúng tôi cũng tương tự với các tác giả nước ngoài. Theo Alzahrani và cộng sự (2017) khi nghiên cứu trên 89 BN UTTG trẻ em từ năm 1998 - 2015, tỷ lệ đột biến gen *BRAF V600E* là 26,4%. Ngoài ra, tác giả kết luận không có mối liên quan giữa đột biến gen *BRAF V600E* và các đặc điểm bệnh học như giới, u phá vỡ vỏ, đa ổ, xâm lấn mạch máu, di căn hạch, di căn xa và tình trạng bệnh tái phát.¹¹ Henke và cộng sự (2014) cũng cho kết quả tương tự, đột biến gen *BRAF V600E* không có mối liên quan tới kích thước u, tình trạng phá vỡ vỏ, xâm lấn phần mềm mạch máu.¹² Poyrazoglu và cộng sự (2017) đã nghiên cứu trên 56 bệnh nhân UTTG không quá 18 tuổi, kết quả cho thấy tỷ lệ đột biến gen *BRAF V600E* là 25% và chưa có mối liên quan giữa đột biến này với các đặc điểm bệnh học khác như giới, kích thước u, mức độ xâm lấn của u, di căn hạch, di căn xa.¹³ Tuy nhiên, *BRAF V600E* có thể gây mất biệt hóa tế bào khiến khối u trở nên kháng trị I-ốt và điều này được khẳng định rõ ràng những trường hợp UTTG kháng I-ốt có tỷ lệ đột biến *BRAF V600E* cao.

V. KẾT LUẬN

Trong UTTG thể biệt hoá, tỷ lệ biểu lộ đột biến *BRAF V600E* ở trẻ em thấp hơn nhiều so với người lớn. Hiện tại, chưa phát hiện mối liên hệ giữa tình trạng biểu lộ đột biến gen *BRAF V600E* và các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của UTTG thể biệt hoá ở trẻ em như tuổi, giới, ung thư hai thùy, tổn thương đa ổ, phá vỡ vỏ, tình trạng di căn hạch, tình trạng di căn xa và thể mô bệnh học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. GL Francis, SG Waguespack, AJ Bauer, et al. Management Guidelines for Children with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid*. 2015;25(7):716-759.
2. Z Al-Qurayshi, A Hauch, S Srivastav, et al. A National Perspective of the Risk, Presentation, and Outcomes of Pediatric Thyroid Cancer. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*. 2016;142(5):472-478.
3. J Kim, Z Sun, MA Adam, et al. Predictors of nodal metastasis in pediatric differentiated thyroid cancer. *J Pediatr Surg*. 2017;52(1):120-123.
4. G Acquaviva, M Visani, A Repaci, et al. Molecular pathology of thyroid tumours of follicular cells: a review of genetic alterations and their clinicopathological relevance. *Histopathology*. 2018;72(1):6-31.
5. D Chakraborty, S Shakya, S Ballal, et al. *BRAF V600E* and TERT promoter mutations in paediatric and young adult papillary thyroid cancer and clinicopathological correlation. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2020;33(11):1465-1474.
6. J Zhao, P Liu, Y Yu, et al. Comparison of diagnostic methods for the detection of a *BRAF* mutation in papillary thyroid cancer. *Oncol Lett*. 2019;17(5):4661-4666.
7. DJ Givens, LO Buchmann, AM Agarwal, et al. *BRAF V600E* does not predict aggressive features of pediatric papillary thyroid carcinoma. *Laryngoscope*. 2014;124(9):E389-393.
8. G Sassolas, Z Hafdi-Nejjari, A Ferraro, et al. Oncogenic alterations in papillary thyroid cancers of young patients. *Thyroid*. 2012;22(1):17-26.
9. E Rosenbaum, G Hosler, M Zahurak, et al. Mutational activation of *BRAF* is not a major event in sporadic childhood papillary thyroid carcinoma. *Mod Pathol*. 2005;18(7):898-902.
10. N Oishi, T Kondo, T Nakazawa, et al. Frequent *BRAF (V600E)* and Absence of TERT Promoter Mutations Characterize Sporadic Pediatric Papillary Thyroid Carcinomas in Japan. *Endocr Pathol*. 2017;28(2):103-111.
11. AS Alzahrani, AK Murugan, E Qasem, et al. Single Point Mutations in Pediatric Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid*. 2017;27(2):189-196.
12. LE Henke, SM Perkins, JD Pfeifer, et al. *BRAF V600E* mutational status in pediatric thyroid cancer. *Pediatr Blood Cancer*. 2014;61(7):1168-1172.
13. S Poyrazoglu, R Bundak, F Bas, et al. Clinicopathological Characteristics of Papillary Thyroid Cancer in Children with Emphasis on Pubertal Status and Association with *BRAF(V600E)* Mutation. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2017;9(3):185-193.

Summary

THE RELATIONSHIP BETWEEN BRAF V600E IMMUNOHISTOCHEMISTRY AND CHARACTERISTICS OF WELL-DIFFERENTIATED THYROID CARCINOMA IN THE PEDIATRIC POPULATION

Thyroid cancer is rare in children and mainly seen in well-differentiated thyroid carcinoma. The *BRAF V600E* mutation is among the most studied gene mutations, especially in adults. However, in children, the mutation rate and the association of *BRAF V600E* mutation status with pathological features and disease prognosis remain unclear. Among 99 patients, 18 were positive when immunohistochemistry revealed mutations in the *BRAF V600E* gene, accounting for 18.2%. No relationship was found between the expression of the *BRAF V600E* mutation and the clinical and subclinical features of thyroid cancer in children, such as age, sex, bilateral cancer lesions, multifocal cancer, extra thyroidal extension, lymph node metastasis, distant metastasis, and pathological results.

Keywords: Thyroid cancer, pediatric cancer, BRAF V600E.