

# ĐẶC ĐIỂM GEN KRAS, BRAF, CÁC GEN SỬA CHỮA GHÉP CẶP SAI (MMR) VÀ TÌNH TRẠNG BIỂU HIỆN PROTEIN MMR Ở NGƯỜI BỆNH UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNG

Bùi Bích Mai<sup>1,2,✉</sup>, Phạm Cẩm Phương<sup>2</sup>, Đoàn Thị Kim Phượng<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Y Hà Nội

<sup>2</sup>Bệnh viện Bạch Mai

Nghiên cứu này mô tả đặc điểm và biến thể gen KRAS, BRAF, các gen sửa chữa ghép cặp sai (MMR-Mismatch repair) và tình trạng biểu hiện protein MMR ở người bệnh ung thư đại trực tràng người Việt Nam. Người bệnh được chẩn đoán mắc ung thư đại trực tràng tại Trung tâm Y học hạt nhân và Ung bướu, Bệnh viện Bạch Mai từ tháng 1/2022 đến tháng 6/2023. Nghiên cứu theo phương pháp mô tả, hồi cứu kết hợp tiến cứu và lấy mẫu toàn bộ. Nghiên cứu 219 trường hợp ung thư đại trực tràng ghi nhận tỉ lệ đột biến gen KRAS, BRAF lần lượt là 47,9% và 5,9%; tỉ lệ mất biểu hiện protein MMR là 15,1% và phát hiện 08 biến thể trên gen MMR gây hội chứng Lynch. Nghiên cứu cho thấy có mối liên quan giữa giới tính và tình trạng đột biến gen KRAS, trong đó nữ giới có nguy cơ đột biến gen cao gấp 2,34 lần so với nam giới; có mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa tình trạng mất biểu hiện protein MMR (dMMR) và nhóm tuổi dưới 60 tuổi, có tiền sử gia đình liên quan Hội chứng Lynch, thể mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến có thành phần chế nhày và vị trí u ở trực tràng.

**Từ khóa:** Gen KRAS, BRAF, protein MMR, gen MMR, Hội chứng Lynch.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong kỷ nguyên y học chính xác và điều trị cá thể hoá, các xét nghiệm phân tích hệ gen ngày càng đi sâu vào thực hành lâm sàng. Trước đây, ý nghĩa phân tích hệ gen của các nghiên cứu chỉ dừng lại ở giải thích cơ chế bệnh sinh thì giờ đây, trong y học nói chung và trong bệnh lý ung thư nói riêng, ứng dụng các xét nghiệm này đều có thể thấy từ việc sàng lọc, chẩn đoán sớm, hỗ trợ chẩn đoán xác định, tiên lượng bệnh và dự báo kết quả điều trị, theo dõi di căn, tái phát và tình trạng kháng thuốc... góp phần nâng cao năng lực khám, chữa bệnh.<sup>1</sup> Ở Việt Nam, hiện đã có nhiều công trình nghiên cứu về ung thư đại trực tràng (UTĐTT), về tỷ lệ mắc bệnh, nguyên nhân, một số phương

pháp chẩn đoán, điều trị và ít nghiên cứu đi sâu về đặc điểm các đột biến gen và sự biểu hiện protein của khối u. Nhiều công trình nghiên cứu cho thấy mức độ đáp ứng với thuốc điều trị đích ở người bệnh UTĐTT phụ thuộc phần lớn vào tình trạng đột biến gen như KRAS, BRAF.<sup>2</sup> Phân tích tình trạng dMMR (Deficient mismatch repair – Mất biểu hiện protein MMR) hoặc MSI-H (Microsatellite instability High – Mất ổn định vi vệ tinh mức độ cao) nhằm tiên lượng và xét điều trị miễn dịch cho người bệnh.<sup>3</sup> Các trường hợp dMMR không có đột biến gen BRAF kèm theo có tỉ lệ mang Hội chứng Lynch – hội chứng ung thư đại trực tràng di truyền lên đến 15 - 20%.<sup>4</sup> Người mang Hội chứng Lynch có nguy cơ mắc ung thư đại trực tràng, nội mạc tử cung, dạ dày, đường niệu, não... cao hơn so với nguy cơ của dân số chung. Đối với điều trị chính xác và điều trị cá thể hóa, việc xác định các dấu ấn sinh học phân tử không chỉ giúp lựa chọn liệu pháp điều trị đích, điều trị miễn dịch mà còn

Tác giả liên hệ: Bùi Bích Mai

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: buibichmai.bvbm@gmail.com

Ngày nhận: 01/08/2024

Ngày được chấp nhận: 04/09/2024

giúp tiên lượng bệnh, lựa chọn các liệu pháp điều trị hỗ trợ, nhận diện các hội chứng ung thư do di truyền.<sup>5</sup> Hiện nay, tại Việt Nam đã có một số nghiên cứu khảo sát tỷ lệ đột biến gen *KRAS*, *BRAF* tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào tiến hành xác định đột biến *KRAS*, *BRAF* và tình trạng biểu hiện protein MMR và gen *MMR* trong ung thư đại trực tràng cũng như mối liên quan giữa các dấu ấn sinh học trên với một số đặc điểm lâm sàng và mô bệnh học. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu “Đặc điểm gen *KRAS*, *BRAF*, tình trạng biểu hiện protein MMR và gen *MMR* ở người bệnh ung thư đại trực tràng” với mục tiêu: Xác định đặc điểm các biến thể gen *KRAS*, *BRAF*, gen sửa chữa ghép cặp sai (MMR) và tình trạng biểu hiện protein MMR ở người bệnh ung thư đại trực tràng; Phân tích mối liên quan giữa các biến thể gen và biểu hiện protein MMR với một số đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học ở nhóm người bệnh trên.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 1. Đối tượng

219 người bệnh được chẩn đoán ung thư đại trực tràng có chỉ định xét nghiệm gen *KRAS*, gen *BRAF* và nhuộm hóa mô miễn dịch đánh giá tình trạng biểu hiện các protein MMR tại Trung tâm Y học hạt nhân và Ung bướu, Bệnh viện Bạch Mai từ tháng 01/2022 đến tháng 06/2023.

### 2. Phương pháp

#### *Thiết kế nghiên cứu*

Nghiên cứu mô tả, hồi cứu kết hợp tiến cứu.

#### *Cỡ mẫu và chọn mẫu*

- Cỡ mẫu nghiên cứu được chọn theo phương pháp lấy mẫu toàn bộ.

Nghiên cứu đã chọn được 219 người bệnh

đủ tiêu chuẩn nghiên cứu trong toàn bộ thời gian nghiên cứu từ tháng 01/2022 đến tháng 06/2023.

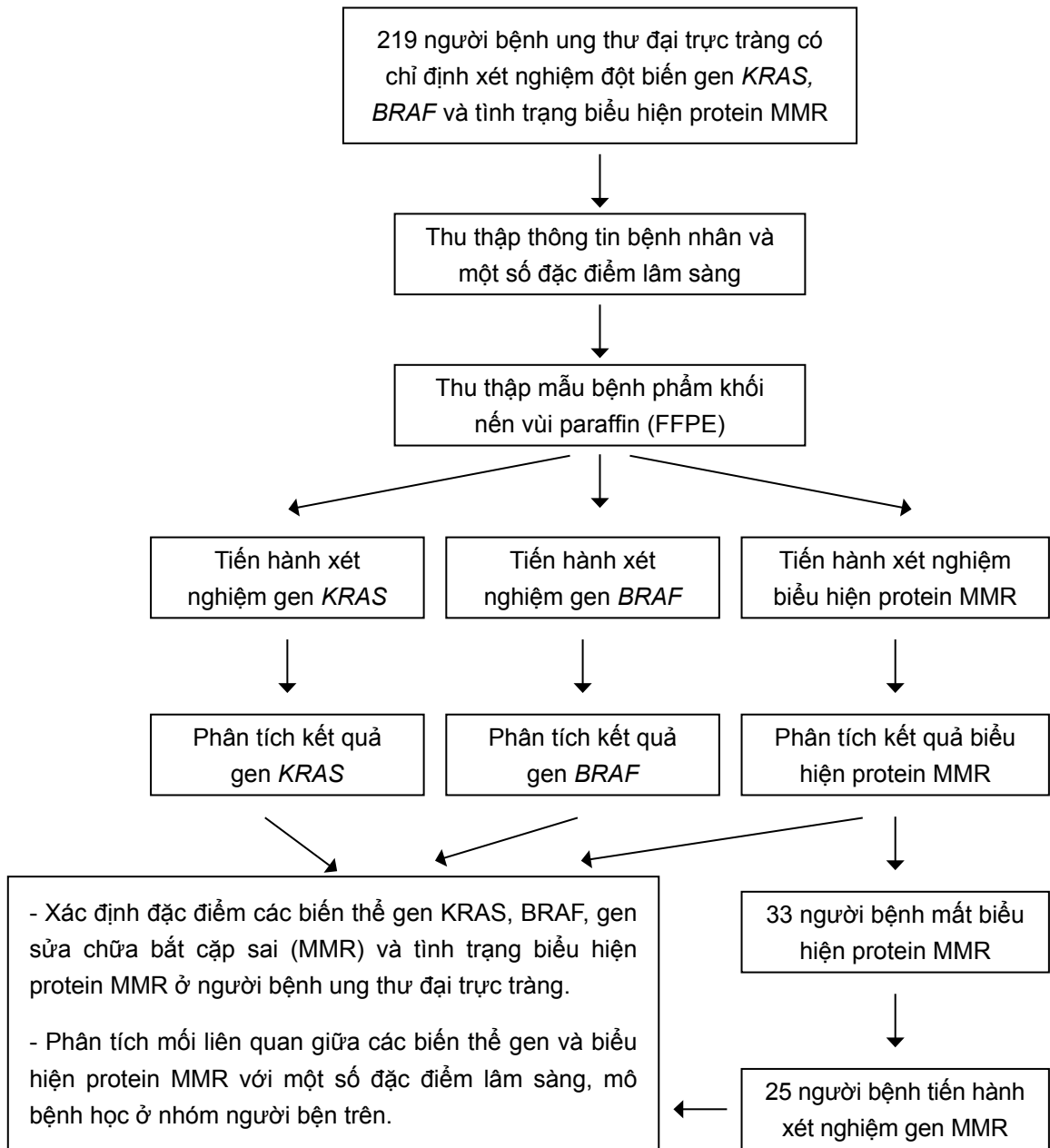
#### *Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu*

Xét nghiệm đột biến gen *KRAS*, *BRAF* được tiến hành theo phương pháp Realtime-PCR trên hệ thống máy COBAS z480, kỹ thuật hóa mô miễn dịch được tiến hành với bộ xét nghiệm hóa mô và máy tự động VENTANA. Xét nghiệm gen *KRAS*, *BRAF* và hóa mô miễn dịch đánh giá biểu hiện protein MMR được tiến hành trên mẫu mô u đại trực tràng đã xử lý formalin vùi paraffin (mẫu FFPE) sau khi sinh thiết hoặc phẫu thuật ở người bệnh.

Các trường hợp có mất biểu hiện protein MMR (dMMR- Deficient mismatch repair) được tiếp tục lấy mẫu máu ngoại vi để tiến hành xét nghiệm di truyền xác định các biến thể gen liên quan Hội chứng Lynch (panel gen bao gồm *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *EPCAM*, *APC*, *MUTYH*) bằng phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới (NGS – Next generation sequencing). Các biến thể di truyền được khảo sát gồm đột biến điểm, mất đoạn và chèn đoạn ngắn (dưới 10 nucleotide) trong vùng mã hoá và vùng lân cận với intron (-10/+10 nucleotide từ exon) của những gen khảo sát. Các trường hợp phát hiện biến thể được tiếp tục xác nhận bằng giải trình tự Sanger.

#### *Biến số, chỉ số nghiên cứu*

Các biến số, chỉ số nghiên cứu được tiến hành phân tích trong nghiên cứu gồm: Tuổi, giới, tiền sử gia đình, các vị trí codon đột biến trên gen *KRAS*, *BRAF*, tình trạng biểu hiện protein MMR, các biến thể gen *MMR*, thể mô bệnh học và vị trí khối u đại trực tràng.

**Quy trình tiến hành nghiên cứu****Sơ đồ 1. Quy trình nghiên cứu****Phương pháp xử lý số liệu**

Số liệu được nhập và quản lý bằng excel 2010 và được phân tích bằng phần mềm SPSS v.20. Mối liên quan giữa đặc điểm của đối tượng nghiên cứu và tình trạng đột biến gen và biểu hiện protein MMR được phân tích bằng

kiểm định Chi-square để so sánh tỉ lệ giữa hai nhóm, OR để đưa ra mối tương quan giữa các đặc điểm của nhóm đột biến và không đột biến, dMMR và pMMR. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi  $p < 0,05$ .

### 3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu đã được thông qua Hội đồng đạo đức của Trường Đại học Y Hà Nội theo quyết định số 837/GCN-HĐĐĐNCYSH-ĐHYHN cấp ngày 16/05/2023.

### III. KẾT QUẢ

1. Đặc điểm các biến thể gen *KRAS*, *BRAF*, gen sửa chữa ghép cặp sai (MMR) và tình trạng biểu hiện protein MMR ở người bệnh ung thư đại trực tràng

**Bảng 1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu**

Đặc điểm	n (%)
Tuổi: Trung bình $61 \pm 13,7$ ; Khoảng tuổi 16 - 86	
< 60	74 (33,8)
$\geq 60$	145 (67,2)
<b>Giới</b>	
Nam	136 (62,1)
Nữ	83 (37,9)
<b>Tiền sử gia đình</b>	
Ung thư liên quan Hội chứng Lynch	34 (15,5)
Ung thư không liên quan Hội chứng Lynch	16 (7,3)
Không có tiền sử gia đình mắc ung thư	169 (77,2)
<b>Thể mô bệnh học</b>	
Ung thư biểu mô tuyến	182 (83,1)
Ung thư biểu mô tuyến có thành phần nhày	31 (14,2)
Ung thư biểu mô tuyến có thành phần tế bào nhẫn	4 (1,8)
Ung thư biểu mô tuyến kém kết dính	2 (0,9)
<b>Vị trí u</b>	
Đại tràng lên	22 (10)
Đại tràng góc gan	23 (10,5)
Đại tràng ngang	12 (5,5)
Đại tràng góc lách	22 (10,0)
Đại tràng xuống	13 (5,9)
Đại tràng Sigma	54 (24,7)
Trực tràng	73 (33,3)

Đặc điểm	n (%)
<b>Tình trạng đột biến gen <i>KRAS</i></b>	
Có đột biến	105 (47,9)
Không có đột biến	114 (52,1)
<b>Tình trạng đột biến gen <i>BRAF</i></b>	
Có đột biến	13 (5,9)
Không có đột biến	206 (94,1)
<b>Tình trạng biểu hiện protein MMR</b>	
Mất biểu hiện protein MMR (dMMR)	33 (15,1)
Bảo toàn protein MMR (pMMR)	186 (84,9)

Trong tổng số 219 đối tượng nghiên cứu (ĐTNC) có 136 nam (62,1%) và 83 nữ (37,9%). Độ tuổi trung bình của ĐTNC là  $61 \pm 13,7$  tuổi, độ tuổi từ 16 - 86 tuổi trong đó chủ yếu trên 60 tuổi. Đa số ĐTNC có thể mô bệnh học là

ung thư biểu mô tuyến (83,1%), vị trí u ở trực tràng (33,3%) và không có tiền sử gia đình mắc ung thư. Tỷ lệ mang đột biến gen *KRAS*, *BRAF* là 48,4% và 5,9%; tỷ lệ mất biểu hiện protein MMR là 15,1%. (Bảng 1)

**Bảng 2. Đặc điểm các vị trí đột biến trên gen *KRAS*, *BRAF* và mất biểu hiện protein MMR**

Dấu ấn		
Gen <i>KRAS</i> , <i>BRAF</i>		
Gen	Codon	n(%)
<b><i>KRAS</i> (n = 105)</b>	12	35 (33,3)
	13	10 (9,6)
	12/13	46 (43,8)
	60	1 (0,9)
	61	2 (1,9)
	117	1 (0,9)
	146	10 (9,6)
<b><i>BRAF</i> (n = 13)</b>	600	12 (92,3)
	601	1 (7,7)

Dấu ấn		
Tình trạng biểu hiện protein MMR		
	Protein mất biểu hiện	
<b>MMR (n = 33)</b>	n(%)	
	MLH1	3 (9,1)
	MSH2	1 (3,0)
	MSH6	1 (3,0)
	PMS2	7 (21,2)
	MLH1, PMS2	15 (45,4)
	MSH2, MSH6	6 (18,2)

Ở các trường hợp mang đột biến, vị trí đột biến hay gặp nhất trên gen *KRAS* nằm ở codon 12 và 13 chiếm tỉ lệ 86,7%, gen *BRAF* nằm ở codon 600 chiếm 92,3%. Về tình trạng biểu hiện protein MMR, mất biểu hiện protein MLH1

và PMS2 chiếm tỉ lệ cao nhất 45,4%, tiếp sau mất biểu hiện protein PMS2 đơn lẻ là 21,2%, các trường hợp mất biểu hiện protein MSH2 và MSH6, MLH1 đơn lẻ, MSH2 và MSH6 đơn lẻ lần lượt là 18,2%, 9,1% và 3%. (Bảng 2)

**Bảng 3. Đặc điểm các biến thể gen sửa chữa ghép cặp sai MMR**

Người bệnh	Tuổi chẩn đoán	Gen	Biến thể	Hệ quả	Phân lớp	Mất biểu hiện protein MMR
L1	29	EPCAM	c.753T>G:p.Tyr251Ter	Vô nghĩa	Gây bệnh	MSH6
L2	58	PMS2	c.1738A>T:p.Lys580Ter	Vô nghĩa	Gây bệnh	PMS2
L3	31	MLH1	c.1740-1753del:p.Pro581fs	Dịch khung	Gây bệnh	MLH1, PMS2
L4	69	MSH2	c.2231-2235del:p.Thr744AsnfsTer12	Dịch khung	Gây bệnh	MSH2, MSH6
L5	29	MLH1	c.2102A>G:p.Gln701Arg	Sai nghĩa	Gây bệnh	MLH1, PMS2
L6	51	MLH1	c.2809del:p.Leu697fs	Dịch khung	Gây bệnh	MLH1, PMS2
L7	44	MLH1	c.109G>A:p.Glu37Lys	Sai nghĩa	Gây bệnh	PMS2
L8	68	PMS2	c.746-753del:p.Asp249fs	Dịch khung	Gây bệnh	PMS2

Trong 33 trường hợp người bệnh dMMR có 25 trường hợp được tiến hành làm xét nghiệm tìm đột biến dòng mầm trên các gen *MMR* và tìm thấy 08 trường hợp mang đột biến dòng mầm trên các gen này. 08 biến thể nằm trên các gen *MLH1*, *PMS2*, *MSH2* và *EPCAM* đều

được phân lớp là biến thể gây bệnh – nguyên nhân dẫn đến Hội chứng Lynch. (Bảng 3)

**2. Mối liên quan giữa các biến thể gen và biểu hiện protein MMR với một số đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học ở nhóm người bệnh trên.**

**Bảng 4. Một số yếu tố liên quan đến tình trạng đột biến gen *KRAS*, *BRAF* ở người bệnh UT đại trực tràng**

Đặc điểm	Gen <i>KRAS</i>		OR (95%CI)	p	Gen <i>BRAF</i>		OR (95%CI)	p
	Có đột biến	Không đột biến			Có đột biến	Không đột biến		
<b>Tuổi</b>								
≤ 60	41 (50,0)	41 (50,0)	1	0,715	6 (7,3)	76 (92,7)	1	0,504
> 60	65 (47,5)	72 (52,5)	0,90 (0,52 – 1,56)		7 (5,1)	130 (94,9)	0,68 (0,22 – 2,11)	
<b>Giới</b>								
Nam	55 (40,4)	81 (59,6)	1	0,003	10 (7,4)	126 (92,6)	1	0,257
Nữ	51 (61,5)	32 (38,5)	2,34 (1,32 – 4,16)		3 (3,6)	80 (96,4)	0,47 (0,13 – 1,78)	
<b>Tiền sử gia đình liên quan đến Hội chứng Lynch</b>								
Không	77 (46,4)	89 (53,6)	1	0,292	11 (6,6)	155 (93,4)	1	0,445
Có	29 (54,7)	24 (45,3)	1,39 (0,75 – 2,61)		2 (3,8)	51 (96,2)	0,55 (0,12 – 2,59)	
<b>Thể mô bệnh học</b>								
Ung thư biểu mô tuyến	88 (48,4)	94 (51,6)	1	0,505	9 (5,0)	173 (95,0)	1	0,727
Ung thư biểu mô tuyến có thành phần chế nhày	17 (54,8)	14 (45,2)	1,30 (0,60 – 2,79)		2 (6,5)	29 (93,5)	1,33 (0,27 – 6,47)	
Ung thư biểu mô tuyến có thành phần tế bào nhẵn	0 (0,0)	4 (100)	-		-	2 (50,0)	2 (50,0)	

Đặc điểm	Gen KRAS		OR (95%CI)	P	Gen BRAF		OR (95%CI)	P
	Có đột biến	Không đột biến			Có đột biến	Không đột biến		
Khác (cụ thể loại mô bệnh học)	1 (50,0)	1 (50,0)	1,06 90,07 – 17,47)	0,963	0 (0,0)	2 (100)	-	-
<b>Vị trí khối u</b>								
Đại tràng góc lách	9 (40,9)	13 (59,1)	1		1 (4,5)	21 (95,5)	1	
Đại tràng lên	11 (50,0)	11 (50,0)	1,44 (0,43 – 4,85)	0,549	5 (22,7)	17 (77,3)	6,17 (0,59 – 64,77)	0,082
Đại tràng ngang	11 (47,8)	12 (52,2)	1,32 (0,40 – 4,38)	0,644	3 (13,0)	20 (87,0)	3,15 (0,29 – 34,65)	0,322
Đại tràng góc gan	5 (41,7)	7 (58,3)	1,03 (0,24 – 4,39)	0,966	0 (0,0)	12 (100)	-	-
Đại tràng xuống	6 (46,2)	7 (53,8)	1,24 (0,30 – 5,04)	0,765	0 (0,0)	13 (100)	-	-
Đại tràng sigma	28 (51,9)	26 (48,2)	1,56 (0,56 – 4,29)	0,390	1 (1,9)	53 (98,1)	0,40 (0,02 – 6,81)	0,509
Trực tràng	36 (49,3)	37 (50,7)	1,41 (0,53 – 3,72)	0,491	3 (4,1)	70 (95,9)	0,90 (0,09 – 9,23)	0,929

Bảng 4 cho thấy có mối liên quan giữa giới tính và tình trạng đột biến gen *KRAS*, trong đó nữ giới có nguy cơ đột biến gen cao gấp 2,34 lần so với nam giới (OR = 2,34, 95%CI: 1,32 -

4,16). Khi xét về đột biến gen *BRAF* với các thể mô bệnh học, có thể thấy có mối liên quan giữa ung thư biểu mô có thành phần tế bào nhẵn và tình trạng đột biến gen *BRAF*.

**Bảng 5. Một số yếu tố liên quan đến tình trạng biểu hiện protein MMR ở người bệnh UT đại trực tràng**

Đặc điểm	Protein MMR		OR (95%CI)	p
	dMMR	pMMR		
<b>Tuổi</b>				
≤ 60	20 (24,4)	62 (75,6)	1	0,003
> 60	13 (9,5)	124 (90,5)	<b>0,33 (0,15 – 0,71)</b>	



Đặc điểm	Protein MMR		OR (95%CI)	p
	dMMR	pMMR		
<b>Giới</b>				
Nam	15 (18,1)	68 (81,9)	1	0,333
Nữ	18 (13,2)	118 (86,8)	1,45 (0,68 – 3,06)	
<b>Tiền sử gia đình liên quan đến Hội chứng Lynch</b>				
Không	15 (9,0)	151 (91,0)	1	<b>0,000</b>
Có	18 (34,0)	35 (66,0)	<b>5,18 (2,29 – 11,72)</b>	
<b>Thể mô bệnh học</b>				
Ung thư biểu mô tuyến	20 (11,0)	162 (89,0)	1	0,002
Ung thư biểu mô tuyến có thành phần chế nhày	10 (32,3)	21 (67,7)	3,86 (1,56 – 9,57)	
Ung thư biểu mô tuyến có thành phần tế bào nhẵn	1 (25,0)	3 (75,0)	2,70 (0,26 – 27,51)	
Khác (cụ thể loại mô bệnh học)	2 (100)	0 (0,0)	-	
<b>Vị trí khối u</b>				
Đại tràng góc lách	4 (18,2)	18 (81,8)	1	0,712
Đại tràng lên	5 (22,7)	17 (77,3)	1,32 (0,30 – 5,88)	
Đại tràng ngang	3 (13,0)	20 (87,0)	0,68 (0,13 – 3,51)	
Đại tràng góc gan	3 (25,0)	9 (75,0)	1,50 (0,27 – 8,45)	
Đại tràng xuống	4 (30,8)	9 (69,2)	2,00 (0,39 – 10,32)	
Đại tràng sigma	11 (20,4)	43 (79,6)	1,15 (0,32 – 4,13)	
Trực tràng	3 (4,1)	70 (95,6)	<b>0,19 (0,04 – 0,99)</b>	

Kết quả trình bày ở bảng 5 cho thấy mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa tình trạng mất biểu hiện protein MMR (dMMR) và nhóm tuổi dưới 60 tuổi, có tiền sử gia đình liên quan Hội chứng Lynch, thể mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến có thành phần chế nhày và vị trí u ở trực tràng.

#### IV. BÀN LUẬN

Các báo cáo trên thế giới và của Việt Nam

cho thấy tần suất xuất hiện đột biến gen *KRAS* dao động trong khoảng từ 30 - 45%.<sup>6,7</sup> Các vị trí đột biến thường gặp ở codon 12 và 13.<sup>8</sup> Kết quả của chúng tôi hoàn toàn phù hợp với các báo cáo trên. Nghiên cứu cũng cho thấy có mối liên quan giữa giới tính và tình trạng đột biến gen *KRAS*, trong đó nữ giới có nguy cơ đột biến gen cao gấp 2,34 lần so với nam giới (OR = 2,34, 95% CI: 1,32 - 4,16). Carlos và CS cũng cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về

tình trạng đột biến gen *KRAS* giữa nữ và nam (34,8% so với 32,5%,  $p = 0,03$ ).<sup>9</sup>

Tỷ lệ đột biến gen *BRAF* trong nghiên cứu là 5,9% phù hợp với nhiều nghiên cứu trong và ngoài nước. Khi xét về đột biến gen *BRAF* với các thể mô bệnh học, có thể thấy dường như có mối liên quan giữa ung thư biểu mô có thành phần tế bào nhẵn và tình trạng đột biến gen *BRAF* tuy nhiên do cỡ mẫu còn hạn chế nên cần thêm các nghiên cứu sâu hơn về mối liên quan giữa đột biến gen *BRAF* và thể bệnh này. Nhiều nghiên cứu đã báo cáo rằng người bệnh mang đột biến gen *BRAF* thường có tiên lượng xấu hơn các trường hợp không có đột biến khi có số lượng tạng di căn lớn và u kém biệt hóa.<sup>10</sup>

Sàng lọc MMR/xét nghiệm MSI có ý nghĩa lâm sàng trong việc chẩn đoán hội chứng ung thư đại trực tràng di truyền, lựa chọn phác đồ điều trị ở ung thư đại trực tràng giai đoạn II/III và chỉ định liệu pháp miễn dịch ở giai đoạn di căn.<sup>11</sup> Tỷ lệ người bệnh dMMR trong nghiên cứu của chúng tôi là 15,1%, tương tự trong nghiên cứu của Vũ Thị Thu Hảo (12,4%), Yan Li (13,8%) và C Richard Boland (15%).<sup>12-14</sup> Trong số người bệnh mang tình trạng dMMR, tỷ lệ người bệnh mất biểu hiện protein MLH1 là 9,1%, MSH2 là 3,0%, MSH6 là 3,0%, PMS2 là 21,2%, MLH1 và PMS2 là 45,4%, MSH2 và MSH6 là 18,2%. Trong nghiên cứu của Vũ Thị Thu Hảo, hay gặp nhất là người bệnh mất biểu hiện đồng thời MLH1 và PMS2 (53,8%), tiếp theo là mất biểu hiện đồng thời MSH2 và MSH6 (30,8%), mất biểu hiện PMS2 chiếm tỷ lệ thấp nhất là 15,4%, và không gặp các mất biểu hiện MLH1, MSH2, MSH6 đơn lẻ. Sự khác biệt này có thể do sự khác biệt về cỡ mẫu nghiên cứu, nghiên cứu của chúng tôi với cỡ mẫu lớn hơn nên đã tìm được người bệnh mất biểu hiện MLH1, MSH2, MSH6 đơn lẻ.

Đây là một trong những nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam sử dụng kỹ thuật giải trình

tự gen thế hệ mới để phân tích các đột biến gen *MMR*. Nghiên cứu phát hiện 04 biến thể trên gen *MLH1*, 01 biến thể trên gen *MSH2*, 02 biến thể trên gen *PMS2* và 01 biến thể trên gen *EPCAM*. Trong số 4 người bệnh có đột biến gen *MLH1*, 3 người bệnh mất đồng thời các protein MLH1 và PMS2, 1 người bệnh chỉ mất protein PMS2. MLH1 và PMS2 tạo thành các phức hợp chức năng với nhau, vì vậy sự mất biểu hiện của MLH1 cũng sẽ dẫn đến mất biểu hiện của protein PMS2. Kết quả cho thấy một người bệnh có đột biến trên gen *MSH2* gây ra sự mất đồng thời các protein MSH2 và MSH6, và hai người bệnh có đột biến trên gen *PMS2* gây ra mất protein PMS2 tương ứng. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây cho thấy mất biểu hiện protein MSH2 thường đi kèm với mất protein MSH6 và mất protein PMS2 có thể xảy ra đơn lẻ. Một người bệnh mất biểu hiện protein MSH6 và có đột biến trên gen *EPCAM* và đây là trường hợp mang đột biến dòng mầm trên gen *EPCAM* đầu tiên được báo cáo trên người Việt Nam. Có rất ít nghiên cứu so sánh sự tương đồng giữa mất biểu hiện protein MMR và các biến thể gen tương ứng, tuy nhiên, cần xem xét độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm hóa mô miễn dịch cũng như kỹ thuật và kinh nghiệm trong việc phân tích kết quả, và những hạn chế của các phương pháp giải trình tự trong việc phát hiện các đột biến, do vậy, cần nghiên cứu thêm để làm rõ vấn đề này. Các biến thể gen không phải lúc nào cũng liên quan đến sự mất biểu hiện protein của gen đó và ngược lại, vì vậy cần chỉ định một bảng gen phù hợp trong trường hợp nghi ngờ hội chứng ung thư đại trực tràng di truyền để tránh bỏ sót các gen liên quan.

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa tình trạng mất biểu hiện protein MMR (dMMR) và nhóm tuổi dưới 60 tuổi, có tiền sử gia đình liên quan Hội

chứng Lynch, thể mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến có thành phần chế nhày và vị trí u ở trực tràng. Nhiều công trình trong nước cũng như trên thế giới đã chứng minh rằng tình trạng MSI (dMMR) thường gặp ở UTBM tuyến có thành phần chế nhày hơn.<sup>12,15</sup>

## V. KẾT LUẬN

Tỉ lệ đột biến gen *KRAS*, *BRAF* lần lượt là 47,9% và 5,9%; tỉ lệ mất biểu hiện protein MMR là 15,1% và phát hiện 08 biến thể trên gen *MMR* gây hội chứng Lynch.

Có mối liên quan giữa giới tính và tình trạng đột biến gen *KRAS*, trong đó nữ giới có nguy cơ đột biến gen cao gấp 2,34 lần so với nam giới; có mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa tình trạng mất biểu hiện protein MMR (dMMR) và nhóm tuổi dưới 60 tuổi, có tiền sử gia đình liên quan Hội chứng Lynch, thể mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến có thành phần chế nhày và vị trí u ở trực tràng.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sokolenko AP, Imyanitov EN, et al. Molecular diagnostics in clinical oncology. *Front Mol Biosci*. 2018; 5: 76.
2. Garcia-Carbonero N, Martinez-Useros J, et al. KRAS and BRAF mutations as prognostic and predictive biomarkers for standard chemotherapy response in metastatic colorectal cancer: A single institutional study. *Cells*. 2020; 9(1): 219.
3. Bộ Y tế. Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị ung thư đại trực tràng. 2018.
4. Leclerc J, Vermaut C, Buisine MP. Diagnosis of Lynch Syndrome and Strategies to Distinguish Lynch-Related Tumors from Sporadic MSI/dMMR Tumors. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(3): 467. Published 2021 Jan 26. doi:10.3390/cancers13030467.
5. Jelski W, Mroczko B. Biochemical Markers

of Colorectal Cancer – Present and Future. *Cancer Manag Res*. 2020; 12: 4789-4797.

6. Dinu D, Dobre M, Panaitescu E, et al. Prognostic significance of *KRAS* gene mutations in colorectal cancer--preliminary study. *J Med Life*. 2014; 7(4): 581-587.

7. Trọng Hòa N, Lê Huy T. Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* và một số đặc điểm bệnh học ung thư biểu mô đại trực tràng giai đoạn di căn. *VMJ*. 2021; 506(1).

8. Ngô Thị Hoài, Mai Hồng Bằng, Lê Hữu Song và CS. Đặc điểm giải phẫu bệnh và một số yếu tố liên quan đến đột biến *KRAS*, *BRAF* ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng. *Tạp chí Y dược lâm sàng 108*. 2022; 4(17): 112-119.

9. Carlos G. M. Ferreira et al. Frequency of *KRAS* mutations in female colorectal cancer (CRC) patients: Findings of a Brazilian cohort of 8,234 cases. *JCO*. 2012. 30, e14101-e14101.

10. Gong J, Cho M, Fakhri M. RAS and BRAF in metastatic colorectal cancer management. *J Gastrointest Oncol*. 2016; 7(5): 687-704.

11. Ioana M, Angelescu C, Burada F, et al. MMR gene expression pattern in sporadic colorectal cancer. *J Gastrointest Liver Dis*. 2010; 19(2): 155-159.

12. Vũ Thị Thu Hảo, Phạm Văn Tuyển, Trần Văn Chương và CS. Nghiên cứu tình trạng bộc lộ protein MMR ở bệnh nhân ung thư biểu mô đại trực tràng tại Bệnh viện Bạch Mai. *Vietnam Medical Journal*. 2023; 553(1B): 256-259.

13. Li Y, Fan L, Zheng J, et al. Lynch syndrome pre-screening and comprehensive characterization in a multi-center large cohort of Chinese patients with colorectal cancer. *Cancer Biol Med*. 2022; 19(8): 1235-1248. doi:10.20892/j.issn.2095-3941.2021.0585.

14. Boland CR, Goel A. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology*.

2010; 138(6): 2073-2087.e3. doi:10.1053/j.gastro.2009.12.064.

15. Liang Y, Cai X, Zheng X, Yin H. Analysis of the Clinicopathological Characteristics of

Stage I-III Colorectal Cancer Patients Deficient in Mismatch Repair Proteins. *Onco Targets Ther.* 2021; 14:2203-2212. doi:10.2147/OTT.S278029.

## Summary

# CHARACTERISTICS OF KRAS AND BRAF GENES, MMR PROTEIN EXPRESSION STATUS, AND MMR GENES IN COLORECTAL CANCER PATIENTS

This study describes the characteristics and variants of KRAS and BRAF genes, as well as the status of MMR protein expression and MMR genes in Vietnamese patients with colorectal cancer. The patients were diagnosed with colorectal cancer at the Nuclear Medicine and Oncology Center, Bach Mai Hospital, from January 2022 to June 2023. The study employed a descriptive, retrospective, and prospective combined method with a whole-sample approach. In the study of 219 colorectal cancer cases, we observed KRAS and BRAF mutation rates of 47.9% and 5.9%, respectively; MMR protein loss rates of 15.1%; and identified 8 variants in the MMR genes associated with Lynch syndrome. The study found a significant association between gender and KRAS gene mutations, with females having a 2.34-fold higher risk of KRAS mutations compared to males. There was also a statistically significant association between the loss of MMR protein expression (dMMR) and age under 60, a family history of Lynch syndrome, mucinous adenocarcinoma histology, and rectal tumor location.

**Keywords:** *KRAS gene, BRAF gene, MMR protein, MMR gene, Lynch Syndrome.*