

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



LÊ NGUYỄN TRỌNG NHÂN

**NGHIÊN CỨU TÍNH ĐA HÌNH THÁI ĐƠN  
NUCLEOTID (SNP) VÀ ĐỘT BIẾN MỘT SỐ GEN  
TRONG UNG THƯ BUỒNG TRỨNG**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2022

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



LÊ NGUYỄN TRỌNG NHÂN

**NGHIÊN CỨU TÍNH ĐA HÌNH THÁI ĐƠN  
NUCLEOTID (SNP) VÀ ĐỘT BIẾN MỘT SỐ GEN  
TRONG UNG THƯ BUỒNG TRỨNG**

Chuyên ngành : Sản phụ khoa

Mã số : 9720105

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC**

Người hướng dẫn khoa học:

**GS.TS. NGUYỄN VIỆT TIẾN**

**HÀ NỘI - 2022**

## LỜI CẢM ƠN

Trong suốt quá trình thực hiện đề tài này tôi đã nhận được rất nhiều sự giúp đỡ của Lãnh đạo cơ quan, các đơn vị, Thầy Cô, đồng nghiệp, các bệnh nhân, bạn bè và gia đình thân yêu của mình.

Trước hết, tôi xin bày tỏ lòng tri ân sâu sắc tới GS.TS. Nguyễn Viết Tiên, người thầy hướng dẫn khoa học, tận tình giúp đỡ tôi trong quá trình học tập, trực tiếp hướng dẫn tôi thực hiện nghiên cứu, góp ý và sửa chữa luận án.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới GS.TS. Tạ Thành Văn, Chủ tịch Hội đồng Trường Đại học Y Hà Nội, Giám đốc Trung tâm Gen - Protein đã tận tình truyền đạt kiến thức và những kinh nghiệm quý báu đồng thời tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi thực hiện đề tài và hoàn thành luận án.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành đến những thầy cô, đồng nghiệp, những người đã tạo mọi điều kiện, giúp đỡ tôi trong quá trình thực hiện luận án:

- Ban Giám Hiệu, Phòng Đào tạo Sau Đại Học - Trường Đại học Y Hà Nội.
- PGS.TS. Trần Danh Cường - Trưởng Bộ môn Phụ Sản cùng toàn thể các thầy cô, cán bộ trong Bộ môn Phụ Sản - Trường Đại học Y Hà Nội.
- PGS.TS. Vũ Bá Quyết, Nguyên Giám đốc Bệnh viện Phụ Sản Trung Ương, toàn thể các bác sỹ, điều dưỡng Khoa Phụ ung thư và Khoa Huyết học tạo điều kiện và hỗ trợ nhiệt tình cho tôi thực hiện đề tài tại Bệnh viện.
- PGS.TS. Trần Văn Khánh, Phó giám đốc Trung tâm Gen & Protein cùng toàn thể các cán bộ, các nghiên cứu viên của Trung tâm đã nhiệt tình hướng dẫn, giúp đỡ tôi thực hiện đề tài tại Trung tâm.

Xin gửi lời cảm ơn đến các bệnh nhân cùng gia đình của họ đã đồng ý tham gia vào đề tài nghiên cứu giúp tôi có được các số liệu trong luận án này.

Xin cảm ơn các lãnh đạo và đồng nghiệp Bệnh viện Sản-Nhi Cà Mau nơi tôi công tác đã tạo điều kiện, giúp đỡ tôi trong quá trình học tập, nghiên cứu.

Cuối cùng, tôi xin cảm ơn tình yêu thương của cha mẹ tôi, cha mẹ vợ, vợ tôi và hai con, những người luôn ở bên cạnh ủng hộ, động viên, là chỗ dựa vững chắc để tôi yên tâm học tập và hoàn thành luận án.

*Hà Nội, ngày 01 tháng 3 năm 2022*

**Lê Nguyễn Trọng Nhân**

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi là **Lê Nguyễn Trọng Nhân**, nghiên cứu sinh khóa 35, Trường Đại học Y Hà Nội, chuyên ngành Sản Phụ khoa, xin cam đoan:

1. Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của Thầy GS.TS. Nguyễn Việt Tiến
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.
3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về những cam kết này.

*Hà Nội, ngày 01 tháng 3 năm 2022*

**Lê Nguyễn Trọng Nhân**

## DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

<b>Viết tắt</b>	<b>Tiếng Anh</b>	<b>Tiếng Việt</b>
ĐB		Đột biến
UT		Ung thư
UTBT		Ung thư buồng trứng
CI	Confidence interval	Khoảng tin cậy 95%
DSB	Double Strand Break	Đứt gãy DNA sợi đôi
FIGO	International Federation of Gynecology and Obstetrics	Hiệp hội Sản Phụ khoa quốc tế
HR	Homologous Recombination	Tái tổ hợp tương đồng
IOTA	International Ovarian Tumor Analysis	Hệ thống phân tích u buồng trứng quốc tế
NHEJ	Non-Homologous End-Joining	Kết hợp đầu tận không tương đồng
NMD	Nonsense-mediated mRNA decay	phân rã mRNA vô nghĩa-gián tiếp
OR	Odd ratio	Tỉ số odd
PCR	Polymerase Chain Reaction	Phản ứng chuỗi polymerase
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism	Đa hình chiều dài đoạn cắt giới hạn
RHR	Rate of hazard ratio	Tỉ số của tỉ số hazard
SNP	Single Nucleotide Polymorphism	Đa hình đơn nucleotide
UTR	UnTranslated Region	Vùng không mã hóa

## MỤC LỤC

<b>ĐẶT VẤN ĐỀ .....</b>	<b>1</b>
<b>CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN .....</b>	<b>3</b>
1.1. Ung thư buồng trứng .....	3
1.1.1. Dịch tễ .....	3
1.1.2. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh UTBT.....	5
1.1.3. Yếu tố nguy cơ .....	6
1.1.4. Chẩn đoán .....	8
1.1.5. Điều trị .....	12
1.1.6. Tiên lượng .....	13
1.2. Đột biến gen <i>BRCA1/2</i> liên quan đến UTBT.....	14
1.2.1. Hội chứng ung thư vú – buồng trứng di truyền .....	14
1.2.2. Gen <i>BRCA1</i> .....	14
1.2.3. Gen <i>BRCA2</i> .....	18
1.2.4. Tỷ lệ đột biến <i>BRCA1/2</i> .....	19
1.2.5 Nguy cơ mắc ung thư .....	22
1.3. Đa hình đơn nucleotide <i>RAD51, XRCC3</i> liên quan đến UTBT.....	29
1.3.1. Đa hình đơn nucleotide .....	29
1.3.2 Đa hình đơn nucleotide một số gen liên quan đến UTBT .....	29
1.3.3. Đa hình đơn nucleotide gen <i>RAD51</i> liên quan đến UTBT .....	32
1.3.4. Đa hình đơn nucleotide gen <i>XRCC3</i> liên quan đến UTBT .....	33
1.4. Tình hình nghiên cứu trong nước và ngoài nước.....	35
1.4.1. Tình hình nghiên cứu ngoài nước .....	35
1.4.2. Tình hình nghiên cứu trong nước.....	37
<b>CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>39</b>
2.1. Đối tượng nghiên cứu .....	39
2.2. Phương pháp nghiên cứu .....	40

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu.....	40
2.2.2. Các chỉ số nghiên cứu .....	41
2.2.3. Dụng cụ, trang thiết bị, hóa chất .....	42
2.2.4. Quy trình nghiên cứu .....	43
2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu .....	52
2.4. Xử lý số liệu.....	52
2.5. Đạo đức trong nghiên cứu của đề tài .....	53
2.6. Kinh phí thực hiện đề tài.....	53
<b>CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ.....</b>	<b>54</b>
3.1. Xác định đột biến gen <i>BRCA1</i> và <i>BRCA2</i> ở bệnh nhân UTBT .....	54
3.1.1. Đặc điểm chung của các bệnh nhân được xác định ĐB <i>BRCA1/2</i> .	54
3.1.2. Kết quả xác định ĐB gen <i>BRCA1</i> và <i>BRCA2</i> .....	56
3.1.3. Mối liên quan giữa đột biến <i>BRCA1/2</i> và mô bệnh học .....	63
3.1.4. Xác định ĐB <i>BRCA1/2</i> ở người thân các bệnh nhân và lập phả hệ .....	65
3.2. Xác định các SNP <i>RAD51</i> , <i>XRCC3</i> và mối liên quan với UTBT.....	71
3.2.1. Đặc điểm chung và lâm sàng nhóm UTBT và nhóm chứng.....	71
3.2.2. Xác định SNP <i>RAD51</i> -rs1801320 và mối liên quan với UTBT ....	73
3.2.3. Xác định SNP <i>RAD51</i> -rs1801321 và mối liên quan với UTBT ....	77
3.2.4. Xác định SNP <i>XRCC3</i> -rs861539 và mối liên quan với UTBT.....	81
3.2.5. Xác định SNP <i>XRCC3</i> -rs1799794 và mối liên quan với UTBT....	85
3.2.6. Xác định SNP <i>XRCC3</i> -rs1799796 và mối liên quan với UTBT....	89
<b>CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN .....</b>	<b>93</b>
4.1. Xác định đột biến gen <i>BRCA1</i> và <i>BRCA2</i> ở bệnh nhân UTBT .....	93
4.1.1. Đặc điểm chung của các bệnh nhân được xác định ĐB <i>BRCA1/2</i> .	95
4.1.2. Kết quả xác định ĐB gen <i>BRCA1/2</i> .....	96
4.1.3. Mối liên quan giữa đột biến <i>BRCA1/2</i> và mô bệnh học .....	111

4.1.4. Xác định ĐB <i>BRCA1/2</i> ở người thân các bệnh nhân và lập phả hệ ...	113
4.2. Xác định các SNP <i>XRCC3</i> , <i>RAD51</i> và mối liên quan với UTBT.....	122
4.2.1. Đặc điểm chung và lâm sàng nhóm UTBT và nhóm chứng.....	122
4.2.2. Xác định SNP <i>RAD51</i> -rs1801320 và mối liên quan với UTBT ..	123
4.2.3. Xác định SNP <i>RAD51</i> -rs1801321 và mối liên quan với UTBT ..	125
4.2.4. Xác định SNP <i>XRCC3</i> -rs861539 và mối liên quan với UTBT....	128
4.2.5 Xác định SNP <i>XRCC3</i> -rs1799794 và mối liên quan với UTBT...	130
4.2.6 Xác định SNP <i>XRCC3</i> -rs1799796 và mối liên quan với UTBT...	132
<b>KẾT LUẬN</b> .....	<b>136</b>
<b>KHUYẾN NGHỊ</b> .....	<b>138</b>
<b>CÁC CÔNG TRÌNH LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN</b>	
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b>	
<b>PHỤ LỤC</b>	



## DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1	Phân loại giai đoạn theo TNM và FIGO.....	11
Bảng 1.2.	Tỉ lệ đột biến <i>BRCA1/2</i> ở bệnh nhân UTBT các cộng đồng .....	20
Bảng 1.3.	Các đột biến “người sáng lập” gen <i>BRCA1/2</i> tìm thấy ở các quần thể.....	21
Bảng 1.4.	Nguy cơ mắc UT ở những người mang đột biến gen <i>BRCA1/2</i> ....	22
Bảng 1.5.	Vị trí và loại đột biến liên quan nguy cơ UT vú, UTBT .....	27
Bảng 1.6.	Nguy cơ mắc UTBT và UT vú liên quan đến vị trí gắn đặc biệt...	28
Bảng 2.1.	Các biến số nghiên cứu .....	41
Bảng 2.2.	Thành phần phản ứng PCR.....	46
Bảng 2.3.	Trình tự môi cho phản ứng khuếch đại đoạn gen <i>BRCA1</i> và <i>BRCA2</i> mang các đột biến đã được xác định bằng giải trình tự gen thế hệ mới.....	47
Bảng 2.4.	Trình tự môi cho phản ứng khuếch đại gen <i>XRCC3</i> và <i>RAD51</i> chứa các đa hình đơn nucleotid .....	48
Bảng 2.5.	Thành phần PCR giải trình tự gen .....	49
Bảng 2.6.	Thành phần phản ứng RFLP .....	50
Bảng 2.7	Điều kiện phản ứng enzyme cắt giới hạn .....	50
Bảng 3.1.	Tuổi mắc UTBT của các bệnh nhân xác định ĐB <i>BRCA1/2</i> .....	54
Bảng 3.2.	Đặc điểm hội chứng UT vú và UTBT di truyền (HBOC).....	55
Bảng 3.3.	Đột biến gen <i>BRCA1</i> và <i>BRCA2</i> ở các bệnh nhân UTBT. ....	56
Bảng 3.4.	Đặc điểm mô bệnh học và mối liên quan với ĐB <i>BRCA1/2</i> .....	63
Bảng 3.5	Mối liên quan giữa kiểu đột biến với mô bệnh học.....	64
Bảng 3.6.	Các đặc điểm chung của nhóm UTBT và nhóm chứng.....	71
Bảng 3.7.	Tỉ lệ kiểu gen/ alen SNP <i>RAD51</i> -rs1801320 và mối liên quan với nguy cơ mắc UTBT .....	75
Bảng 3.8.	Mối liên quan giữa SNP rs1801320 với giai đoạn và mô bệnh học..	76

Bảng 3.9.	Tỉ lệ kiểu gen/alen SNP RAD51-rs1801321 và mối liên quan với nguy cơ mắc UTBT .....	78
Bảng 3.10.	Mối liên quan giữa SNP rs1801321 với giai đoạn và mô bệnh học..	80
Bảng 3.11.	Tỉ lệ kiểu gen/alen SNP XRCC3-rs861539 và mối liên quan với nguy cơ UTBT.....	82
Bảng 3.12.	Mối liên quan giữa SNP rs861539 với giai đoạn và mô bệnh học ..	84
Bảng 3.13.	Tỉ lệ kiểu gen/alen SNP XRCC3-rs1799794 và mối liên quan với nguy cơ UTBT .....	86
Bảng 3.14.	Mối liên quan giữa SNP rs1799794 với giai đoạn và mô bệnh học	88
Bảng 3.15.	Tỉ lệ kiểu gen/alen SNP XRCC3-rs1799796 và mối liên quan với nguy cơ UTBT .....	89
Bảng 3.16.	Mối liên quan giữa SNP rs1799796 với giai đoạn và mô bệnh học	92
Bảng 4.1.	Tỉ lệ ĐB ở gen <i>BRCA1/2</i> (không phải Do thái Ashkenazi).....	94
Bảng 4.2.	Hướng dẫn dự phòng cho người mang ĐB <i>BRCA1/2</i> của NCCN...	116
Bảng 4.3.	Ước tính nguy cơ UT vú và UTBT của KBT2.3 bằng CanRisk Tool ..	118
Bảng 4.4.	Ước tính các khả năng các kết cục của KBT2.3.....	120

## DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 1.1.	Tỉ lệ mắc UT và tử vong do UT của phụ nữ thế giới và Việt Nam... 3
Biểu đồ 1.2.	Xu hướng thay đổi tỉ lệ mắc mới và tỉ lệ tử vong của UTBT..... 4
Biểu đồ 1.3.	Xu hướng thay đổi tỉ lệ sống sót sau 5 năm của UTBT ..... 4
Biểu đồ 1.4.	Tỉ lệ đột biến <i>BRCA1</i> có ý nghĩa lâm sàng..... 16
Biểu đồ 1.5.	Các biến thể gen <i>BRCA1</i> và <i>BRCA2</i> phân loại theo chức năng .... 19
Biểu đồ 3.1.	Tỉ lệ mang đột biến gen <i>BRCA1/2</i> ..... 54
Biểu đồ 3.2.	Tỉ lệ phân loại mô bệnh học trong nhóm UTBT ..... 72
Biểu đồ 3.3.	Tỉ lệ các giai đoạn UTBT theo FIGO của nhóm UTBT..... 72
Biểu đồ 4.1.	Nguy cơ mắc UT vú (A) và UTBT (B) theo tuổi của KBT2.3 ... 118

## DANH MỤC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 2.1. Quy trình nghiên cứu mục tiêu xác định ĐB <i>BRCA1/2</i> .....	43
Sơ đồ 2.2. Quy trình nghiên cứu mục tiêu xác định các SNP RAD51, XRCC3 ...	44
Sơ đồ 3.1. Vị trí tương đối các ĐB được xác định trên gen <i>BRCA1</i> .....	57
Sơ đồ 3.2. Vị trí tương đối các ĐB được xác định trên gen <i>BRCA2</i> .....	58
Sơ đồ 3.3. Phả hệ di truyền ĐB <i>BRCA1</i> :c.1621C>T bệnh nhân KBT2.....	66
Sơ đồ 3.4. Phả hệ di truyền ĐB <i>BRCA1</i> :c.2760-2763delACAG KBT6.....	67
Sơ đồ 3.5. Phả hệ di truyền ĐB <i>BRCA1</i> : c.4986+4A>T bệnh nhân KBT4.....	69
Sơ đồ 3.6. Phả hệ di truyền ĐB <i>BRCA1</i> :c.4997dupA bệnh nhân KBT7.....	70

## DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1	Cấu trúc của protein <i>BRCA1</i> .....	15
Hình 1.2	Các chức năng của exon 11-13 <i>BRCA1</i> .....	16
Hình 1.3	Vai trò của protein <i>BRCA1</i> và <i>BRCA2</i> trong sửa chữa DNA. ....	17
Hình 1.4	Đặc điểm cấu trúc của protein <i>BRCA2</i> . ....	18
Hình 1.5	Tỉ số Hazard ratio của UT vú và UTBT theo vị trí ĐB trên <i>BRCA1</i> ...	25
Hình 1.6	Tỉ số Hazard ratio của UT vú và UTBT theo vị trí ĐB trên <i>BRCA2</i> ...	26
Hình 1.7	Hiện tượng đa hình đơn nucleotide.....	29
Hình 1.8	Cơ chế sửa chữa đứt gãy sợi đôi DNA bằng tái tổ hợp tương đồng..	30
Hình 1.9	Các protein họ <i>RAD51</i> .....	32
Hình 1.10	Vị trí các SNP trên gen và protein <i>RAD51</i> .....	33
Hình 1.11	Vị trí các SNP trên gen và protein <i>XRCC3</i> .....	34
Hình 3.1	Giải trình tự gen xác định ĐB <i>BRCA1</i> :c.1016delA.....	58
Hình 3.2	Giải trình tự gen xác định ĐB <i>BRCA1</i> :c.1621C>T .....	59
Hình 3.3	Giải trình tự gen xác định ĐB <i>BRCA1</i> :c.2760-2763delACAG....	59
Hình 3.4	Giải trình tự gen xác định ĐB <i>BRCA1</i> :c.4986+4A>T.....	60
Hình 3.5	Giải trình tự gen ĐB <i>BRCA1</i> :c.4997dupA .....	61
Hình 3.6	Giải trình tự gen xác định ĐB <i>BRCA1</i> :c.5335delC .....	61
Hình 3.7	Giải trình tự gen xác định ĐB <i>BRCA2</i> :c.4022delC .....	62
Hình 3.8	Giải trình tự gen xác định ĐB <i>BRCA2</i> :c.5453C>A.....	63
Hình 3.9	Giải trình tự gen xác định ĐB c.1621C>T ở KBT2 và người thân ...	65
Hình 3.10	Giải trình tự gen xác định ĐB ở KBT6 và người thân .....	66
Hình 3.11	Giải trình tự gen xác định ĐB c.4986A>T ở KBT4 và người thân.....	68
Hình 3.12	Giải trình tự gen xác định ĐB ở KBT7 và người thân .....	70
Hình 3.13	Kết quả điện di sản phẩm PCR chứa SNP <i>RAD51</i> -rs1801320 ....	73
Hình 3.14	Kết quả điện di sản phẩm cắt có SNP <i>RAD51</i> -rs1801320.....	73
Hình 3.15	Giải trình tự đại diện sản phẩm PCR chứa SNP <i>RAD51</i> -rs1801320. ...	74

Hình 3.16. Kết quả điện di sản phẩm PCR có SNP <i>RAD51</i> -rs1801321.....	76
Hình 3.17. Kết quả điện di sản phẩm cắt chứa SNP rs1801321.....	77
Hình 3.18. Giải trình tự đại diện sản phẩm PCR SNP <i>RAD51</i> -rs1801321 ....	78
Hình 3.19. Kết quả điện di sản phẩm PCR chứa SNP <i>XRCC3</i> -rs861539 .....	81
Hình 3.20. Kết quả điện di sản phẩm cắt chứa SNP <i>XRCC3</i> -rs861539 .....	82
Hình 3.21. Giải trình tự đại diện sản phẩm PCR chứa SNP <i>XRCC3</i> -rs861539 ....	82
Hình 3.22. Kết quả điện di sản phẩm PCR chứa SNP <i>XRCC3</i> -rs1799794 ....	85
Hình 3.23. Kết quả điện di sản phẩm cắt chứa SNP <i>XRCC3</i> -rs1799794 .....	85
Hình 3.24. Giải trình tự đại diện sản phẩm PCR chứa SNP <i>XRCC3</i> -rs1799794 ..	86
Hình 3.25. Kết quả điện di sản phẩm PCR chứa SNP <i>XRCC3</i> -rs1799796 ....	89
Hình 3.26. Kết quả điện di sản phẩm cắt chứa SNP <i>XRCC3</i> -rs1799796 .....	90
Hình 3.27. Giải trình tự đại diện sản phẩm PCR chứa SNP <i>XRCC3</i> -rs1799796 ..	90
Hình 4.1. Khả năng gây bệnh ĐB <i>BRCA1</i> :c.1621C>T trên In Silico Prior .	98
Hình 4.2. Điểm chức năng đột biến <i>BRCA1</i> :c.4986+4A>T .....	103
Hình 4.3. Khả năng gây bệnh ĐB <i>BRCA1</i> :c.4986+4A>T trên In Silico Prior ...	104
Hình 4.4. Điểm chức năng các ĐB <i>BRCA1</i> :c.4998C>A và c.4998C>G....	106
Hình 4.5. Khả năng gây bệnh của đột biến <i>BRCA1</i> :c.4998C>A và c.4998C>G trên In Silico Prior .....	107
Hình 4.6. Khả năng gây bệnh 02 đột ĐB <i>BRCA2</i> :c.4022C>A và c.4022C>G trên In Silico Prior .....	110
Hình 4.7. Khả năng gây bệnh của ĐB <i>BRCA2</i> :c.5453C>A trên In Silico Prior...	111
Hình 4.8. Nguy cơ mắc UT vú (A) và UTBT (B) đến 80 tuổi của KBT2.3 ...	119

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay tỉ lệ mắc và tử vong do các ung thư (UT) trên thế giới có xu hướng gia tăng nhanh chóng. GLOBOCAN ước tính năm 2020 có hơn 19 triệu ca UT mắc mới và gần 10 triệu ca tử vong do ung thư. Trong đó ung thư buồng trứng (UTBT) là một trong những ung thư phổ biến ở phụ nữ, chiếm 3,4% trong tổng số ca mắc và 4,7% số ca tử vong do ung thư ở phụ nữ.<sup>1</sup> Tại Việt Nam, ung thư buồng trứng phổ biến đứng hàng thứ ba trong các bệnh ung thư phụ khoa, năm 2020 có 1 400 ca mắc mới và 923 ca tử vong do ung thư buồng trứng.<sup>1</sup> Giai đoạn sớm, bệnh thường diễn biến âm thầm với triệu chứng không đặc hiệu hoặc không có triệu chứng nên thường bị bỏ sót, chẩn đoán muộn. Tuy nhiên nếu phát hiện và điều trị bệnh kịp thời ở giai đoạn sớm tiên lượng tốt hơn nhiều so với giai đoạn tiến triển. Thực tế là trên 70% ung thư buồng trứng không được chẩn đoán trước tiến triển đến giai đoạn III hoặc IV, và tỉ lệ sống sót sau 5 năm ở nhóm bệnh nhân này chỉ còn 48,6%.<sup>2</sup> Cho thấy việc chẩn đoán sớm hay tầm soát những đối tượng nguy cơ cao nhằm có những biện pháp dự phòng và điều trị sớm là hết sức có ý nghĩa.

Hầu hết ung thư buồng trứng phát triển tự nhiên, chỉ khoảng 10% trường hợp có liên quan đến yếu tố di truyền.<sup>3</sup> Đa số những trường hợp này có liên quan đến Hội chứng ung thư vú – buồng trứng di truyền (HBOC) do đột biến (ĐB) hai gen áp chế ung thư *BRCA1* và *BRCA2*, dẫn tới giảm khả năng sửa chữa DNA. Nguy cơ mắc ung thư buồng trứng trong cả cuộc đời người phụ nữ là 1,22% nhưng tỉ lệ này tăng lên tới 27-63% ở những bệnh nhân mang đột biến *BRCA1/2*.<sup>2,4</sup> Ngoài ra, người mang đột biến gen *BRCA1/2* còn tăng nguy cơ mắc ung thư khác như ung thư vú, tuyến tiền liệt, tụy ... Thành viên của những gia đình có nguy cơ cao nên được tư vấn và xét nghiệm di truyền để cá thể hóa tiếp cận với các phương pháp sàng lọc, chẩn đoán, dự phòng và điều trị kịp thời.

Bên cạnh việc phân tích các đột biến gen, những nghiên cứu trên thế giới về đa hình đơn nucleotide (SNP) của các gen sửa chữa tổn thương DNA như *RAD51* và *XRCC3* cho thấy rằng tuy bản thân SNP không gây bệnh nhưng một số SNP lại có liên quan đến sự nhạy cảm với một số bệnh lý nhất định. Điều đó cho phép các nhà khoa học đánh giá được khuynh hướng di truyền của một cá thể, đánh giá được các loại bệnh lý mà cá thể đó dễ mắc phải.<sup>5</sup> Một số nghiên cứu trên thế giới đã chứng minh sự hiện diện của các SNP các gen *RAD51* và *XRCC3* có thể làm thay đổi biểu hiện của protein được mã hóa, do đó có thể ảnh hưởng tới chức năng sửa chữa DNA, từ đó liên quan đến sự tăng hoặc giảm nguy cơ ung thư trong đó có ung thư buồng trứng.<sup>6-10</sup> Các SNP liên quan tới ung thư buồng trứng được nghiên cứu nhiều là rs861539, rs1799794, rs1799796 của gen *XRCC3* và rs1801320, rs1801321 của gen *RAD51*, tuy nhiên kết quả nghiên cứu trên các bệnh nhân ở chủng tộc khác nhau lại cho các kết quả khác nhau. Việt Nam đã có các nghiên cứu về ung thư buồng trứng, tuy nhiên chủ yếu tập trung đi sâu phân tích các triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng, điều trị mà gần như chưa có các công trình nghiên cứu toàn diện nào về đột biến và đa hình đơn nucleotid các gen liên quan với nguy cơ mắc ung thư buồng trứng.

Để góp phần hiểu rõ hơn về mối liên quan giữa các dạng đột biến hai gen *BRCA1*, *BRCA2*, đa hình thái đơn nucleotid (SNP) trên hai gen *RAD51*, *XRCC3* với nguy cơ ung thư buồng trứng, đề tài “**Nghiên cứu tính đa hình thái đơn nucleotid (SNP) và đột biến một số gen trong ung thư buồng trứng**” được tiến hành với các mục tiêu:

1. Xác định đột biến gen *BRCA1*, *BRCA2* ở bệnh nhân ung thư buồng trứng và mối liên quan với mô bệnh học.
2. Xác định một số dạng đa hình thái đơn nucleotid (SNP) trên gen *XRCC3*, *RAD51* có liên quan đến nguy cơ mắc ung thư buồng trứng.

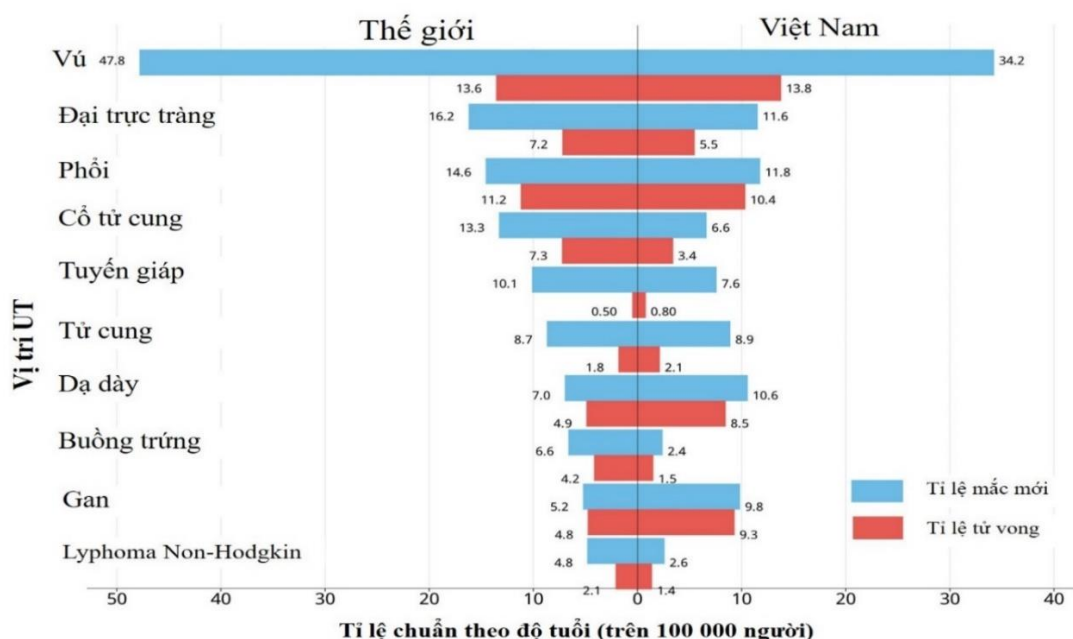


## CHƯƠNG 1 TỔNG QUAN

### 1.1. Ung thư buồng trứng

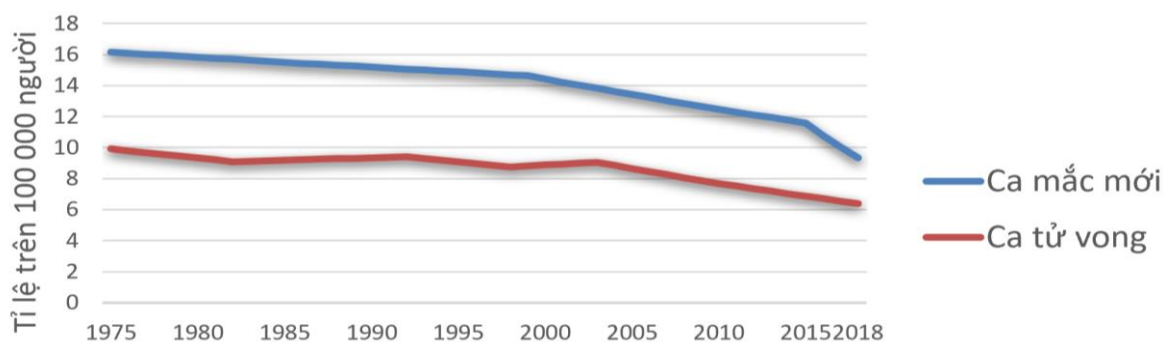
#### 1.1.1. Dịch tễ

Ung thư buồng trứng (UTBT) năm 2020 theo GLOBOCAN có 313 959 ca mắc mới đứng thứ 3 trong các UT phụ khoa, và là nguyên nhân chính của hơn 200 nghìn ca tử vong, đứng thứ 2 trong các UT phụ khoa.<sup>1</sup> Việt Nam năm 2020 ước tính có 1 404 ca UTBT mắc mới và 923 ca tử vong do UTBT.<sup>1</sup> Tỷ lệ mắc UTBT chuẩn theo tuổi (ASR) là 6,6 trên 100 000 người, và tỉ lệ tử vong chuẩn theo tuổi do UTBT là 4,2 trên 100 000 ca (Biểu đồ 1.1).<sup>1</sup> Tỷ lệ mắc UTBT cao nhất là ở Châu Âu 9,0 và Bắc Mỹ 8,1. Mặc dù Trung quốc và Ấn độ có tỉ lệ này tương đối thấp, chỉ 5,3 và 6,7, nhưng do dân số rất lớn nên hai nước này dẫn đầu về ước tính số ca mắc mới trong năm 2020 lần lượt là 55 342 và 45 701 ca. Dẫn đầu về tỉ lệ mắc UTBT là Brunei 17,4 và Samoa 15,9.



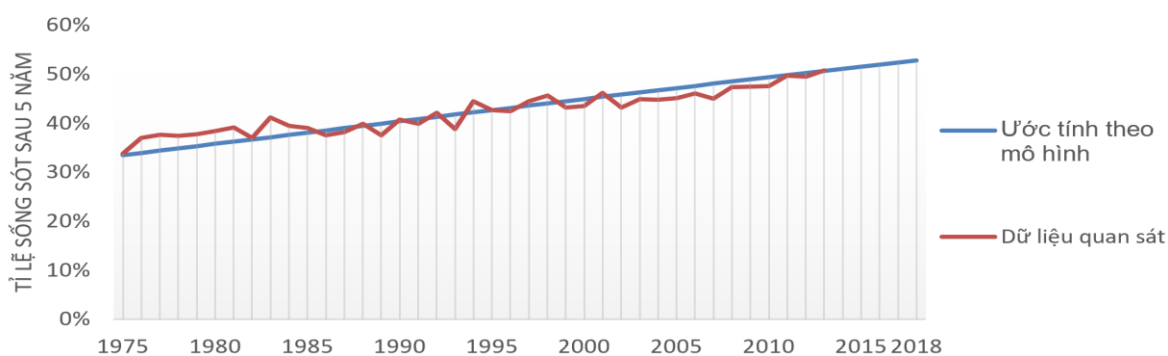
**Biểu đồ 1.1 Tỷ lệ mắc UT và tử vong do UT của phụ nữ thế giới và Việt Nam**

Trong khi đó Việt Nam nằm trong các nước có tỉ lệ mắc UTBT thấp nhất, theo GLOBOCAN 2020 là 2,4 trên 100 000 người, và tỉ lệ tử vong do UTBT là 1,5 trên 100 000 ca tử vong.<sup>1</sup>



**Biểu đồ 1.2 Xu hướng thay đổi tỉ lệ mắc mới và tỉ lệ tử vong của UTBT**

Ước tính năm 2020 nguy cơ mắc UTBT tích lũy đến 74 tuổi của phụ nữ trên thế giới là 0,73 và nguy cơ tử vong đến 74 tuổi là 0,49. Trong khi các nguy cơ này ở người Việt Nam thấp hơn nhiều, lần lượt là 0,25 và 0,17.<sup>1</sup> Theo dữ liệu SEER (Surveillance, Epidemiology, and End Results), nguy cơ UTBT trong suốt cuộc đời là 1,22% tương đương 1 trong 82 người. Nguy cơ khác nhau ở các sắc tộc, cao nhất ở phụ nữ da trắng và thấp nhất ở người châu Mỹ bản địa và vùng Alaska. Nguy cơ tử vong do UTBT ước tính là 0,86% tương đương 1/116.<sup>2</sup> Và các chỉ số này đang có xu hướng giảm dần (Biểu đồ 3.2).<sup>2</sup>



**Biểu đồ 1.3 Xu hướng thay đổi tỉ lệ sống sót sau 5 năm của UTBT**

Tỉ lệ sống sót sau 5 năm từ khi chẩn đoán là 48,6%, nhưng nếu chẩn đoán ở giai đoạn đầu tỉ lệ này rất cao đến 92,6%, tuy nhiên số bệnh nhân giai đoạn sớm chỉ chiếm 16%. Trong khi 58% bệnh nhân chẩn đoán ở giai đoạn muộn có tỉ lệ sống sau 5 năm chỉ 30,2%.<sup>2</sup> Nhưng tỉ lệ này đang có chiều hướng tăng dần nhờ cải thiện chất lượng điều trị và hiệu quả các phương pháp sàng lọc, dự phòng và chẩn đoán sớm (Biểu đồ 1.3).<sup>2</sup>

### ***1.1.2. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh UTBT***

Nguyên nhân của UTBT vẫn chưa được làm rõ. Về lý thuyết, bề mặt biểu mô của buồng trứng liên tục chịu quá trình tổn thương - rụng trứng và sửa chữa - làm sẹo, làm tăng khả năng phát sinh ĐB gen dẫn đến việc xuất hiện UT. Những giả thuyết khác còn cho rằng sự tăng nồng độ hormon trước và trong thời kỳ rụng trứng có thể kích thích sự phát triển của các tế bào bất thường.

Các UTBT bắt nguồn từ 3 loại tế bào: tế bào biểu mô, tế bào mầm và tế bào đệm-sinh dục. Các giả thiết chủ yếu tập trung vào UT biểu mô (hơn 90%). UT biểu mô có 5 nhóm chính: UT thanh dịch ác tính cao (70%), UT dạng lạc nội mạc tử cung (10%), UT tế bào sáng (10%), UT dịch nhầy (3%), UT thanh dịch ác tính thấp (<5%). Trong các loại UT này đều có những u xu hướng ác tính không chắc chắn như các u giáp biên có những đặc điểm tế bào ác tính, nhưng lại không có dấu hiệu xâm lấn mô nền xung quanh.<sup>11</sup>

Hầu hết các khối u mang đặc điểm nguồn gốc từ các mô của các cơ quan sinh dục nữ khác, phát triển ở buồng trứng như u thứ phát. Nhiều dữ liệu cho rằng UT thanh dịch độ ác tính cao và độ ác tính thấp bắt nguồn từ biểu mô vòi tử cung; UT tế bào sáng và UT dạng lạc nội mạc tử cung từ nang lạc nội mạc tử cung; và UT dịch nhầy từ ổ những tế bào chuyển tiếp tại điểm nối vòi tử cung-trung mô. Cả hai UT thanh dịch độ ác tính cao và thấp bắt nguồn từ biểu mô vòi tử cung mặc dù qua các đường riêng biệt. Các UT thanh dịch trong biểu mô vòi tử cung có hình thái và dấu ấn *TP53* như UTBT thanh dịch độ ác tính cao cho thấy khả năng tế bào UT bắt nguồn từ tổn thương vòi tử cung đổ vào buồng trứng, nơi chúng phát triển mạnh mẽ. UTBT thanh dịch ác tính thấp dường như phát triển từ u nang tuyến thành u giáp biên và sau đó là UT ác tính thấp. Các u nang tuyến buồng trứng nhưng có kiểu hình giống của vòi tử cung, cho thấy có khả năng từ biểu mô vòi tử cung chuyển sang. Tương tự như UT thanh dịch ác tính thấp, UT dịch nhầy, UT dạng nội mạc tử cung,

UT tế bào sáng cũng phát triển từ các u giáp biên (nhóm I). UT thanh dịch ác tính cao có kiểu hình ác tính hơn, và thiếu u tiền thân rõ ràng-nhóm II. Các UT nhóm I liên quan ĐB những gen gây UT *BRAF* và *KRAS* ở UT thanh dịch và dịch nhầy, và *PTEN* ở UT dạng nội mạc tử cung, trong khi UT nhóm II với chủ yếu (50-80%) ĐB gen *p53*.<sup>11</sup>

### ***1.1.3. Yếu tố nguy cơ***

❖ *Tiền sử bệnh tật.* Những phụ nữ mắc các bệnh UT như UT vú, UT tử cung, UT trực tràng, UT dạ dày đều có nguy cơ cao mắc UTBT. Mối liên quan giữa hội chứng buồng trứng đa nang và UTBT được một nghiên cứu bệnh chứng chứng minh với  $OR=2,5$ ,  $CI95\%=1,1-5,9$ .<sup>12</sup> Tuy nhiên dữ liệu còn chưa đủ để tuyên bố hội chứng này là yếu tố nguy cơ UTBT.<sup>13</sup> Lạc nội mạc tử cung mặc dù lành tính nhưng được ghi nhận có liên quan đến UTBT. Sayasneh (2011) báo cáo bệnh lý này làm tăng nguy cơ UTBT, với mức ảnh hưởng 1,3-1,9, và liên quan nhiều hơn đến UT dạng nội mạc tử cung, và UT tế bào sáng, nhất quán với giả thiết nguồn gốc của các UT này.<sup>14</sup> Một số nghiên cứu cỡ mẫu lớn báo cáo tiền sử viêm vùng chậu làm tăng nguy cơ u buồng trứng giáp biên mà không phải UTBT xâm lấn.<sup>15</sup> Một số thủ thuật, phẫu thuật phụ khoa ảnh hưởng đến nguy cơ UTBT. Đối với phụ nữ nguy cơ cao thì cắt buồng trứng-vòi tử cung 2 bên dự phòng giảm nguy cơ UTBT ít nhất 90%.<sup>16</sup> Nhiều nghiên cứu xác định nguy cơ UTBT giảm 30-40% sau cắt tử cung hoặc thắt vòi tử cung.<sup>17</sup> Tác dụng kéo dài sau đó ít nhất 10-15 năm.

❖ *Tiền sử gia đình và yếu tố di truyền.* Những người có 01 người thân mắc UTBT sẽ có nguy cơ UTBT cao gấp 2 đến 5 lần so với nguy cơ chung của cộng đồng. Khi có nhiều hơn một người thân UTBT thì nguy cơ ước tính là 3-23%.<sup>18,19</sup> Những phụ nữ có tiền sử gia đình UT vú, tử cung, đại tràng, hoặc trực tràng cũng tăng nguy cơ mắc UTBT. Khoảng 10% UTBT là di truyền, 90% trong số đó liên quan đến *BRCA1* và *BRCA2* thuộc Hội chứng

UT vú-UTBT di truyền (HBOC).<sup>20</sup> Hội chứng Lynch là một rối loạn di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường tăng nguy cơ UT đại trực tràng, và UT các cơ quan khác như UTBT.<sup>21</sup> Ngoài ra, các gen gây UT hay áp chế UT như *TP53*, *BARD1*, *CHEK2*, *RAD51*, *PALB2*... cũng liên quan đến nguy cơ UTBT.

❖ *Tiền sử sinh sản.* Tác dụng bảo vệ của việc mang thai và nuôi con bằng sữa mẹ đã được khẳng định. Nghiên cứu thuần tập ở Thụy Điển, cho thấy tăng số lần sinh làm giảm nguy cơ UTBT (OR cho mỗi lần sinh - 0,81, CI95%=0,77-0,85).<sup>22</sup> Kinh đầu sớm và mãn kinh muộn làm tăng nguy cơ ít, nên thời gian có kinh dài không đóng vai trò quan trọng trong cơ chế sinh UTBT.<sup>23</sup> Khó phân biệt vô sinh hay việc điều trị vô sinh làm tăng nguy cơ, có nghiên cứu cho rằng những nguyên nhân vô sinh, như lạc nội mạc tử cung, làm tăng nguy cơ hơn là do thuốc điều trị vô sinh.<sup>24</sup>

❖ *Độ tuổi.* UTBT có liên quan đến tuổi tác và được xem là bệnh lý chủ yếu sau mãn kinh. Tỷ lệ mắc UTBT tăng lên rõ rệt sau 65 tuổi. Độ tuổi trung bình được chẩn đoán là 50-79. Những người lớn tuổi thường có mắc UTBT ở giai đoạn nặng hơn, ít tích cực điều trị nên có tỷ lệ sống sót thấp hơn.<sup>25</sup>

❖ *Nội tiết tố.* Thuốc ngừa thai dạng uống giảm nguy cơ UTBT rõ ràng sau vài tháng sử dụng và trong nhiều năm sau khi ngưng.<sup>26</sup> Nghiên cứu bệnh chứng trên 207 người có ĐB *BRCA1/2* báo cáo giảm 50% nguy cơ, nhưng nghiên cứu ở phụ nữ Do thái cho thấy chỉ giảm nguy cơ trên người không mang ĐB.<sup>27,28</sup> Liệu pháp hormone thay thế có liên quan đến nguy cơ UTBT, tuy chưa được chứng minh rõ ràng. Gần đây vài nghiên cứu tìm thấy nguy cơ gia tăng ít, đặc biệt đối với người được điều trị hormon thay thế dài hạn.<sup>29</sup>

❖ *Dinh dưỡng.* Những nghiên cứu gần đây khuyến cáo những thức ăn giàu carotene và lycopene làm giảm nguy cơ UTBT, trong khi thịt đỏ có thể làm tăng nguy cơ.<sup>30,31</sup> Sử dụng nhiều thực phẩm giàu chất xơ, nhiều đậu nành giảm nguy cơ UTBT, và chế độ thiếu vitamin D thì làm tăng nguy cơ.<sup>32,33</sup>

❖ *Béo phì* làm tăng nguy cơ UTBT do liên quan các hormon sinh dục. Phân tích gộp 28 nghiên cứu báo cáo nguy cơ UTBT tăng ở người thừa cân, béo phì so với người cân nặng bình thường với RR tương ứng 1,2 và 1,3.<sup>34</sup> Một nghiên cứu khác nhận thấy ở phụ nữ mãn kinh, béo phì có nguy cơ UTBT cao hơn người cân nặng bình thường (RR=1,72; CI95%=1,02-2,89).<sup>35</sup>

❖ *Lối sống*. Tuy chưa có ảnh hưởng rõ ràng lên nguy cơ UTBT nhưng lối sống tích cực, tránh hút thuốc, dùng thức uống có cồn mức vừa phải và tập luyện thể chất được khuyến cáo có thể giảm nguy cơ UT và bệnh tim mạch.

❖ *Môi trường*. Mặc dù còn thiếu nhất quán trong các kết quả nghiên cứu nhưng Cơ quan nghiên cứu ung thư quốc tế (International agency for research on cancer- IARC) đã tuyên bố bằng chứng là đủ cho thấy phơi nhiễm amiăng, hay sử dụng bột talc ở đường sinh dục làm tăng nguy cơ UTBT.<sup>36</sup>

❖ *Thuốc*. Nhiều nghiên cứu cho thấy dùng aspirin điều trị các bệnh tim mạch và UT khác có thể giảm UTBT 20-34%.<sup>37</sup> Và tỉ lệ mắc và tử vong do UTBT giảm ở người điều trị tiểu đường bằng metformin.<sup>38</sup>

#### **1.1.4. Chẩn đoán**

##### **1.1.4.1. Triệu chứng lâm sàng**

###### **❖ Triệu chứng cơ năng**

- *Giai đoạn đầu*: các triệu chứng thường mơ hồ và không đặc hiệu như đầy tức bụng, ăn không tiêu, buồn nôn, nôn,... đau bụng ở các mức độ khác nhau.

- *Giai đoạn muộn*: các triệu chứng thường rầm rộ, tiến triển nhanh như gầy sút, kém ăn, bụng chướng, bệnh nhân tự sờ thấy khối u, các triệu chứng chèn ép hoặc xâm lấn các cơ quan lân cận như gây kích thích, tắc nghẽn bàng quang hoặc trực tràng gây tắc ruột, rối loạn tiêu hóa.

- *Giai đoạn cuối*: bệnh nhân có biểu hiện suy dinh dưỡng nặng, rối loạn nước điện giải, da bọc xương, bụng căng to, mất hết tổ chức mỡ ở mặt, mắt trũng.

UTBT tế bào mầm thường có biểu hiện căng xoắn, gây đau nên thường phát hiện ở những giai đoạn đầu. UTBT tế bào đệm-sinh dục thường đi kèm với rối loạn nội tiết như dậy thì sớm hoặc chảy máu âm đạo kéo dài sau mãn kinh.

❖ **Triệu chứng thực thể.** Thăm khám tiêu khung, thăm âm đạo, trực tràng phát hiện UTBT và đánh giá: vị trí, thể tích, mật độ và mức độ xâm lấn. Giai đoạn cuối: thường có cổ chướng. Khám toàn thân: hạch bẹn, hạch thượng đòn, dịch màng phổi, gan to.

#### 1.1.4.2. Cận lâm sàng

❖ **Siêu âm** ngã âm đạo được sử dụng phổ biến để chẩn đoán khối u vùng chậu, và tiên lượng khả năng ác tính. Kết hợp Doppler màu khảo sát sự tăng sinh các mạch máu ngoại biên hoặc trung tâm khối u dự đoán khả năng ác tính. IOTA dùng các đặc điểm siêu âm Doppler dự báo ác tính của u buồng trứng với độ nhạy 95% và độ đặc hiệu 91%.<sup>39</sup> Mô hình ADNEX được IOTA đề xuất dựa vào 3 yếu tố lâm sàng: (1) tuổi bệnh nhân, (2) nồng độ CA125 và (3) nơi siêu âm (trung tâm ung bướu hay nơi khác) và 6 yếu tố siêu âm: (1) đường kính lớn nhất của khối u, (2) tỉ lệ mô đặc, (3) có vách ngăn chia ra hơn 10 nang nhỏ, (4) số chồi nhú, (5) bóng lưng, (6) dịch ổ bụng. Kết quả ước tính khả năng khối u phần phụ: (1) lành tính, (2) giáp biên, (3) UTBT giai đoạn I, (4) UTBT giai đoạn II-IV, (5) UT di căn với độ nhạy 96,5% và độ đặc hiệu 71,3%.<sup>40</sup>

#### ❖ Các phương pháp chẩn đoán hình ảnh khác

- X-quang lồng ngực, bụng, khung đại tràng để phát hiện di căn.
- CT, MRI bụng khảo sát khối u, hạch, dịch tự do, di căn phúc mạc, gan...
- Xạ hình xương, thận đánh giá tổn thương di căn và chức năng thận.
- Chụp PET/CT trước điều trị để chẩn đoán; sau điều trị để theo dõi.
- Nội soi ổ bụng phát hiện UT, di căn phúc mạc, bề mặt gan (sinh thiết).
- Nội soi đường tiêu hóa để loại trừ các khối u di căn từ đường tiêu hóa.

❖ **Xét nghiệm CA125.** Giá trị bình thường <35U/ml. Với khối u vùng chậu, CA125>65U/ml có đến 90% là ác tính. 80%-85% UTBT biểu mô có

CA125 tăng cao, và thể thanh dịch tăng cao hơn dịch nhầy (>85%). Định lượng CA125 định kỳ để chẩn đoán và theo dõi UTBT. Phải đánh giá cùng thông tin lâm sàng, vì CA125 có thể tăng trong nhiều tình trạng sinh lý (kinh nguyệt, mang thai), bệnh lành tính (lạc nội mạc tử cung, u xơ tử cung, viêm tụy, viêm nhiễm vùng chậu, bệnh gan và u lành buồng trứng) hay ác tính khác (UT nội mạc tử cung, phổi, vú, tụy và ống tiêu hóa). Nên CA125 không được dùng để tầm soát UT vì gần 20% UTBT không tăng CA125.<sup>41,42</sup>

❖ **Xét nghiệm HE4.** HE4 là một chỉ điểm UT mới giúp đánh giá nguy cơ UT biểu mô buồng trứng. Độ nhạy và độ đặc hiệu HE4 cao hơn CA125, nên tiềm năng sàng lọc hơn CA125.<sup>43</sup>

❖ **ROMA** (Risk of ovarian malignancy algorithm) - thuật toán hồi quy kết hợp 2 chỉ điểm UT CA125 và HE4, đánh giá khối u vùng chậu có nguy cơ cao hay thấp mắc UTBT, với độ đặc hiệu 75%, độ nhạy 89% cho tất cả bệnh nhân (đối với tiền mãn kinh - 76,5%; mãn kinh - 92,3%).<sup>44</sup>

❖ **RMI** (Risk Malignancy Index) - chỉ số phân tích hồi quy logistic, chỉ sử dụng CA125, kết quả siêu âm và tình trạng kinh nguyệt bệnh nhân, được dùng dự đoán nguy cơ UTBT trước phẫu thuật.<sup>45</sup>

❖ **Alpha Fetoprotein (AFP)** giúp chẩn đoán u túi noãn hoàng, theo dõi điều trị, phát hiện sớm di căn, tái phát. U tế bào mầm có AFP tăng cao là u túi noãn hoàng hoặc u tế bào mầm hỗn hợp có thành phần túi noãn hoàng.<sup>46</sup>

❖ **hCG** (Human Chorionic Gonadotropin) tăng cao trong huyết thanh và trong mô ở UTBT biểu mô màng đệm, UTBT biểu mô bào thai, u quái không thuần thực. Tuy nhiên không tăng trong u nghịch mầm, u túi noãn hoàng.<sup>47</sup>

❖ Các xét nghiệm khác

- Xét nghiệm tế bào học từ dịch ổ bụng, hạch, dịch màng phổi (nếu có).
- Mô bệnh học sinh thiết qua phẫu thuật/ nội soi là xét nghiệm quyết định.
- Xét nghiệm gen hoặc giải trình tự gen *BRCA1/BRCA2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *EPCAM*, *MUTYH*, *TP53*, *STK11*, *PALB2* ... giúp tiên lượng bệnh, lựa chọn các thuốc điều trị đích, đánh giá khả năng mắc UTBT di truyền.



### 1.1.4.3. Chẩn đoán giai đoạn

Phân loại TNM được đánh giá bằng lâm sàng, chẩn đoán hình ảnh và phẫu thuật, còn phân giai đoạn theo FIGO dựa trên phẫu thuật (Bảng 1.1)<sup>48</sup>

**Bảng 1.1 Phân loại giai đoạn theo TNM và FIGO**

TNM		FIGO	Đặc điểm
Tx			Không thể đánh giá được u nguyên phát.
To			Không có bằng chứng u nguyên phát.
T1	I		U ở buồng trứng (một hoặc cả hai)
	T1a	IA	U ở 1 buồng trứng, vỏ nguyên vẹn, không u bề mặt buồng trứng; không tế bào ác tính trong dịch ổ bụng.
	T1b	IB	U ở cả 2 buồng trứng, vỏ nguyên vẹn, không u bề mặt buồng trứng, không tế bào ác tính dịch ổ bụng.
	T1c	IC	U ở 1 hay 2 buồng trứng với 1 trong các yếu tố:
		T1c1	IC1 Rơi, đổ ra do phẫu thuật
		T1c2	IC2 Vỏ bị phá vỡ, u trên bề mặt buồng trứng
		T1c3	IC3 Tế bào ác tính trong dịch ổ bụng
T2		II	U xâm lấn 1 hay 2 buồng trứng, xâm lấn khung chậu
	T2a	IIA	Lan toả và/hoặc cấy vào tử cung
	T2b	IIB	Xâm lấn tổ chức khác của chậu, bao gồm ruột.
T3 +/- N1		III <sup>1</sup>	U xâm lấn 1 hay 2 buồng trứng với kết quả tế bào học, mô học lan toả phúc mạc ngoài khung chậu và/hoặc di căn hạch sau phúc mạc
N1			Chỉ di căn hạch sau phúc mạc
		N1a	IIIA1i Hạch di căn ≤ 10mm ở kích thước lớn nhất
		N1b	IIIA1ii Hạch di căn > 10mm ở kích thước lớn nhất
	T3a	N bất kỳ	IIIA2 Vi thể xâm lấn phúc mạc ngoài khung chậu
	T3b	N bất kỳ	IIIB Di căn phúc mạc ngoài khung chậu kích thước đến 2cm, kèm/không kèm hạch sau phúc mạc
	T3C	N bất kỳ	IIIC Di căn phúc mạc ngoài khung chậu kích thước lớn nhất > 2cm và/hoặc di căn hạch sau phúc mạc
M		IV	Di căn xa (trừ di căn phúc mạc).
		M1a	IVA Dịch màng phổi kèm tế bào học dương tính
		M1b <sup>2</sup>	IVB Di căn mô và cơ quan ngoài ổ bụng

<sup>1</sup> Di căn vỏ gan. <sup>2</sup> Di căn nhu mô gan. T-U nguyên phát. N-hạch bạch huyết. N<sub>o</sub>-không di căn hạch. N1-di căn hạch. M-di căn xa. M<sub>o</sub>-không di căn xa. M1-di căn xa

#### 1.1.4.4. *Chẩn đoán mô bệnh học*

Tổ chức y tế thế giới (WHO) phân loại UTBT tiên phát dựa trên mô học gồm 3 loại chính: UT biểu mô, UT tế bào mầm, và UT tế bào mô đệm-dây sinh dục.<sup>49</sup> Trong đó UT biểu mô hay gặp nhất: UT biểu mô tuyến thanh dịch, UT biểu mô tuyến nang nhầy, UT biểu mô dạng nội mạc, UT biểu mô tế bào sáng, UT biểu mô không biệt hóa, UT biểu mô tế bào chuyên tiếp, UT biểu mô vảy... Ngoài ra còn UT do di căn từ các cơ quan khác như u Krukenberg từ dạ dày. Thống kê SEER phân loại theo mô bệnh học có 84,1% là UT tế bào biểu mô, trong đó chiếm đa số là UT biểu mô tuyến thanh dịch 36,5%. UT tế bào mầm chỉ chiếm 0,5%, còn UT tế bào mô đệm-sinh dục chiếm 2,6%.<sup>2</sup>

#### 1.1.4.5. *Chẩn đoán phân biệt*

Viêm nhiễm, apxe tiêu khung; lao sinh dục, lao màng bụng; u tử cung, u lành buồng trứng; các u tiêu hoá, tiết niệu, sau phúc mạc, mạc treo; di căn.

#### 1.1.5. *Điều trị*

Nguyên tắc chung: Tùy theo mô bệnh học, giai đoạn, tuổi, tình trạng bệnh nhân... để phối hợp các phương pháp điều trị thích hợp.<sup>50</sup>

**a.** Điều trị phẫu thuật có vai trò rất quan trọng trong điều trị UTBT: (1) Phẫu thuật sinh thiết tức thì làm mô bệnh học chẩn đoán xác định; (2) Đánh giá chính xác giai đoạn bệnh; (3) Phẫu thuật triệt để bao gồm cắt tử cung toàn bộ, phần phụ hai bên, mạc nối lớn trong tình huống bệnh đã lan.

**b.** Điều trị hoá chất đóng vai trò ngày càng quan trọng nhất. Điều trị hóa chất có thể là tân bổ trợ, bổ trợ hoặc giảm nhẹ cho giai đoạn di căn xa.

**c.** Điều trị đích (Targeted therapy)

➤ Thuốc ức chế yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu Bevacizumab là kháng thể đơn dòng. Phối hợp với hóa chất trong điều trị UTBT giai đoạn III, IV và UTBT tiên lượng xấu, kích thước tổn thương tồn dư sau phẫu thuật >1cm. Còn được dùng điều trị UTBT tái phát kháng phác đồ có platinum.

➤ Thuốc ức chế PARP (Poly ADP ribose polymerase)

– Olaparib làm ức chế quá trình sửa chữa DNA, từ đó gây chết tế bào UT. Chỉ định: (1) Điều trị duy trì UTBT biểu mô độ ác tính cao ở giai đoạn III và IV và có ĐB gen *BRCA1/2*, đáp ứng sau khi hoàn tất hóa trị liệu bước 1 có chứa platinum; (2) Điều trị duy trì UTBT biểu mô độ ác tính cao nguyên phát và tái phát nhạy với platinum, đáp ứng với hóa trị liệu có platinum.

– Các thuốc ức chế PARP thế hệ sau: (1) Rucaparib chỉ định UTBT tái phát có ĐB *BRCA1/2*, (2) Niraparib được chỉ định điều trị UTBT (loại nhạy cảm với platinum trước đó) sau thất bại với ít nhất 2 bước điều trị hoá chất.

*d.* Liệu pháp nội tiết (tamoxifen, letrozole) được xem xét cho những bệnh nhân tái phát không có triệu chứng hoặc bệnh nhân cần nghỉ hóa trị liệu.

*e.* Điều trị miễn dịch. Các thử nghiệm lâm sàng với pembrolizumab, atezolizumab đang được tiến hành mang lại những kết quả khả quan ban đầu.

*f.* Điều trị miễn dịch phóng xạ: kháng thể đơn dòng gắn đồng vị phóng xạ đang thử nghiệm (HMFG, Hu2PLAP, Trastuzumab, Pertuzumab, OC125).

*g.* Xạ trị hậu phẫu các bệnh nhân giai đoạn I, khi không đáp ứng với hoá chất, hoặc giảm nhẹ trong UTBT giai đoạn muộn, tái phát lan tràn ổ bụng.

*h.* Xạ phẫu bằng dao gamma, dao gamma quay rất có xạ giá trị trong việc kiểm soát UTBT di căn não từ 1-3 ổ, kích thước dưới 3cm.

### **1.1.6. Tiên lượng**

Tỉ lệ sống sót sau 5 năm được ước tính chỉ khoảng 49,3%.<sup>2</sup> Các yếu tố tiên lượng bao gồm tuổi, giai đoạn bệnh, mô bệnh học, độ ác tính khối u, mức độ cổ chướng, thể tích khối u tồn dư sau mổ và những phát hiện khi mổ lại ...<sup>51</sup>

❖ Tuổi. Bệnh nhân cao tuổi thường đáp ứng thuốc và sức chịu đựng độc tố hóa trị kém hơn, và các bệnh lý hạn chế lựa chọn điều trị. Tỉ lệ sống sót sau 5 năm giảm dần theo độ tuổi thời điểm chẩn đoán.<sup>2</sup>

❖ Giai đoạn bệnh. Giai đoạn đầu tỉ lệ sống sót sau 5 năm rất cao đến 92,6%, tuy nhiên 58% UTBT chẩn đoán ở giai đoạn muộn tỉ lệ chỉ 30,2%.<sup>2</sup>

❖ Thể tích u tồn dư sau mổ còn liên quan đến độ ác tính của khối u,

❖ Mô bệnh học. UT tế bào mầm, UT tế bào đệm-sinh dục có thời gian sống thêm tốt hơn UT biểu mô. UT dạng lạc nội mạc tử cung, UT tế bào sáng, và UT nang tuyến nhầy tiên lượng khả quan hơn các UT biểu mô khác.<sup>52</sup>

❖ CA125 trước điều trị là yếu tố tiên lượng trong nghiên cứu đơn biến, nhưng không có ý nghĩa tiên lượng độc lập trong phân tích đa biến.

❖ Tiền sử gia đình. Những bệnh nhân có tiền sử gia đình mắc UTBT thì có tiên lượng sống sót sau 5 năm thấp hơn bệnh nhân không có yếu tố này.<sup>52</sup>

❖ Các yếu tố khác được nghiên cứu tập trung trong lĩnh vực sinh học phân tử và gen như mức độ bỏ thể của u, gen kìm hãm khối u, sự khuếch đại gen UT, các yếu tố chuyển dạng và tăng trưởng u: HER2, EGFR ...

## **1.2. Đột biến gen *BRCA1/2* liên quan đến UTBT**

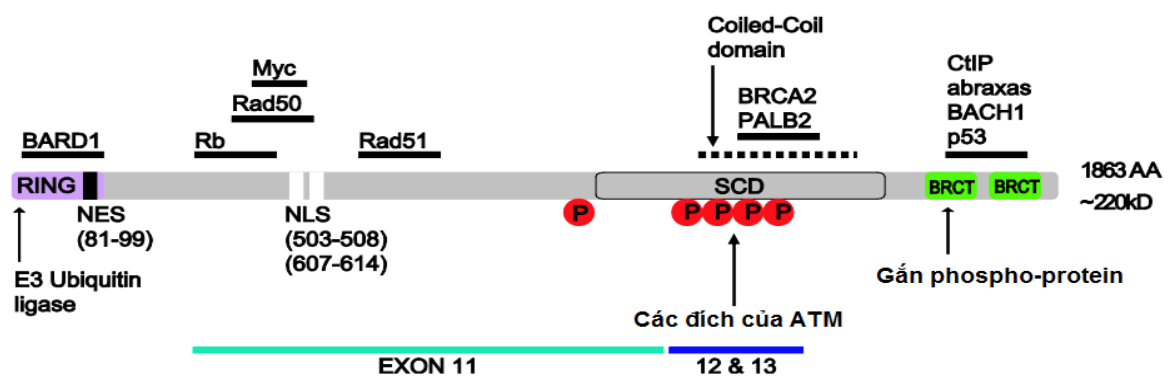
### ***1.2.1. Hội chứng ung thư vú – buồng trứng di truyền (HBOC)***

Hội chứng ung thư vú – buồng trứng di truyền (Hereditary Breast & Ovarian Cancer syndrome - HBOC) là một hội chứng tăng nguy cơ phát triển UT vú hoặc UTBT có tính chất gia đình. Về mặt di truyền học, HBOC do ĐB gen *BRCA1* hoặc *BRCA2* tế bào mầm di truyền trong 1 alen và sau đó mất trạng thái dị hợp của mô sinh dưỡng. Các dấu hiệu của hội chứng này bao gồm nhiều thành viên gia đình mắc UT vú và/hoặc UTBT, mắc UT vú/UTBT sớm, tiền sử cá nhân mắc cả UT vú và UTBT, tiền sử gia đình có UT vú ở nam.<sup>53</sup>

### ***1.2.2. Gen *BRCA1****

*BRCA1* là một gen áp chế khối u liên quan đến UT vú và UTBT được xác định và tách dòng lần đầu năm 1994. Gen này nằm trên cánh dài của nhiễm sắc thể 17 (17q21). *BRCA1* là một gen lớn, chứa 24 exon, trong đó 22 exon mã hóa dài khoảng 100kb<sup>54</sup>. Alen bình thường của nó tạo ra một mRNA kích thước 7,8kb, và mRNA này mã hóa protein *BRCA1* gồm 1863 acid amin.

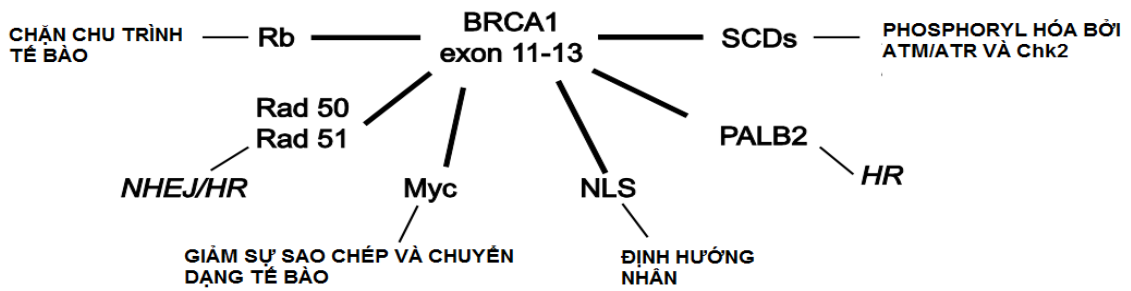
Protein bao gồm một domain RING-finger gần đầu N tận (exon 2-7), vùng mã hóa bởi exon 11-13, nhóm “SQ” (serin-glutamin) ở vị trí acid amin 1280-1524, và một domain BRCT ở đầu C tận (exon 16-24) (Hình 1.1). Domain RING có chức năng như enzym E3 ubiquitin ligase. Các acid amin được mã hóa bởi exon 11-13 chứa những vị trí gắn dành cho nhiều loại protein. Domain BRCT là domain gắn phosphoprotein, đặc hiệu với protein được phosphoryl hóa bởi hệ thống enzym ATM/ATR kinase.<sup>55</sup>



**Hình 1.1 Cấu trúc của protein BRCA1.**

\* Nguồn: *Computational and Structural Biotechnology Journal* (2012)<sup>55</sup>

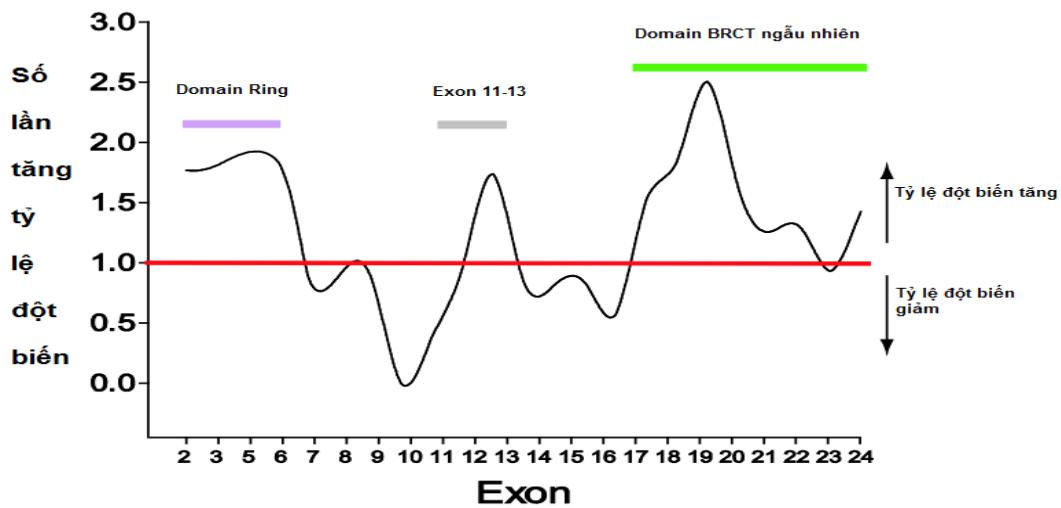
Exon 11-13 chiếm 65% trình tự *BRCA1*, mã hóa cho 2 trình tự định hướng nhân (Nuclear localization sequences-NLS) và các vị trí gắn protein: Rb, c-Myc, Rad50 và *RAD51*. Những acid amin ở đây chứa domain coiled-coil và vùng chứa serin (SCD) được phosphoryl hóa bởi ATM, nơi gắn PALB2, *BRCA2*. Tuy exon 11-13 có tỉ lệ lớn các ĐB gây bệnh nhưng hiểu biết về cấu trúc, chức năng của vùng này rất ít so với domain RING và BRCT. Các protein gắn vào exon 11-13 liên quan nhiều tới các con đường sinh hóa của tế bào (Hình 1.2). Myc là yếu tố điều hòa sao chép của rất nhiều gen. *RAD50*, *RAD51* và PALB2 liên quan đến sửa chữa DNA. Rb điều hòa chu trình tế bào.<sup>55</sup> Trên Biểu đồ 1.4 thể hiện tỉ lệ ĐB cao ở domain RING, exon 11-13 và domain BRCT.



**Hình 1.2. Các chức năng của exon 11-13 BRCA1.**

\* Nguồn: *Computational and Structural Biotechnology Journal* (2012).<sup>55</sup>

Trong tế bào bình thường, protein *BRCA1* rất quan trọng trong việc duy trì sự ổn định di truyền thông qua quá trình sửa chữa DNA và apoptosis, đồng thời hoạt động như một protein ức chế khối u. *BRCA1* còn tham gia điều khiển sự biểu hiện *p53* và *GADD45* - gen đáp ứng sai hỏng của DNA. Ở Hình 1.3 *BRCA1* tham gia sửa chữa tổn thương gãy DNA sợi đôi bắt đầu bằng phosphoryl hóa, sau đó kết hợp với *BRCA2* và các protein quan trọng (*RAD51*, *BARD1*) tạo phức hợp gắn vào vị trí DNA tổn thương và khởi động tái tổ hợp.

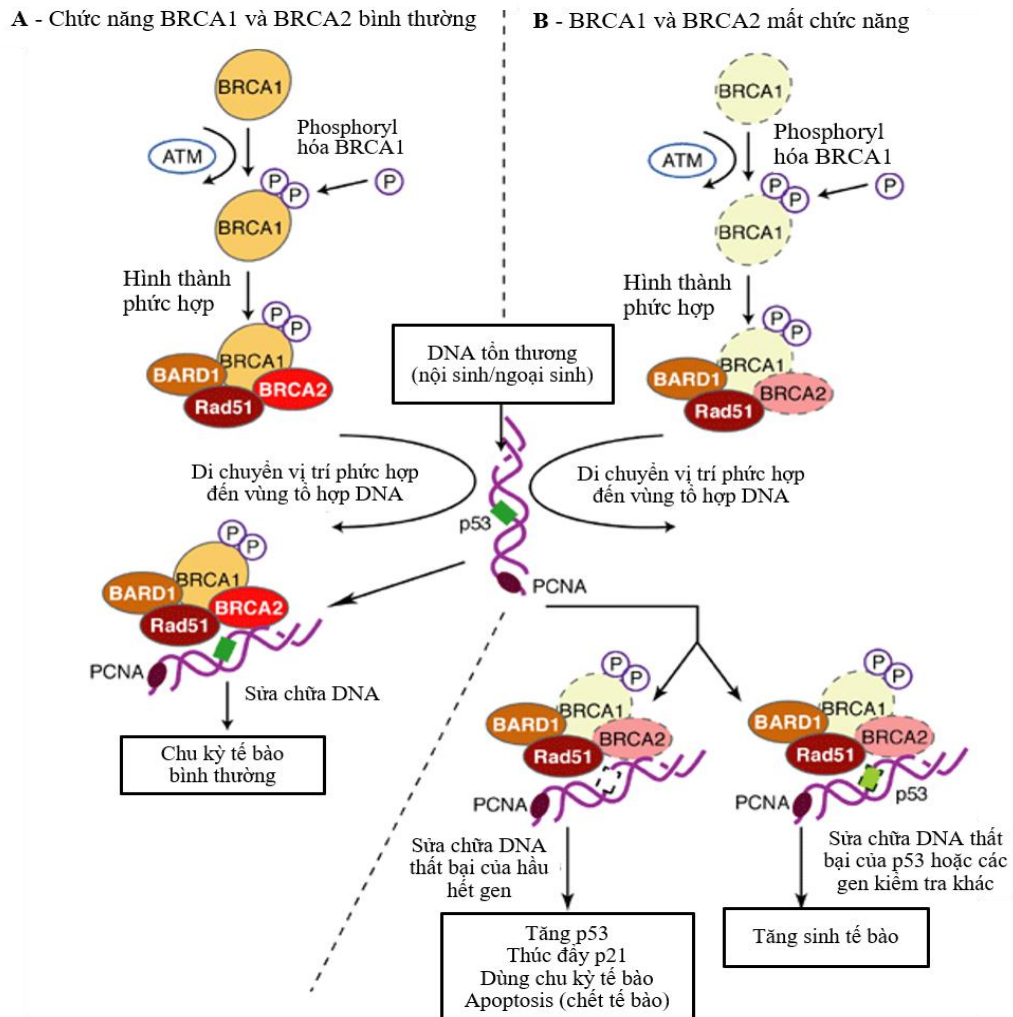


**Biểu đồ 1.4. Tỷ lệ đột biến BRCA1 có ý nghĩa lâm sàng**

\* Nguồn: *Computational and Structural Biotechnology Journal* (2012).<sup>55</sup>

Số lần tăng tỉ lệ ĐB tính bằng số ĐB trên số codon mỗi exon. Đường 1.0 trên trục Oy chỉ tổng ĐB trung bình mỗi codon của *BRCA1*. Những domain có tỉ lệ ĐB cao ở phía trên đường 1.0.

Nếu mất chức năng *BRCA1* và *BRCA2* sẽ dẫn đến tăng sinh bất thường tế bào, cơ chế dẫn đến hình thành tế bào UT. Sự điều hòa các con đường hóa sinh có thể là gián tiếp do sự tương tác của *BRCA1* với bộ máy phiên mã cơ bản (RNA helicase A và RNA polymerase II), các chất đồng hoạt hóa phiên mã (p300, CBP) và đồng kìm hãm phiên mã (RbAp46/48, HDAC-1/2 và CtIP). Ngoài ra, protein *BRCA1* còn có hoạt tính ubiquitin ligase nội sinh thông qua vùng N-terminal RING tương tác với BARD1 để tạo phức hợp *BRCA1*-BARD1. Tính chất ubiquitin ligase của phức hệ này tạo nên rất nhiều chức năng sinh học của protein *BRCA1*, bao gồm hoạt tính ức chế khối u trong UT vú và UTBT.<sup>56</sup>



**Hình 1.3. Vai trò của protein *BRCA1* và *BRCA2* trong sửa chữa DNA.**

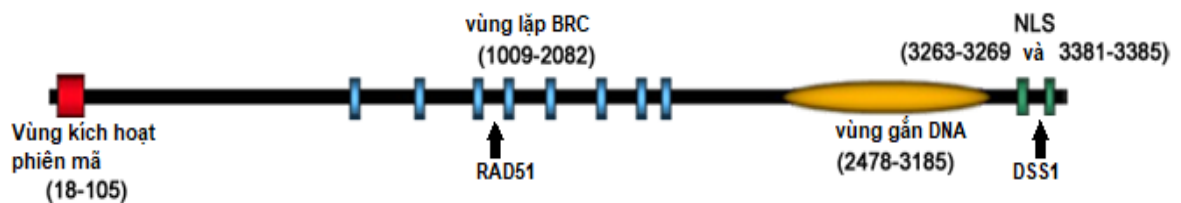
Nguồn: Cambridge University Press (2001)

### 1.2.3. Gen *BRCA2*

Gen *BRCA2* nằm trên nhánh dài nhiễm sắc thể 13, vị trí 13q12.3 và chứa 27 exon được xác định năm 1994.<sup>57</sup> Alen của *BRCA2* tạo mRNA kích thước 10,4kb – mã hóa protein 3418 acid amin. Vị trí bắt đầu dịch mã từ exon 2.

Phần N-terminal của protein *BRCA2* chứa domain kích hoạt phiên mã (18-105 acid amin). Exon 11 mã hóa 8 dạng cấu trúc mô típ giống nhau có từ 30-40 acid amin, là trung gian gắn kết giữa *BRCA2* và *RAD51*. Vùng này còn có tên gọi là vùng lặp BRC (BRCA C-terminal Repeat), từ BRC1 đến BRC8. Mỗi BRC, ngoại trừ BRC5 và BRC6, đều có thể gắn riêng rẽ với *RAD51* trong kỹ thuật lai 2 thành phần (protein và protein) cũng như ở trong ống nghiệm khi được biểu hiện như là protein dung hợp GST (glutathion -S- transferase). Khả năng gắn các BRC cũng khác nhau, BRC4 hoạt tính gắn cao hơn BRC1 4 lần.

Cấu trúc C-terminal domain *BRCA2* được xác định và có liên quan đến tính chất liên kết DNA. Một số lượng lớn ĐB gây UT được phát hiện nằm ở domain này. 2 tín hiệu định hướng nhân (NLS) ở vùng này và cùng định hướng với *BRCA1* vào nhiều trọng điểm trong nhân của tế bào sinh dưỡng (Hình 1.4).<sup>58</sup>



**Hình 1.4. Đặc điểm cấu trúc của protein *BRCA2*.**

\*Nguồn: Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology<sup>59</sup>

Nồng độ protein *BRCA2* tỉ lệ thuận với tốc độ tăng sinh tế bào. Các tế bào không phân chia không biểu hiện *BRCA2* trong khi biểu hiện mạnh ở các tế bào, mô đang phân chia tích cực như biểu mô vú trong thời kỳ dậy thì và mang thai. Sự biểu hiện *BRCA2* được điều chỉnh trong chu kỳ tế bào, cao nhất trong pha S của chu kỳ tế bào. *BRCA2* đóng vai trò quan trọng trong lắp ráp các thoi vô sắc trong phân bào. Protein *BRCA2* có vai trò điều hòa quá trình phiên mã khi gắn vào phức hợp với protein DSS1. Sự hiện diện của DSS1 đã được chứng

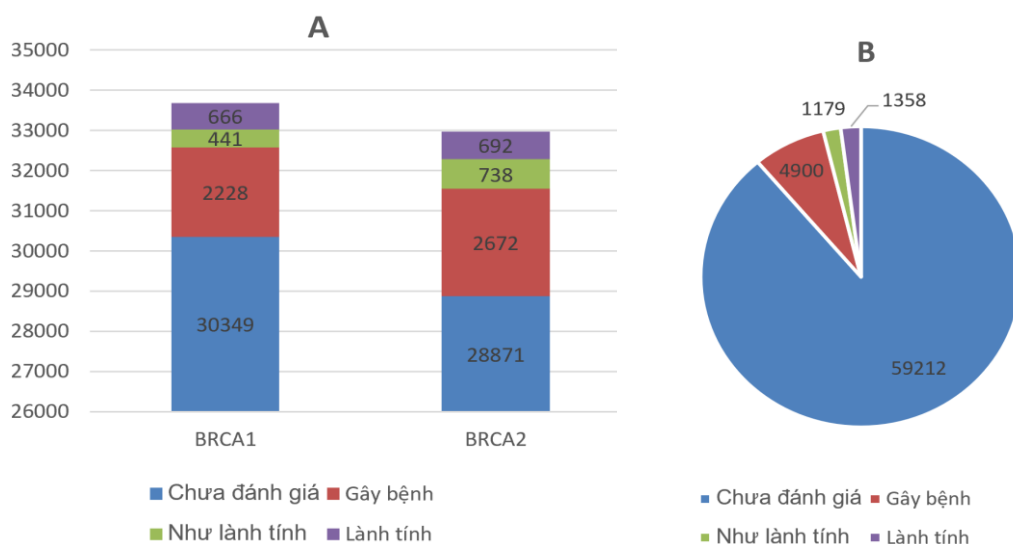


minh để ổn định protein *BRCA2* và đóng vai trò như một chất điều chỉnh các protein bị biến đổi sau dịch mã. Mục tiêu DSS1 là các protein bị oxy hóa và phân hủy chúng. *BRCA2* được chứng minh chức năng kích thích phiên mã, ví dụ tăng biểu hiện *BRCA2* sẽ kích thích phiên mã của các gen điều hòa thụ thể androgen. Chức năng này điều hòa bởi sự gắn kết với protein EMSY vào vùng N-terminal (transactivation domain). Khi nồng độ EMSY vượt quá mức dẫn đến vùng kích thích phiên mã vào trạng thái im lặng.

*Protein BRCA2* nằm trong nhân tế bào, chứa các acid amin bị phosphoryl hóa. Mặc dù cấu trúc exon tương ứng với *BRCA1* nhưng protein *BRCA2* có cấu trúc protein khó nhận biết và không có mối liên quan với protein *BRCA1*. Tuy nhiên, các protein được mã hóa bởi gen *BRCA1* và *BRCA2* đều có cùng một số chức năng như cùng điều hòa phiên mã, sửa chữa những tổn thương nội sinh hay ngoại sinh của DNA làm ổn định cấu trúc bộ gen –giải thích việc tại sao ĐB các gen này dẫn tới nguy cơ mắc UT vú và UTBT. (Hình 1.3).

#### 1.2.4. Tỷ lệ đột biến *BRCA1/2*

Theo Cơ sở dữ liệu BRCA Exchange, hiện nay đã ghi nhận hơn 33 684 biến thể trên gen *BRCA1*, và 32 973 biến thể trên *BRCA2* (Biểu đồ 1.5-A).<sup>60</sup>



**Biểu đồ 1.5. Các biến thể gen *BRCA1* và *BRCA2* phân loại theo chức năng**

(A) Phân loại theo gen *BRCA1* và *BRCA2*. (B) Phân loại cho cả hai gen.

Nguồn: *BRCA Exchange factsheet (cập nhật tháng 7 năm 2021)*<sup>60</sup>

BRCA Exchange là sản phẩm của dự án BRCA Challenge được tổ chức bởi Liên minh toàn cầu về hệ gen và sức khỏe (Global Alliance for Genomic and Health) nhằm nâng cao sự hiểu biết về cơ sở di truyền của UT vú, UTBT, UT tụy và các cơ quan khác.<sup>60</sup> BRCA Exchange tổng hợp dữ liệu các biến thể di truyền gen *BRCA1* và *BRCA2* từ các nguồn dữ liệu lớn: 1000 Genome, BIC, Clinvar, ESP, ExAC, GnomAD, ExUV, LOVD, ENIGMA, và báo cáo Finlay (2018). Theo BRCA Exchange có 4 900 ĐB gây bệnh chiếm 12,2% trong 7 445 biến thể của hai gen đã được khảo sát đánh giá (Biểu đồ 1.5 -B).<sup>60</sup>

**Bảng 1.2. Tỷ lệ đột biến BRCA1/2 ở bệnh nhân UTBT các cộng đồng**

Cộng đồng/nước	Số ca UTBT	ĐB <i>BRCA1</i>	ĐB <i>BRCA2</i>	Tổng ĐB
Do thái	840	182 (21,7%)	64 (7,6%)	246 (29,3%)
Hoa kỳ	1915	182 (8,5%)	98 (6,3%)	280 (14,8%)
Canada	977	75 (7,7%)	54 (5,5%)	129 (13,2%)
Phân Lan	233	11 (4,7%)	2 (0,9%)	13 (5,6%)
Thụy Điển	161	12 (7,5%)	1 (0,6%)	13 (8,1%)
Đan Mạch	445	22 (4,9%)	4 (0,9%)	26 (5,8%)
Ai-xlen	179	2 (1,1%)	10 (5,6%)	12 (6,7%)
Ba Lan	309	23 (7,4%)	29 (9,4%)	52 (16,8%)
Đức	523	81 (15,5%)	28 (5,4)	109 (20,9%)
Ấn độ	239	37 (15,5%)	14 (5,9%)	51 (21,4%)
Thổ Nhĩ Kỳ	102	10 (9,8%)	7 (6,9%)	17 (16,7%)
Pakistan	120	16 (13,3%)	3 (2,5%)	19 (15,8%)
Columbia	100	13 (13,0%)	2 (0,2%)	15 (13,2%)
Australia	809	70 (8,7%)	39 (4,8%)	109 (13,5%)
Japan	634	63 (9,9%)	30 (4,7%)	93 (14,6%)
China	1331	228 (17,1%)	70 (5,3%)	298 (22,4%)
Korea	805	106 (13,2%)	51 (6,3%)	157 (19,5%)

Tỷ lệ các biến thể có liên quan đến hội chứng UT vú và UTBT di truyền (HBOC) là 66% trên gen *BRCA1* và 34% trên gen *BRCA2*.<sup>61</sup> Tần số các ĐB gây bệnh *BRCA1/2* trong dân số chung khoảng 1/400-1/800.<sup>62</sup> Riêng tỷ lệ mang ĐB *BRCA1/2* ở bệnh nhân UTBT khoảng từ 5% đến 30% nhưng rất thay đổi phụ thuộc vào từng cộng đồng (Bảng 1.2).<sup>63</sup>

**Bảng 1.3. Các đột biến “người sáng lập” gen BRCA1/2 tìm thấy ở các quần thể**

<b>Quần thể</b>	<b>Đột biến BRCA1</b>	<b>Đột biến BRCA2</b>
Người Do Thái Ashkenazi	185delAG; 5832insC	6174delT
Người Ai – xlen		999del5
Người Na uy	1675delA; 816delGT; 3347delAG; 1135insA	
Người Phần Lan	IVS11+3A>G	9345+1G>A; C7708T; T8555G
Người Thụy Điển	3171ins5	
Người Pháp	3600del11	
Người Hà Lan	2804delAA; IVS12- 1643del3835	5579insA, 6503delTT
Người Ý	5083del19	8765delAG
Người Pháp - Canada	C4446T; R1443X	8765delAG; 3398delAAAAG
Người Tây Ban Nha (Nam California)	S995X; 2552delC	
Người Tây Ban Nha (Columbia)	3450delCAAG; A1708E	3034delACAA
Người Mỹ Gốc Phi	943ins10; 1832del5; 5296del4	IVS13+1G>A
Người Nam Phi	E881X	
Người I-rắc	Tyr978X	
Người Trung Quốc	1081delG	
Người Nhật Bản	Q934X, L63X	5802delAATT
Người Malaysia	2846insA	
Người Philippin	5454delC	4265delCT, 4859delA
Người Pakistan	S1503X, R1835X	

Quần thể người gốc Do Thái có nguy cơ mắc HBOC cao do tần suất mang ĐB *BRCA1/2* cao nhưng phần lớn là 3 ĐB được nghiên cứu rất nhiều: 2 ĐB trên *BRCA1* (187delAG và 5385insC) và 1 trên *BRCA2* (6174delT). Trong các quần thể khác nhau, các ĐB *BRCA1/2*, đặc biệt có tần số phát hiện cao và giới hạn trong các quần thể là hệ quả của hiệu ứng “người sáng lập” (founder effect – trong di truyền quần thể) được gọi là ĐB “người sáng lập” (founder mutation) hay ĐB “đặc trưng” cho quần thể đó (Bảng 1.3).<sup>64</sup>

Mặc dù phần lớn ĐB *BRCA1* được mô tả chỉ bao gồm một vài cặp nucleotid, trong những nghiên cứu trên quần thể người Hà Lan đã xác định được 3 loại mất đoạn lớn gen *BRCA1*. Những mất đoạn lớn được phát hiện chiếm tới 36% ĐB ở nhóm bệnh nhân Hà Lan có tiền sử gia đình nguy cơ cao.<sup>65</sup>

### 1.2.5 Nguy cơ mắc ung thư

#### 1.2.5.1. Nguy cơ mắc các loại ung thư

Nguy cơ gây UT của ĐB *BRCA1/2* là khía cạnh có ý nghĩa nhất trên lâm sàng. Nguy cơ này thay đổi đáng kể phụ thuộc vào từng điều kiện cụ thể.<sup>53</sup>

**Bảng 1.4. Nguy cơ mắc UT ở những người mang đột biến gen *BRCA1/2***

Vị trí UT	Nguy cơ mắc UT		
	Cộng đồng	Đột biến <i>BRCA1</i>	Đột biến <i>BRCA2</i>
UT vú	12%	46%-87%	38%-84%
UT vú bên còn lại	2% trong 5 năm	21,1% trong 10 năm	10,8% trong 10 năm
UTBT	1%-2%	37%-63%	16,5%-27%
UT vú ở nam	0,1%	1,2%	Đến 8,9%
UT tuyến tiền liệt	6% đến 69 tuổi	8,6% đến 65 tuổi	15% đến 65 tuổi
UT tụy	0,5%	1%-3%	2%-7%
Melanoma	1,6%		Tăng

**UT vú** là bệnh ác tính phổ biến nhất ở những người mang ĐB dòng mầm gen *BRCA1* và *BRCA2* với nguy cơ trọn đời đến 87%. Nguy cơ UT vú đến 70 tuổi của các ĐB *BRCA1* lần đầu được nghiên cứu trên 33 gia đình là 87%<sup>66</sup>. Đối với *BRCA2*, nguy cơ ước tính đến 70 tuổi là 84%<sup>67</sup>. Các nghiên cứu sau đó đều ước tính được nguy cơ thấp hơn. Nghiên cứu trên 676 gia đình người Do thái Ashkenazi và 1272 gia đình các dân tộc khác, Chen (2006) ước tính được nguy cơ tích lũy UT vú ở phụ nữ mang ĐB *BRCA1* là 46%<sup>68</sup>. Satagopan (2001) báo cáo nguy cơ UT vú đến 80 tuổi ở phụ nữ Do thái Ashkenazi mang ĐB *BRCA1* đến 59% và trong ĐB *BRCA2* là 38%<sup>69</sup>.

**UT vú bên còn lại** ở những phụ nữ điều trị bảo tồn có tỉ lệ khá cao. Nguy cơ giảm ở những phụ nữ thực hiện phẫu thuật cắt bỏ buồng trứng dự phòng. Một nghiên cứu thuần tập báo cáo về nguy cơ UT vú sau 10 năm ở những người mang ĐB *BRCA1* là 21,1% và *BRCA2* là 10,8%.<sup>70</sup>

**UTBT.** Nguy cơ mắc UTBT của người mang ĐB *BRCA1* đến 70 tuổi là 63%, *BRCA2* là 27% lần đầu được ước tính trong các nghiên cứu của Easton (1995)<sup>71</sup> và Ford (1998).<sup>67</sup> Các nghiên cứu sau đó cho thấy nguy cơ thấp hơn. Chen (2006) ước tính nguy cơ UTBT đến tuổi 70 ở người mang ĐB *BRCA1* là 39%<sup>68</sup>. Satagopan (2002) trong nghiên cứu của mình chỉ ra nguy cơ UTBT ở tuổi 70 đối với ĐB *BRCA1* là 37% và *BRCA2* là 21%.<sup>69</sup> Mavaddat (2013) ước tính nguy cơ tích lũy trung bình đến 70 tuổi với người mang ĐB *BRCA1* là 59%, ĐB *BRCA2* là 16,5%.<sup>72</sup>

**UT vú ở nam.** Nguy cơ tích lũy ở tuổi 70 ước tính của UT vú ở nam giới mang ĐB *BRCA1* là 1,2% và *BRCA2* là 6,8%<sup>73</sup>. Trong nghiên cứu lớn nhất về các gia đình có *BRCA2* cho đến nay, phân tích hồi cứu và tiến cứu 321 gia đình, ba trường hợp UT vú xảy ra ở những người thân cấp độ một là nam giới, cho thấy nguy cơ này là 8,9%<sup>74</sup>.

**UT tuyến tiền liệt.** Trong các nghiên cứu các ĐB *BRCA1/2* đa số tìm thấy ở những bệnh nhân được chẩn đoán trước 65 tuổi. Người ta cho rằng các ĐB *BRCA1* gây ra nguy cơ UT tuyến tiền liệt khoảng 8,6% ở tuổi 65<sup>75</sup>, trong khi các ĐB *BRCA2* mang nguy cơ đến 15%.<sup>76</sup>

**UT tuyến tụy.** Trong nghiên cứu cắt ngang của Hiệp hội Liên kết UT vú (1999) và Thompson (2002) báo cáo sự gia tăng nguy cơ UT tuyến tụy ở người mang ĐB *BRCA1* (RR = 2,26, CI95% = 1,26-4,06, P = 0,004) và ở những người có ĐB *BRCA2* (RR = 3,51, CI95% = 1,87-6,58, P = 0,0012).<sup>18,77</sup>

**U hắc tố.** Mặc dù ít được nghiên cứu kỹ hơn, các tài liệu cho thấy nguy cơ UT hắc tố, cả da và mắt, có thể tăng lên ở một số nhưng không phải tất cả các gia đình có ĐB gây bệnh gen *BRCA2*.<sup>77</sup>

**Các bệnh UT khác.** UT thân tử cung và cổ tử cung ở phụ nữ dưới 65 tuổi mang ĐB *BRCA1* có nguy cơ tương đối (RR) là 2,6 và 3,7<sup>18</sup>. Nguy cơ tương đối (RR) UT túi mật và UT ống mật gia tăng lần lượt là 3,5 và 5,0 ở người mang ĐB *BRCA1/2*<sup>78</sup>. Tuy nhiên, trong các nghiên cứu trên, các chẩn đoán chưa được đồng thuận theo bệnh học, nên tăng nguy cơ UT cổ tử cung và tử cung cũng như UT túi mật và ống mật tăng có thể do phân loại sai UTBT và UT tuyến tụy. Các dữ liệu cho thấy UT nội mạc tử cung có thể liên quan đến tamoxifen trong điều trị UT vú hơn là do ĐB *BRCA1/2*.<sup>79</sup> Các báo cáo ban đầu về tăng nguy cơ UT đại trực tràng không lặp lại.

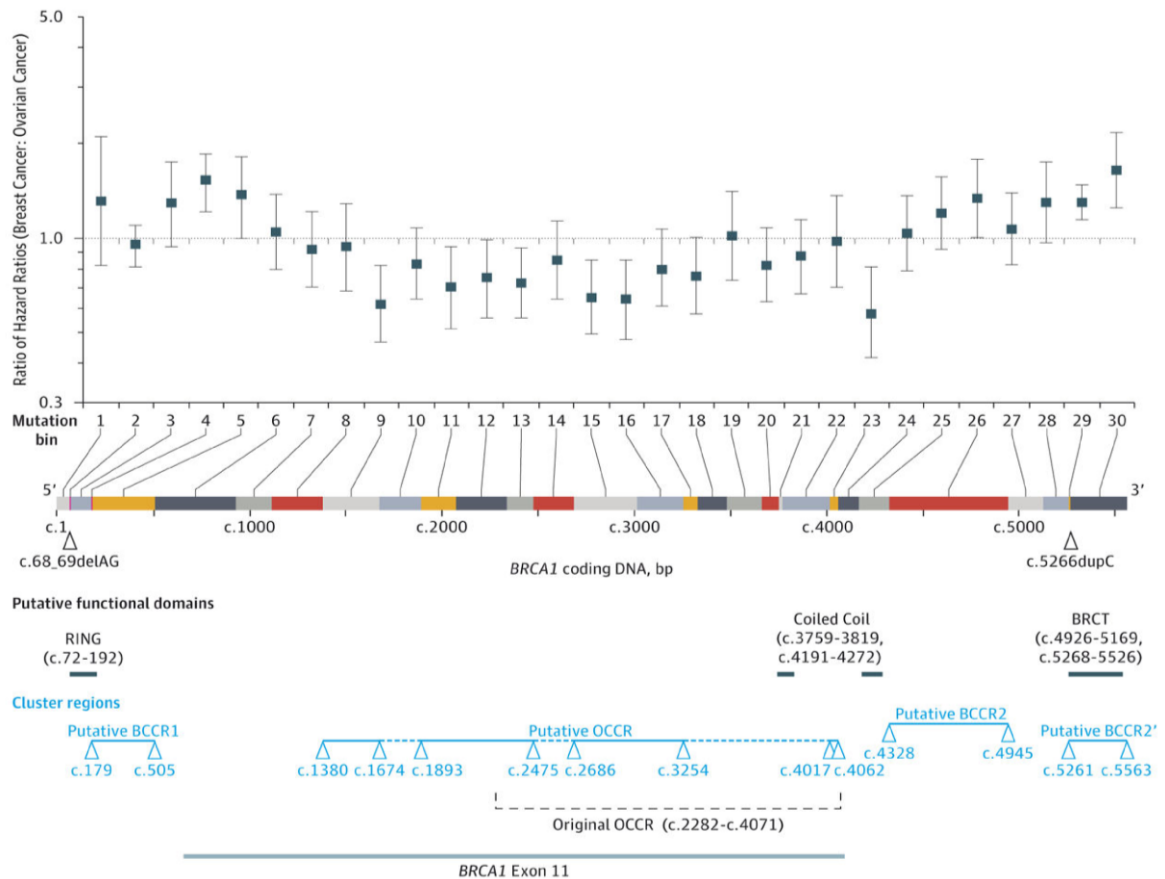
Hiện tại, không có khối u lành tính hoặc bất thường thể chất nào được cho là có liên quan đến các biến thể gây bệnh ở *BRCA1* hoặc *BRCA2*.

#### 1.2.5.2. Nguy cơ mắc ung thư phụ thuộc đặc điểm đột biến

##### a. Vị trí đột biến

Nguy cơ mắc UTBT và UT vú còn phụ thuộc vào vị trí của các ĐB. Một vùng cụm UTBT (ovarian cancer cluster region–OCCR) – là vùng tập trung các ĐB mà ở đó nguy cơ UTBT tăng cao hơn, và nguy cơ UT vú giảm thấp

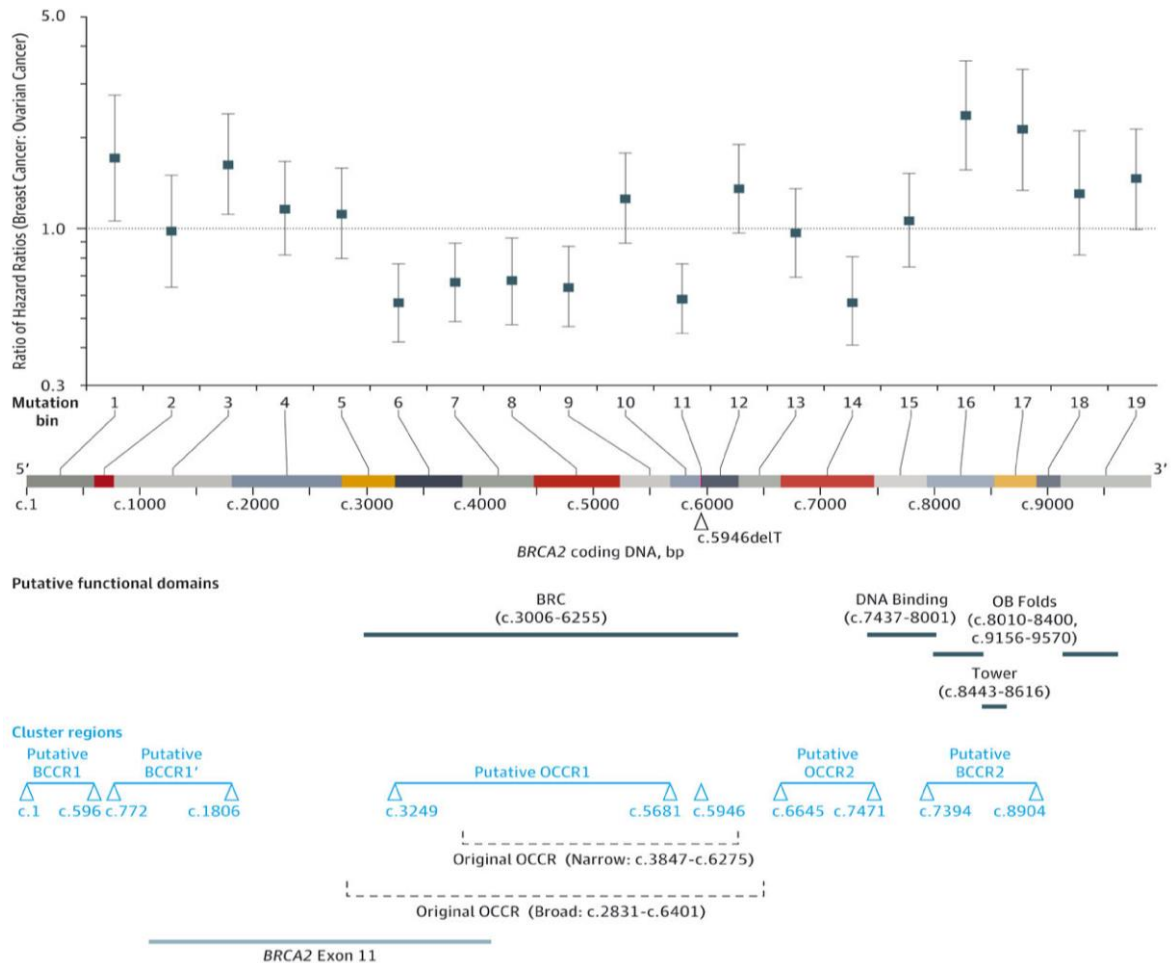
xuống hơn các vùng khác. Điều này được xác định bằng tỉ số hazard ratio UT vú/hazard ratio UTBT (Ratio of Hazard ratio -RHR). Khi  $RHR_{UT\ vú/UTBT} < 1,0$  được xác định cho vùng cụm UTBT và ngược lại khi  $RHR_{UT\ vú/UTBT} > 1,0$  thì vùng đó là vùng cụm UT vú (breast cancer cluster region – BCCR). Gayther và Thompson báo cáo về nguy cơ UTBT cao hơn và nguy cơ UT vú thấp hơn ở exon 11 cả *BRCA1* và *BRCA2* so với những vùng khác. Giả thiết là các ĐB cắt ngắn protein *BRCA1/2* ở exon 11 gây ra phân rã mRNA vô nghĩa gián tiếp (nonsense-mediated messenger RNA decay – NMD) có kích thước lớn hơn những ĐB cắt ngắn ở những exon nhỏ hơn.



**Hình 1.5. Tỉ số Hazard ratio của UT vú và UTBT theo vị trí ĐB trên *BRCA1*.**

Nghiên cứu gộp 55 trung tâm từ 33 quốc gia với hơn 30 000 người mang ĐB *BRCA1/2*, tìm thấy trên gen *BRCA1* 01 vùng cụm UTBT (**OCCR**: c.1380 - c.4062 khoảng exon 11) và 03 vùng cụm UT vú (**BCCR1**: c.179 -

c.505; **BCCR2**: c.4328 – c.4945; **BRCC23**: c.4926-c.5169 & c5261- c5563), còn trên **BRCA2** có 3 vùng cụm UTBT (**OCCR1**: c.3249-c.5681; **OCCR2**: c.6645-c.7471; **OCCR gốc** từ các báo cáo trước c.2831-c.6401) và 3 vùng cụm UT vú (**BCCR1**:c.1–c.596; **BCCR1'**:c.772-c.1806; **BCCR2**:c.7394-c.8904) (Hình 1.5 và Hình 1.6).<sup>80</sup>



**Hình 1.6. Tỷ số Hazard ratio của UT vú và UTBT theo vị trí ĐB trên BRCA2.**

## b. Dạng đột biến

Ngoài ra, Rebbeck còn tìm ra mối liên quan giữa nguy cơ gây UTBT với các dạng ĐB. Trong Bảng 1.5 ở cả **BRCA1** và **BRCA2**, so sánh với những ĐB vô nghĩa ở exon 11, thì các nhóm ĐB còn lại đều có nguy cơ UT vú cao hơn ( $HR > 1,0$ ) và nguy cơ UTBT ( $HR < 1,0$ ) thấp hơn.<sup>80</sup>



**Bảng 1.5. Vị trí và loại đột biến liên quan nguy cơ UT vú, UTBT**

Nhóm	Mô tả	Dạng ĐB	NMD	Protein	UT vú HR (CI95%)	UTBT HR (CI95%)
<b>BRCA1</b>						
a	ĐB vô nghĩa Exon 11	N	Có	Không	1 [Ref]	1 [Ref]
1	NMD	F, OF-G, OF-S, N	Có	Không	1.20 (1.08–1.33)	0.94 (0.80–1.11)
2	Tất cả ĐB stopcodon sớm	F, OF-G, OF-S, N	Có	Không	1.25 (1.12–1.38)	0.93 (0.79–1.09)
3	ĐB trước c.297 ATG (tái khởi động sao mã)	F, N	Không	Không	1.40 (1.12–1.74)	0.66 (0.46–0.95)
4	Không kết thúc sớm	M, IF, G, IF-S, F	Không	Có	1.51 (1.34–1.70)	0.73 (0.61–0.88)
5	Tất cả ĐB “người sáng lập”	F			1.41 (1.23–1.61)	0.72 (0.60–0.88)
5a	ĐB “người sáng lập” c.68_69delAG	F		Không	1.14 (0.94–1.38)	0.67 (0.51–0.87)
5b	ĐB “người sáng lập” c.5266dupC	F		Có	1.63 (1.41–1.89)	0.73 (0.57–0.92)
6	Tất cả ĐB sai nghĩa	M		Có	1.40 (1.20–1.64)	0.73 (0.57–0.92)
6a	ĐB sai nghĩa ở RING domain (c.72–192)	M		Có	1.56 (1.32–1.84)	0.73 (0.56–0.96)
6b	ĐB sai nghĩa ở BRCT domain (c.4866–5325)	M		Có	1.09 (0.82–1.45)	0.72 (0.48–1.09)
7	ĐB sai nghĩa và ĐB xóa trong khung	M+IF, IF- S, IF-G		Có	1.42 (1.22–1.66)	0.71 (0.56–0.91)
8	ĐB xóa (splice, xóa 1 codon, xóa đoạn lớn)	IF, IF-S, IF-G		Có	2.41 (1.41–4.11)	0.51 (0.15–1.76)
9	Tất cả ĐB stop codon sớm không gây NMD	F, OF-S, OF-G,N	Không	Có	1.58 (1.38–1.80)	0.74 (0.60–0.91)
<b>BRCA2</b>						
a	ĐB vô nghĩa Exon 11	N	Có	Không	1 [Ref]	1 [Ref]
1	NMD	F,OF-G, OF-S,N	Có	Không	1.10 (0.95–1.27)	0.78 (0.56–1.08)
2	Không có stopcodon sớm	IF-S, IF-F, NS	Không	Có	1.35 (0.92–1.97)	0.34 (0.13–0.88)
3	Xóa trong khung (Cắt, dịch khung)	IF-F, IF-S	Không	Có	1.41 (0.85–2.35)	0.26 (0.08–0.88)
4	Stopcodon sớm exon cuối không gây NMD	F, N	Không	Có	1.32 (0.79–2.19)	0.51 (0.13–2.09)
5	ĐB “người sáng lập” c.5946delT				0.79 (0.60–1.03)	0.77 (0.46–1.32)

*F* (frame shift) -dịch khung; *G* (genomic rearrangement)–tái sắp xếp bộ gen; *IF* (in-frame)–trong khung; *NMD* (nonsense-mediated mRNA decay)–phân rã mRNA vô nghĩa gián tiếp; *N* (nonsense)–vô nghĩa; *M* (missense) –sai nghĩa; *OF* (out of frame) – ngoài khung; *S* (splicing) – vị trí cắt.

### c. Vị trí chức năng

**Bảng 1.6** Nguy cơ mắc UTBT và UT vú liên quan đến vị trí gắn đặc biệt

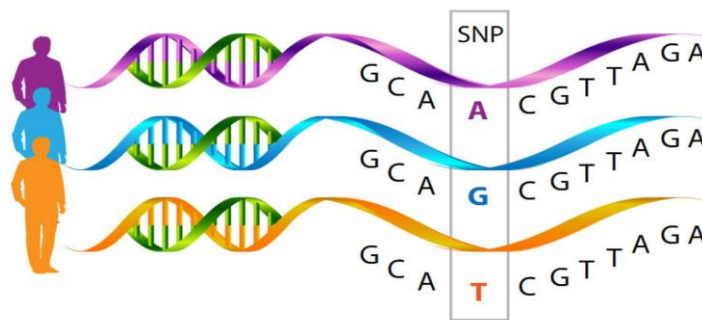
Gene	Miền	Protein tương tác	Vị trí	UT vú (Mang ĐB/ Không mang ĐB)		UTBT (Mang ĐB/ Không mang ĐB)	
				HR(CI95%)	p	HR (CI95%)	p
<i>BRCA1</i>	RING	BARD1	c.72–192	1.13 (1.02–1.26)	0.04	0.81 (0.67–0.97)	0.07
	Coiled coil	PALB2	c.3759–3819, c.4191–4272	1.20 (0.93–1.54)	0.16	0.97 (0.62–1.50)	0.88
	BRCT	BACH1	c.4926–5169, c.5268–5526	1.26 (1.15–1.38)	<0.001	0.86 (0.74–1.01)	0.09
<i>BRCA2</i>	BRC	<i>RAD51</i>	c.3006–3108, c.3636–3738, c.4263–4365, c.4551–4653, c.4992–5094, c.5511–5613, c.5913–6015, c.6153–6255	0.67 (0.56–0.79)	<0.001	1.09 (0.78–1.53)	0.77
	Gắn DNA		c.7437–8001	1.17 (0.99–1.38)	0.08	1.06 (0.71–1.59)	0.77
	OB folds	ssDNA	c.8010–8400, c.9156–9570	1.18 (1.01–1.37)	0.07	0.57 (0.39–0.84)	0.02
	Tower	<i>RAD51</i>	c.8443–8616	1.20 (0.92–1.56)	0.19	0.42 (0.18–1.00)	0.10

Tùy thuộc vào vị trí các ĐB ở các vùng chức năng quan trọng như tương tác với các protein khác trong thực hiện vai trò của protein *BRCA1* và *BRCA2*, cũng ảnh hưởng lên nguy cơ mắc UTBT và UT vú (Bảng 1.6).<sup>80</sup> Thí dụ các ĐB có vị trí ở các đoạn lặp lại BRC gen *BRCA2* nơi ảnh hưởng tương tác với protein *RAD51* thì có liên quan đến nguy cơ mắc UT vú thấp hơn và nguy cơ mắc UTBT cao hơn những ĐB nằm ngoài những đoạn lặp BRC này.<sup>80</sup>

### 1.3. Đa hình đơn nucleotide *RAD51*, *XRCC3* liên quan đến UTBT

#### 1.3.1. Đa hình đơn nucleotide

Đa hình đơn nucleotide (single nucleotide polymorphisms – SNP) là loại biến đổi di truyền phổ biến nhất, khi có thay thế một nucleotide đơn tại một vị trí cụ thể trong bộ gen giữa các cá thể của một loài. Điều này tạo nên sự đa hình thái của các gen.<sup>81</sup> Ví dụ, tại cùng 1 vị trí trong một đoạn DNA lại có thể là Adenin (A), Guanine (G) hay Thymin (T).



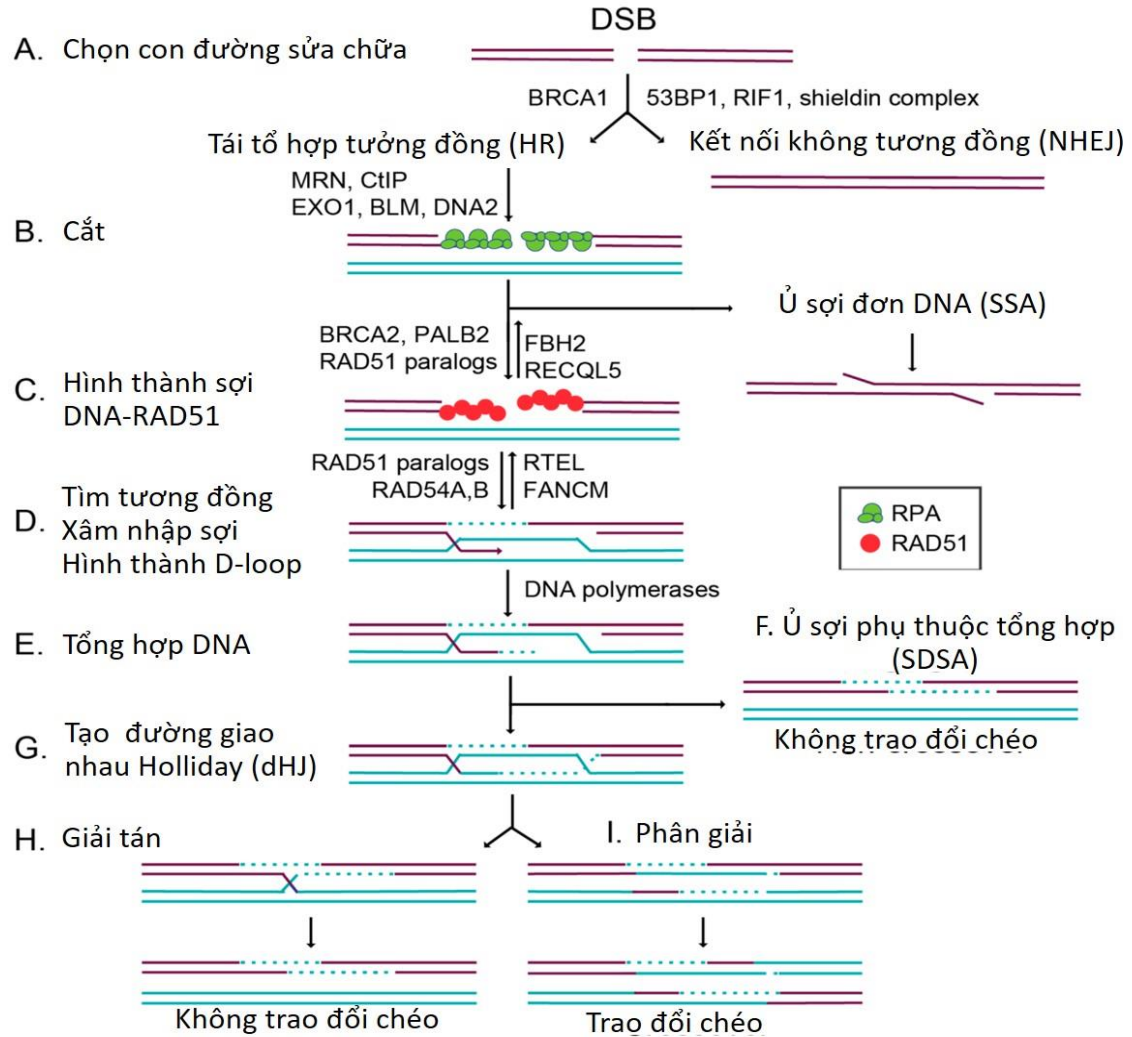
**Hình 1.7. Hiện tượng đa hình đơn nucleotide**

Đa hình đơn nucleotide là một hiện tượng phổ biến, được coi là hậu quả của những ĐB điểm thay thế một cặp nucleotide. Để phân biệt ĐB và SNP thì người ta dựa vào tần số xuất hiện trong cộng đồng. Nếu những ĐB xuất hiện >1% trong quần thể dân cư thì được coi là SNP. Theo dữ liệu của NCBI tính đến 2020 có hơn 1 tỉ SNP trong bộ gen người. Các SNP có tính chủng tộc, nên cùng một SNP nhưng tỉ lệ các biến thể khác nhau giữa quần thể. Thậm chí có những SNP có và không có trong bộ gen của một số chủng tộc.<sup>81</sup>

#### 1.3.2 Đa hình đơn nucleotide một số gen liên quan đến UTBT

Nguyên nhân của UTBT chưa được hiểu đầy đủ, nhưng cả quan sát dịch tễ học và sinh học đều cho thấy sự rụng trứng có thể đóng vai trò trong phát triển UTBT. Trong quá trình rụng trứng, biểu mô bề mặt buồng trứng bị tan ra do enzyme để giải phóng noãn và tổn thương sẽ được sửa chữa ngay sau đó. Sự rụng trứng lặp đi lặp lại làm tăng tần số phân chia tế bào biểu mô, do đó làm tăng

sự sao chép DNA và có thể gây ra tổn thương đứt gãy sợi đôi DNA. Các tổn thương được nhận diện và sửa chữa để ngăn chặn sự tích tụ ĐB gây UT.<sup>82</sup>



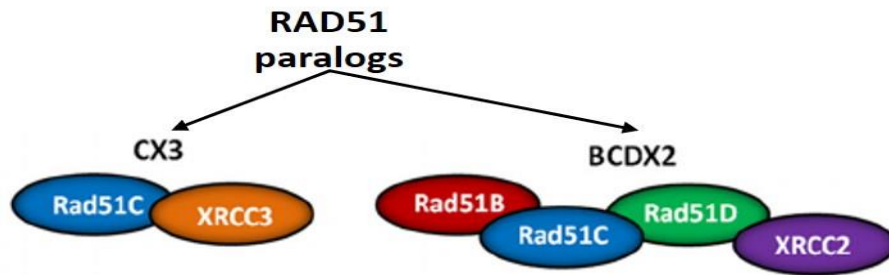
**Hình 1.8. Cơ chế sửa chữa đứt gãy sợi đôi DNA bằng tái tổ hợp tương đồng**

Nguồn: *Genes* (2018), 9(12)<sup>83</sup>

Việc sửa chữa đứt gãy sợi đôi DNA (DSB -double strand break) được kiểm soát bởi 2 con đường khác nhau: tái tổ hợp tương đồng (homologous recombination- HR) và kết nối không tương đồng (non-homologous end-joining- NHEJ). Trong HR, sợi bị hỏng được sửa chữa bằng cách sử dụng chromosome tương đồng như một khuôn mẫu, còn trong NHEJ các sợi bị hỏng được kết hợp chặt chẽ với nhau tại một vị trí tương đồng vi mô. Các gen tham gia vào HR gồm *RAD51*, *RAD52*, *BRCA1*, *BRCA2*, *XRCC2* và *XRCC3*...

Sự tái tổ hợp tương đồng (HR) được xem là cơ chế chính cho việc sửa chữa đứt gãy sợi đôi DNA (DSB) với sự tham gia của protein *BRCA1* và *BRCA2*. *RAD51* có mặt ở cả 3 giai đoạn của HR: trước tiếp hợp, tiếp hợp, và sau tiếp hợp (presynapsis, synapsis và postsynapsis). Xuất hiện tổn thương DNA được nhận biết và lựa chọn con đường sửa chữa với sự tham gia của các protein *BRCA1* hay 53BP1, RIF1, shieldin complex (Hình 1.8-A). Con đường HR bắt đầu bằng cắt bỏ ngắn hạn và dài hạn đầu DNA gián tiếp bằng MRN/CtIP liên kết với EXO1 hoặc BLM và DNA2 (Hình 1.8-B). Các đầu 3' sợi đơn DNA được bao phủ bởi phức hợp protein sao chép A (RPA), đảm bảo đầu sợi đơn không bị thoái hóa và tránh hình thành những cấu trúc thứ cấp. (C) *RAD51* thay thế RPA để tạo thành sợi tiền tiếp hợp (Hình 1.8-C). Các sợi đơn DNA gắn *RAD51* tìm kiếm vị trí tương đồng để xâm nhập và thay thế 1 sợi đơn DNA khuôn mẫu tương đồng để tạo thành 1 vòng D-loop (Hình 1.8-D). Giai đoạn này có sự tham gia của các protein họ *RAD51* (*RAD51* paralogs). Trong HR chuẩn, cấu trúc này cho phép ghép nối sợi bị đứt với sợi bị dịch chuyển để tạo thành dị vòng (heteroduplex), và sự tổng hợp DNA sẽ khôi phục bất kỳ nucleotide nào bị thiếu tại vị trí đứt gãy (Hình 1.8-E). Sau đó việc bắt lấy đầu thứ hai dẫn đến hình thành đường giao nhau kép Holliday (dHJ) (Hình 1.8-G). Trạng thái trung gian này được giải tán (dissolution) không có trao đổi chéo (Hình 1.8-H) hoặc phân giải (resolution) với sự trao đổi chéo (Hình 1.8-I). Ngoài ra quá trình ủ sợi phụ thuộc tổng hợp (SDSA-Synthesis dependent strand annealing) xảy ra sự xâm lấn 1 đầu sợi đơn DNA hình thành liên kết Holliday đơn, và gián tiếp giải tán thành sản phẩm không trao đổi chéo (Hình 1.8-F).<sup>83</sup>

Các *RAD51* paralogs tham gia tái tổ hợp tương đồng gồm 5 protein kết hợp trong 2 phức hợp là CX3 (*RAD51*, *XRCC3*) và BCDX2 (*RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D* và *XRRCC2*) (Hình 1.9).



**Hình 1.9. Các protein họ RAD51 (RAD51 paralogs)**

Phức hợp CX3 liên kết với cấu trúc Holliday để tham gia vào quá trình cấu trúc lại các vùng gen tương đồng, làm ổn định các chuyển đổi gen tại đây. Trong khi đó, phức hợp BCDX2 chịu trách nhiệm cho sự liên kết của *RAD51* với các vùng DNA tổn thương. Phức hợp BCDX2 có thể đã hoạt động bằng cách tạo điều kiện cho sự gắn kết hoặc ổn định của sợi nucleoprotein *RAD51*.

Gen *RAD51* và *XRCC3* đóng vai trò quan trọng trong cơ chế sửa chữa tổn thương DNA bằng tái tổ hợp tương đồng. Các SNP của hai gen này có thể thay đổi sự biểu hiện của gen và ảnh hưởng lên tính nhạy cảm với UT nói chung. Một số nghiên cứu gần đây báo cáo rằng một số SNP gen *RAD51* và gen *XRCC3* ảnh hưởng đến nguy cơ mắc UTBT.<sup>6-10,84,85</sup>

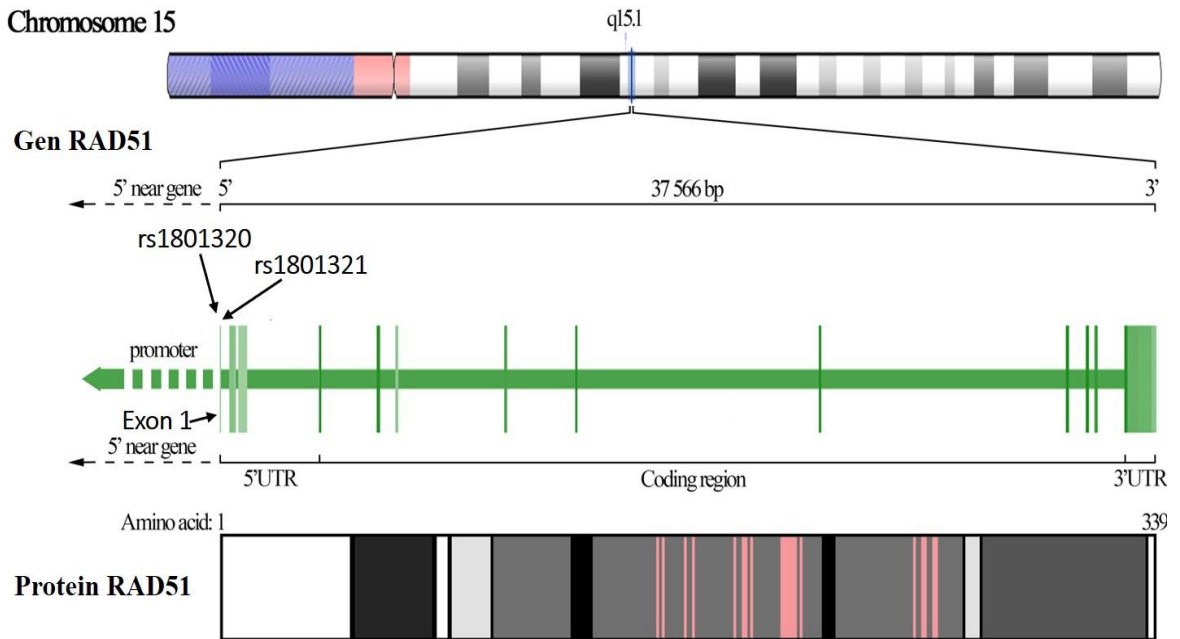
### **1.3.3. Đa hình đơn nucleotide gen *RAD51* liên quan đến UTBT**

Gen *RAD51* có vị trí 15q15.1 (cánh dài nhiễm sắc thể 15, vùng 1, băng 5, băng phụ 1), bắt đầu từ cặp base 40.694.774 và kết thúc ở cặp base 40.732.340. Gen gồm 37.567 cặp base và có 14 exon. mRNA của gen *RAD51* có kích thước 2255 bp. Protein *RAD51* có 339 acid amin, khối lượng 36.966Da.<sup>86</sup>

Hai SNP phổ biến của *RAD51* là rs1801320 và rs1801321 này đã được nghiên cứu như là yếu tố nguy cơ cho các bệnh UT khác nhau như vú, thanh quản, UT đại trực tràng và UTBT... (Hình 1.10).

- SNP *RAD51*-rs1801320 (135G>C) nằm trên vùng 5'UTR (untranslated region – vùng không phiên mã) exon 1, có sự biến đổi nucleotide Guanine (G) sang Cytosine (C) ở vị trí 40.695.330.<sup>87</sup>

- SNP *RAD51*-rs1801321 (172G>T) cũng nằm trên vùng 5'UTR exon 1, có sự biến đổi nucleotide Guanine (G) sang Thymine (T) ở vị trí 40.695.367.<sup>88</sup>



**Hình 1.10. Vị trí các SNP trên gen và protein *RAD51***

Nguồn: *PloS ONE*, 2020; 15(1)<sup>89</sup>

Cả hai SNP đều nằm trong vùng giới hạn không phiên mã hóa đầu 5', đã được báo cáo là có liên quan đến thay đổi quá trình phiên mã gen và sự biểu hiện của RNA thông tin.

#### **1.3.4. Đa hình đơn nucleotide gen *XRCC3* liên quan đến UTBT**

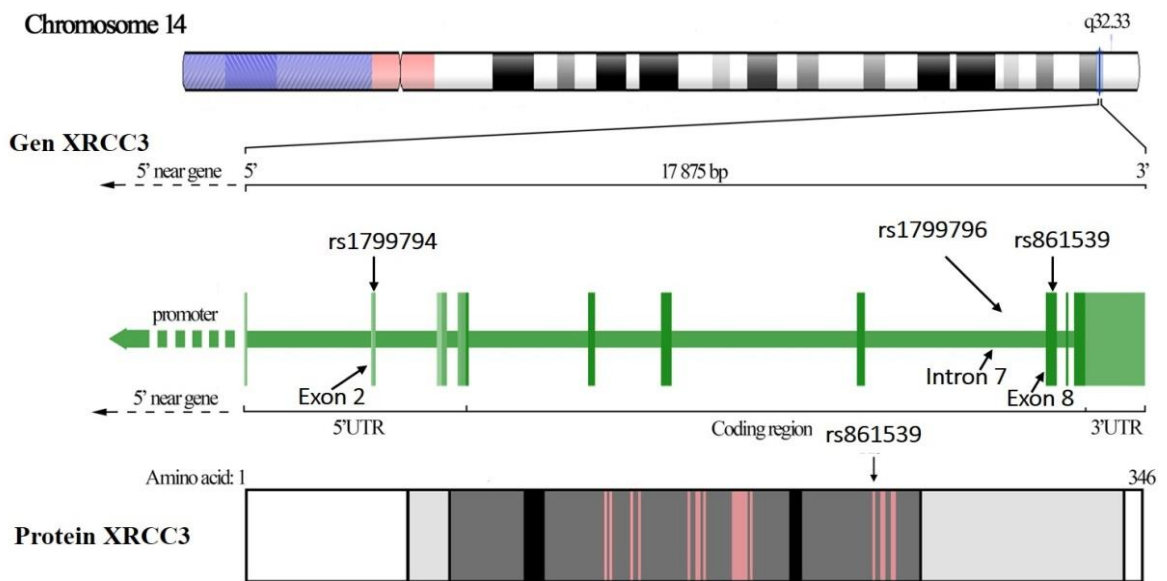
Gen *XRCC3* nằm ở vị trí 14q32.33 (cánh dài nhiễm sắc thể 14, vùng 3, băng 2, băng phụ 33), bắt đầu từ cặp base 103.697.611 và kết thúc ở cặp base 103.715.486 với kích thước 17.896 bp, 10 exon quy định tổng hợp nên phân tử mRNA 2574bp, sau quá trình dịch mã tạo ra phân tử protein *XRCC3* với 346 acid amin có trọng lượng phân tử 37850Da.<sup>90</sup> Protein của nó tham gia vào quá trình tái tổ hợp tương đồng duy trì sự ổn định hệ gen.

Các SNP gen *XRCC3* như rs861539, rs1799794 và rs1799796 được nhiều nghiên cứu báo cáo có liên quan đến nguy cơ mắc các UT như UT đại trực tràng, UTBT, UT vùng đầu cổ, UT vú (Hình 1.11).

- SNP *XRCC3*-rs861539 nằm trên exon 8, ở vị trí 103699416 có nucleotide Cytosine (C) biến đổi thành Thymine (T) làm biến đổi Threonine thành Methionine trên phân tử protein *XRCC3*.<sup>91</sup>

- SNP *XRCC3*-rs1799794 nằm trên vùng 5'UTR exon 2 ở vị trí 103712930 có nucleotide Adenin (A) biến đổi thành Guanine (G).<sup>92</sup>

- SNP *XRCC3*-rs1799796 nằm trên intron 7 ở vị trí 103699590, có nucleotide Adenine (A) biến đổi thành Guanine (G).<sup>93</sup>



**Hình 1.11. Vị trí các SNP trên gen và protein *XRCC3***

Nguồn: *PloS ONE*, 2020; 15(1)<sup>89</sup>

Các SNP này ảnh hưởng trực tiếp lên cấu trúc protein *XRCC3* hoặc gián tiếp điều hòa sự biểu hiện của gen *XRCC3*, dẫn đến thay đổi quá trình tái tổ hợp tương đồng sửa chữa tổn thương DNA.



## 1.4. Tình hình nghiên cứu trong nước và ngoài nước

### 1.4.1. Tình hình nghiên cứu ngoài nước

#### 1.4.1.1. Đột biến gen *BRCA1* và *BRCA2* với UTBT

Nghiên cứu về ĐB gen *BRCA1/2* chủ yếu tập trung ở các nước Châu Âu, Mỹ... Đối với quần thể châu Á, phần lớn số liệu ĐB *BRCA1/2* dựa trên các nghiên cứu phả hệ và ca bệnh. Tuy nhiên những nghiên cứu trên nhóm bệnh này chưa đủ phản ánh được tỉ lệ mắc ĐB của các quần thể.

Tỉ lệ các biến thể có liên quan đến hội chứng HBOC là 66% trên *BRCA1* và 34% trên *BRCA2*<sup>61</sup>. Tần số ĐB *BRCA1/2* trong dân số chung khoảng 1/400-1/800.<sup>62</sup> Sekine (2021) khảo sát các nghiên cứu về ĐB *BRCA1/2* ở bệnh nhân UTBT, báo cáo tỉ lệ ĐB *BRCA1/2* ở bệnh nhân UTBT khoảng 5%- 30%, phụ thuộc vào từng cộng đồng (Bảng 1.2).<sup>63</sup>

Nguy cơ mắc UTBT liên quan *BRCA1/2* lần đầu được ước tính trong các nghiên cứu của Easton (1995) và Ford (1998) cho thấy nguy cơ UTBT đến 70 tuổi của người mang ĐB *BRCA1* là 63%, *BRCA2* là 27%.<sup>67,71</sup> Các nghiên cứu sau đó cho nguy cơ thấp hơn. Trong nghiên cứu 676 gia đình Do thái Ashkenazi và 1272 gia đình các chủng tộc khác tại Hoa kỳ, Chen (2006) ước tính nguy cơ UTBT đến tuổi 70 ở người có ĐB *BRCA1* là 39%.<sup>68</sup> Satagopan (2002) tìm thấy nguy cơ UTBT ở tuổi 70 ở người có ĐB *BRCA1* là 37% và *BRCA2*-21%.<sup>69</sup> Nghiên cứu thuần tập với 978 người có ĐB *BRCA1* và 909 người có ĐB *BRCA2* từ Anh, Mavaddat (2013) ước tính nguy cơ UTBT đến 70 tuổi của ĐB *BRCA1* là 59%, *BRCA2* là 16,5%.<sup>72</sup>

Các nghiên cứu về khả năng sống sót của bệnh nhân UTBT mang ĐB *BRCA1/2* đưa ra kết quả chưa đồng nhất. Một phân tích tổng hợp 26 nghiên cứu cho thấy tỷ lệ sống sót cao hơn ở bệnh nhân UTBT mang ĐB *BRCA1/2* so với bệnh nhân không mang ĐB (*BRCA1*: HR=0,78, CI95%=0,68-0,89; *BRCA2*: HR=0,61, CI95%=0,50-0,76). Xu hướng này vẫn tồn tại khi phân tích theo giai đoạn bệnh, cấp độ, mô học và tuổi khi chẩn đoán của hai

nhóm.<sup>94</sup> Một nghiên cứu bệnh chứng dựa trên dân số lớn cho thấy khả năng đáp ứng điều trị cao hơn với Platinum, thời gian sống thêm (UT không tiến triển) lâu hơn và cải thiện khả năng sống sót tổng thể ở những bệnh nhân UTBT có ĐB *BRCA1/2*.<sup>95</sup> Những bệnh nhân UTBT biểu mô nhạy cảm với platinum khả năng mang ĐB cao hơn những bệnh nhân kém đáp ứng.<sup>96</sup> Trong một loạt ghi nhận lớn không chọn lọc các bệnh nhân UTBT, khả năng sống sót ngắn hạn của bệnh nhân có ĐB tốt hơn so với bệnh nhân không có ĐB, tuy nhiên, lợi thế khả năng sống sót chỉ trong thời gian ngắn và không mang đến lợi ích lâu dài.<sup>97</sup>

#### 1.4.1.2. Đa hình đơn nucleotide gen *RAD51* và *XRCC3* với UTBT

Nhiều nghiên cứu trên thế giới cho thấy có những mối liên quan giữa hai SNP gen *RAD51* là rs1801320 và rs1801321) với nguy cơ UTBT. Trong nghiên cứu ở những phụ nữ do thái Ashkenazi của Levy-Lahad (2001) đã chỉ ra mối liên quan giữa SNP *RAD51*-rs1801320 với UTBT và UT vú, nhưng chỉ làm tăng nguy cơ mắc hai UT này ở những người mang ĐB *BRCA2*, mà không có mối liên quan ở những người mang ĐB *BRCA1*.<sup>98</sup> Nghiên cứu Rebbeck (2011) với quy mô đa trung tâm cũng có cùng nhận định về mối liên quan của SNP này với UTBT ở người mang ĐB *BRCA2*.<sup>99</sup> Wang (2001) nghiên cứu trên những phụ nữ Israeli mắc UT vú và/hoặc UTBT thì chỉ ra SNP rs1801320 làm tăng nguy cơ mắc UT vú nhưng lại làm giảm nguy cơ mắc UTBT trong khi rs1801321 không liên quan đến UT vú và UTBT.<sup>10</sup> Còn trong hai nghiên cứu của Smolarz (2013) và Romanowicz-Makowska (2012) đều chỉ ra SNP rs1801320 với kiểu gen CC làm tăng nguy cơ UTBT ở phụ nữ Ba Lan, tuy nhiên SNP rs1801321 không liên quan với nguy cơ UTBT.<sup>84,100</sup>

Theo nghiên cứu của Michalska (2016) SNP *XRCC3*-rs861539 có mối liên quan với nguy cơ mắc UTBT ở phụ nữ Ba Lan chỉ đối với UTBT cấp độ I mô học.<sup>101</sup> Trong khi Yuan (2014) khi phân tích gộp các nghiên cứu trên cộng

đồng người da trắng đã quan sát thấy mối tương quan có ý nghĩa thống kê của 2 SNP rs1799796 và rs1799794 với nguy cơ UTBT, tuy nhiên SNP rs861539 lại không liên quan với nguy cơ UTBT.<sup>7</sup> Theo nghiên cứu của Auranen, qua phân tích 1600 ca bệnh và 4241 chứng, chỉ phân tích type UTBT thể thanh dịch, SNP rs1799796 vai trò làm giảm nguy cơ, còn đối với SNP rs1799794 và rs861539 thì không tìm thấy mối liên quan.<sup>6</sup> Nghiên cứu của Quaye (2009) cho rằng SNP rs1799796 không liên quan đến nguy cơ UTBT.<sup>85</sup>

#### **1.4.2. Tình hình nghiên cứu trong nước**

##### **1.4.2.1. Đột biến gen *BRCA1* và *BRCA2* với UTBT**

Nghiên cứu về ĐB *BRCA1/2* bắt đầu trong vài năm gần đây, chủ yếu chỉ trên các bệnh nhân UT vú. Lê Thị Minh Chính (2004) nghiên cứu ĐB *BRCA1/2* ở 24 bệnh nhân UT vú ngẫu nhiên tại bệnh viện K Hà Nội, không phát hiện ĐB 185delAG và 6174delT.<sup>102</sup> Ginsburg (2010) nghiên cứu 292 ca UT vú ngẫu nhiên người Việt Nam, chỉ phát hiện 2 trong 259 người có ĐB: 1 ĐB *BRCA1* và 1 ĐB *BRCA2*. 2 trường hợp này không có tiền sử gia đình mắc UT vú hay UTBT.<sup>103</sup> Hoàng Anh Vũ (2010) nghiên cứu 50 trường hợp, trong đó 26 bệnh nhân hoặc mắc UT vú sớm (trước 40 tuổi) hoặc có tiền sử gia đình (có ít nhất 1 người bị UT vú); 24 người chưa mắc UT thuộc 2 gia đình UT vú. Kết quả phát hiện 18 kiểu thay đổi kiểu gen của *BRCA1*, trong đó có 2 ĐB gây UT vú là R1751X và 1792X.<sup>104</sup> Tạ Văn Tờ (2010) nghiên cứu 150 bệnh nhân UT vú không phát hiện ĐB *BRCA1*:185delAG và *BRCA2*:6174delT, tuy nhiên có 3 trong số 150 bệnh nhân UT vú mang ĐB *BRCA1*:5382insC, chiếm 2%. Và phát hiện 2 ĐB mới là 93957T>A và 160920C>G trên *BRCA1*.<sup>105</sup> Nguyễn Thị Ngọc Lan (2012) nghiên cứu trên 10 bệnh nhân UTBT với hội chứng HBOC phát hiện 1 ĐB mới, chưa công bố trên BIC là *BRCA1*:c.3042delA. Ngoài ra xác định được các ĐB P871L, E1038G, S694= của gen *BRCA1* đều làm tăng nguy cơ UT vú, UTBT, riêng ĐB K1183R làm giảm nguy cơ UT.<sup>106</sup>

#### *1.4.2.2. Đa hình đơn nucleotide gen RAD51 và XRCC3 với UTBT*

Các nghiên cứu trong nước về đa hình đơn nucleotide liên quan đến UTBT vẫn còn rất hạn chế. Nguyễn Thị Hải Phương (2017) nghiên cứu trên 103 bệnh nhân UTBT và 103 đối chứng tìm mối liên quan của SNP *XRCC3*-rs1799796 với UTBT, thấy sự phân bố kiểu gen khác nhau giữa 2 nhóm bệnh và nhóm chứng, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê.<sup>107</sup> Nguyễn Thị Thu Lê (2020) nghiên cứu trên 100 bệnh nhân UTBT và 100 đối chứng báo cáo có mối liên quan giữa SNP *RAD51*-rs1801320 với nguy cơ UTBT, kiểu gen CC làm tăng nguy cơ UTBT.<sup>108</sup>

## CHƯƠNG 2 ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

**Mục tiêu 1** - Xác định đột biến gen *BRCA1*, *BRCA2* ở bệnh nhân ung thư buồng trứng và mối liên quan với mô bệnh học.

20 bệnh nhân được chẩn đoán xác định ung thư buồng trứng bằng kết quả xét nghiệm mô bệnh học, và có một hoặc cả hai tiêu chí của Hội chứng ung thư vú – ung thư buồng trứng di truyền sau:

- Có tiền sử mắc ung thư vú.
- Có ít nhất một người thân trong gia đình mắc ung thư buồng trứng hoặc/và ung thư vú.

Người nhà những bệnh nhân được xác định có mang đột biến gen *BRCA1* hoặc *BRCA2* được mời tham gia nghiên cứu, xác định đột biến gen *BRCA1/2* như ở bệnh nhân.

**Mục tiêu 2** - Xác định các SNP *RAD51*, *XRCC3* liên quan đến nguy cơ ung thư buồng trứng.

#### ❖ Nhóm bệnh nhân ung thư buồng trứng

- *Tiêu chuẩn lựa chọn*: bệnh nhân được chẩn đoán xác định ung thư buồng trứng bằng kết quả xét nghiệm mô bệnh học điều trị tại Bệnh viện Phụ Sản Trung Ương.

- *Tiêu chuẩn loại trừ*: kèm ung thư khác, không đồng ý tham gia nghiên cứu.

- ❖ *Nhóm chứng*: Những phụ nữ có tiền sử không mắc ung thư buồng trứng hay UT khác đến khám sức khỏe hoặc đến thăm khám điều trị các bệnh lành tính tại Bệnh viện Phụ Sản Trung Ương. Có độ tuổi tương đồng với nhóm bệnh.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

#### *Mục tiêu 1- Xác định đột biến gen BRCA1, BRCA2 trong UTBT*

Tiến hành bằng phương pháp nghiên cứu mô tả cắt ngang. Nhóm mẫu này được thu thập theo phương pháp lấy mẫu thuận tiện. 20 bệnh nhân được chọn thỏa điều kiện được chẩn đoán xác định UTBT bằng kết quả xét nghiệm mô bệnh học và có một hoặc cả hai tiêu chí của Hội chứng ung thư vú – ung thư buồng trứng di truyền sau là tiền sử mắc UT vú và/hoặc có ít nhất một người thân trong gia đình mắc UTBT hoặc/và UT vú. Mời được 17 người thân của những bệnh nhân được xác định có mang ĐB *BRCA1* hoặc *BRCA2* tham gia nghiên cứu để xác định các ĐB như ở bệnh nhân bằng giải trình tự Sanger. Lập sơ đồ di truyền phả hệ.

#### *Mục tiêu 2 - Xác định các SNP RAD51 và XRCC3 liên quan đến nguy cơ UTBT*

Tiến hành bằng phương pháp nghiên cứu bệnh-chứng. Dựa theo kết quả nghiên cứu của Quayle (2009)<sup>85</sup> và công thức tính cỡ mẫu cho nghiên cứu bệnh chứng có ước tính tỉ số nguy cơ (OR):

$$N = \frac{4C}{(\ln OR)^2 p(1-p)}$$

Với sai sót loại 1  $\alpha=0,05$  và sai sót loại 2  $\beta=0,02$  thì hằng số  $C=7,85$  và  $OR=0,65$ ,  $p=0,351$ , ta được  $N= 743$ . Cho nên mỗi nhóm nghiên cứu nên chọn tối thiểu là 372 người. Chúng tôi quyết định chọn 380 người cho mỗi nhóm

### 2.2.2. Các biến số nghiên cứu

**Bảng 2.1 Các biến số nghiên cứu**

STT	Biến số nghiên cứu	Loại biến
Thông tin chung, lâm sàng đối tượng nghiên cứu		
01	Tuổi	Biến định lượng
02	Tuổi tại thời điểm chẩn đoán bệnh UTBT	Biến định lượng
03	Tình trạng kinh nguyệt	Biến nhị giá (còn kinh, mãn kinh)
04	Tuổi có kinh	Biến định lượng
05	Tiền sử mắc ung thư vú	Biến nhị giá (có, không)
06	Tiền sử có người thân mắc UTBT	Biến nhị giá (có, không)
07	Tiền sử có người thân mắc ung thư vú	Biến nhị giá (có, không)
08	Nhóm phân loại UTBT theo mô bệnh học	Biến định danh
09	Giai đoạn bệnh tại thời điểm chẩn đoán	Biến định danh
Mục tiêu 01: Xác định đột biến <i>BRCA1</i> và <i>BRCA2</i>		
10	Tên đột biến (theo thay đổi nucleotide và theo thay đổi acid amin)	Biến định danh
11	Vị trí đột biến	Biến định danh
12	Loại đột biến	Biến định danh
13	Ý nghĩa đột biến	Biến định danh
Mục tiêu 02: Xác định các đa hình đơn nucleotid gen <i>RAD51</i> và <i>XRCC3</i>		
14	Đa hình đơn nucleotide <i>RAD51</i> -rs1801320	Biến định danh
15	Đa hình đơn nucleotide <i>RAD51</i> -rs1801321	Biến định danh
16	Đa hình đơn nucleotide <i>XRCC3</i> -rs816539	Biến định danh
17	Đa hình đơn nucleotide <i>XRCC3</i> -rs1799794	Biến định danh
18	Đa hình đơn nucleotide <i>XRCC3</i> -rs1799796	Biến định danh

### 2.2.3. Dụng cụ, trang thiết bị, hóa chất

#### 2.2.3.1. Dụng cụ, trang thiết bị:

- Ống lấy máu chống đông EDTA, ống Eppendorf (1,5ml, 0,5ml, 0,2ml), găng tay, giấy thấm đã được vô trùng tuyệt đối.
- Pipet, đầu côn được vô trùng các loại
- Tủ lạnh sâu -30°C (ARCTIKO), -80°C (Ultra low SANYO)
- Máy ly tâm (Eppendorf 5424R Centrifuge, E-Centrifuge WEALTEC)
- Máy vortex (Eppendorf MixMate)
- Máy lắc ủ (Eppendorf Thermomixer 5437)
- Máy quang phổ vi định lượng NanoDrop 1000 Thermo Scientific (USA)
- Máy PCR Eppendorf Mastercycler® Pro (Đức)
- Hệ thống điện di gel Thermo Scientific™ Owl™ EasyCast™ B2 (USA)
- Máy soi gel và chụp ảnh tự động (UVP Bio Chemi HP Darkroom)
- Cân điện tử (AB204), lò vi sóng Saiko, tủ ấm GALLENKAMP
- Hệ thống máy giải trình tự Nextseq 550 (Illumina/Mỹ).
- Máy đọc trình tự gen ABI Prism 3100 Genetic Analyzer (USA)
- Các phần mềm: NanoDrop 2000, VisionWorks LS, CLC Main Workbench.

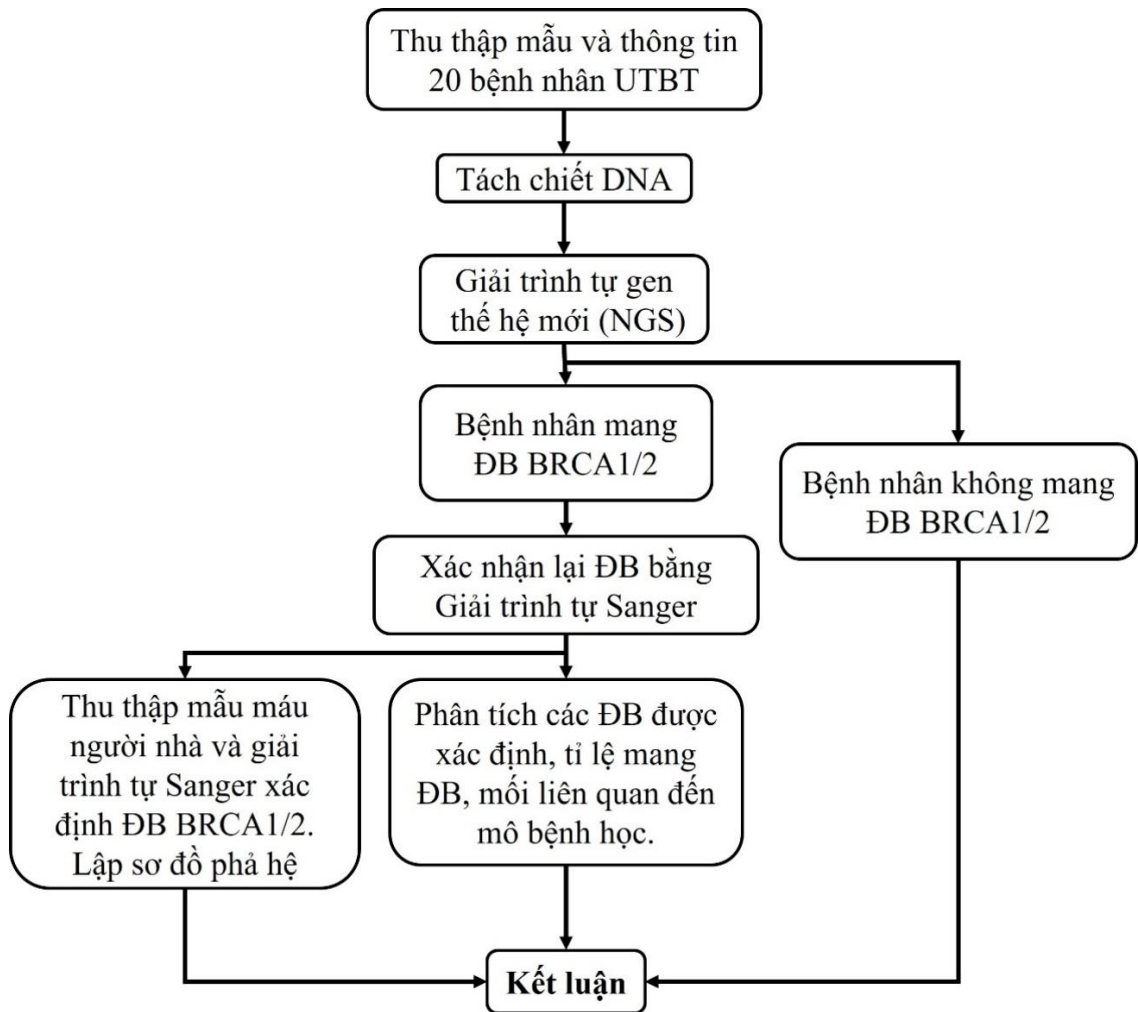
#### 2.2.3.2. Hóa chất:

- Tách chiết DNA theo KIT Promega.
- PCR: nước cất đã khử ion, GoTaq® Green Master Mix Promega (dung dịch đệm, dNTP, Tag DNA polymerase), các cặp mồi đặc hiệu (Bảng 2.3 và Bảng 2.4).
- Điện di sản phẩm PCR: Agarose, dung dịch TBE (Tris – Boric acid - EDTA), Ethidium bromide, loading dye, thang DNA chuẩn (marker 100bp).
- PCR-RFLP: NgoMIV, PvuII, NlaIII, BstNI, FokI, các buffer.
- Hóa chất dùng để chuẩn bị thư viện: NEBNext® Ultra™ II FS DNA Library Prep Kit for Illumina (Biolab); xGen Lockdown Probes and Reagents (IDT).
- Hóa chất giải trình tự: NextSeq 500/550 Mid Output v2 kit (150 cycles).

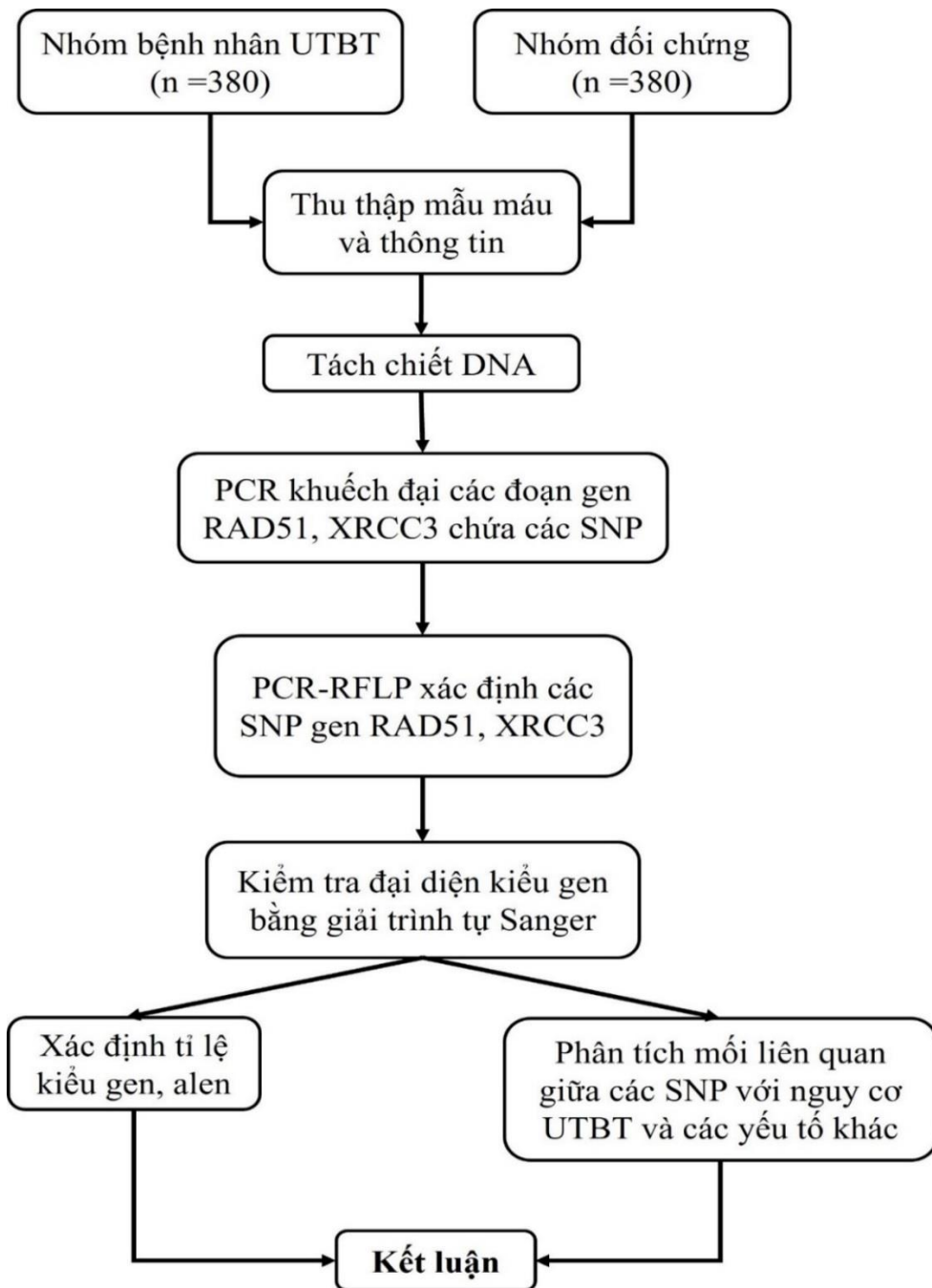


- Giải trình tự: BigDye Terminator v3.0 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) gồm BigDye Terminator v3.0 (dATP, dCTP, dGTP và dUTP), BigDye buffer, cặp môi đặc hiệu, formamide.

#### 2.2.4. Quy trình nghiên cứu



*Sơ đồ 2.1 Quy trình nghiên cứu mục tiêu xác định ĐB BRCA1/2*



**Sơ đồ 2.2 Quy trình nghiên cứu mục tiêu xác định các SNP RAD51, XRCC3**

**2.2.4.1. Thu thập mẫu và thông tin**

- Lựa chọn đối tượng nghiên cứu phù hợp với các tiêu chí chọn mẫu.
- Thu thập các thông tin nghiên cứu qua phỏng vấn và bệnh án của bệnh nhân.
- Thu thập mẫu 2-3 ml máu ngoại vi của mỗi bệnh nhân UTBT, thành viên gia đình cũng như nhóm chứng.

- Mẫu máu được bảo quản ở 4°C trong 1 tuần cho đến khi tách DNA và bảo quản ở -30°C để lưu trữ và tách DNA lại trong quá trình nghiên cứu nếu cần.

2.2.4.2. *Tách DNA từ máu toàn phần với kit Promega theo quy trình (Phụ lục 3)*

2.2.4.3. *Xác định nồng độ và độ tinh sạch của DNA tổng số sau khi tách*

Đo nồng độ và kiểm tra độ tinh sạch của DNA bằng phương pháp đo độ hấp thụ quang tại bước sóng 260nm và 280nm trên máy Nanodrop. Mẫu DNA đạt khi nồng độ từ 20 ng/μl trở lên. Với những mẫu có nồng độ DNA quá cao (>300ng/μl) sẽ được pha loãng để đưa về dưới 100ng/μl. Độ tinh sạch của DNA được đo ở tỷ số A260/A280 và mẫu DNA tinh sạch khi tỉ số từ 1,8-2,0.

2.2.4.4. *Giải trình tự thế hệ mới (NGS) xác định đột biến gen BRCA1/2.*

Giải trình tự thế hệ mới là một bước tiến vượt bậc mang tính cách mạng trong công nghệ giải trình tự. Nếu giải trình tự theo phương pháp của Sanger chỉ cho phép giải trình tự không quá 1500bps, hay pyrosequencing không quá 100bps, thì giải trình tự thế hệ mới cho phép giải được từ 8Gbases đến 600Gbases, có nghĩa là cho phép giải trình tự nguyên bộ gene. Do vậy giải trình tự thế hệ mới còn được gọi là giải trình tự bộ gene (whole genome sequencing). Bao gồm các bước chính:

- Chuẩn bị thư viện và làm giàu phân mảnh DNA: DNA bộ gen sẽ được sử dụng để tạo thư viện bằng bộ kit Ultra II FS library preparation (New England Biolab, Hoa Kỳ) bao gồm các bước: phân mảnh DNA, chỉnh sửa đầu mút, gắn adaptor và được khuếch đại bằng phản ứng PCR (Polymerase Chain Reaction) với số lượng chu kỳ tối ưu theo hướng dẫn của bộ kit.

- Lai và bắt giữ gen mục tiêu: Sản phẩm PCR từ bước tạo thư viện sẽ được tiến hành lai với hỗn hợp mẫu dò (probe) đặc hiệu cho hai gen *BRCA1* và *BRCA2* có gắn biotin ở các mẫu dò. Sau đó sử dụng hạt từ Dynabeads MyOne Streptavidin T1 (ThermoFisher) để bắt giữ phân mảnh DNA các gen trên thông qua tương tác streptavidin-biotin. Phản ứng lai sử dụng hóa chất và thực hiện theo hướng dẫn của bộ kit xGen library hybridization

(IDTDNA, Hoa Kỳ). Mẫu dò được thiết kế dựa trên trình tự mRNA *BRCA1*, *BRCA2* tổng hợp bởi IDTDNA (Hoa Kỳ). Thư viện DNA sau khi được bắt giữ được nhân bản lần 2 bằng PCR để đạt nồng độ cần thiết cho giải trình tự thế hệ mới (10nM).

- Giải trình tự trên hệ thống giải trình tự thế hệ mới NextSeq (Illumina, Hoa Kỳ): Thư viện đạt chuẩn nồng độ trên 10nM được biến tính và giải trình tự bằng kit Nextseq 500/550 High Output trên hệ thống NextSeq 550.

- Phân tích kết quả giải trình tự: Dữ liệu giải trình tự được sao lưu và gửi lên máy chủ để phân tích kết quả. Kết quả giải trình tự thế hệ mới là hàng triệu cặp trình tự DNA có kích thước 75 nucleotit. Từng trình tự DNA được sắp xếp lên bộ gen người chuẩn của Trung tâm Quốc gia Thông tin Công nghệ Sinh học (NCBI - National Center of Biotechnology Information, Hoa Kỳ) để xác định vị trí của trình tự này trên bộ gen người. Vị trí của mỗi trình tự trong cặp trình tự cho phép xác định biến đổi xảy ra trên vùng gen mục tiêu.

#### 2.2.4.5. Quy trình khuếch đại gen (PCR) và điện di sản phẩm PCR

➤ Thực hiện PCR khuếch đại các đoạn gen mang ĐB *BRCA1*, *BRCA2* và các SNP *RAD51*, *XRCC3* với các hóa chất PCR (Bảng 2.2) và các cặp môi đặc hiệu (Bảng 2.3 và Bảng 2.4).

**Bảng 2.2. Thành phần phản ứng PCR**

STT	Thành phần	Thể tích ( $\mu$ l)
1	DNA tổng số	2 (~50ng)
2	Master mix PCR 2X	10
3	Môi xuôi (10 pmol/ $\mu$ l)	0,5
4	Môi ngược (10 pmol/ $\mu$ l)	0,5
5	Nước cất vô trùng	7,0
	Tổng thể tích	20

- Chu kỳ nhiệt của phản ứng PCR: 94°C/3 phút → [94°C/30 giây → 56°C-60°C/30 giây → 72°C - 30 giây] x35 chu kỳ → 72°C/5 phút. Sản phẩm PCR được bảo quản ở 15°C. Nhiệt độ bắt cặp thay đổi từ 56°C - 60°C tùy từng cặp môi.

**Bảng 2.3. Trình tự môi cho phản ứng khuếch đại đoạn gen BRCA1 và BRCA2 mang các đột biến đã được xác định bằng giải trình tự gen thế hệ mới**

Gen	Đột biến	Trình tự primer (5'-3')	Kích thước
<i>BRCA1</i>	c.1016delA	F: 5'-TGATAGGCGGACTCCCAGCA-3' R: 5'-TTGTCTTCAATATTACTCTCT-3'	385 bp
	c.1621C>T	F: 5'-CAAGAGCGTCCCCTCACAAA-3' R: 5'-GCCTGACTGGCATTGGTTG-3'	505 bp
	c.2760-2763 delACAG	F: 5'-GGTTGTTCCAAAGATAATAGA-3' R: 5'-CAACTGGCTTATCTTTCTGAC-3'	370 bp
	c.4986+4 A>C	F: 5'-TCTGAAGACAGAGCCCCAGA-3' R: 5'-ACTCTTTCCAGAATGTTGTTAAGTC-3'	309 bp
	c.4997dupA	F: 5'-AGAGACTTAAAGCTAGGATAACTGG-3' R: 5'-TGCAGCAGATGCAAGGTATT-3'	378 bp
	c.5335delC	F: 5'-TCATCCGGAGAGTGTAGGGT-3' R: 5'-GAGGCTACAGTAGGGGCATC-3'	257 bp
<i>BRCA2</i>	c.4022delC	F: 5'-AAGTGGGGTTTAGGGGCTTT-3' R: 5'-GGGTTGTCCCTGGAAGGTC-3'	893 bp
	c.5453C>A	F: 5'-GCCAGTATTGAAGAATGTTGAAGATC-3' R: 5'-AAACCTTATGTGAATGCGTGCTAC-3'	443 bp

\* Trình tự môi được nhóm nghiên cứu thiết kế dựa trên các đột biến được xác định bằng giải trình tự gen thế hệ mới.

**Bảng 2.4. Trình tự môi cho phản ứng khuếch đại gen XRCC3 và RAD51 chứa các đa hình đơn nucleotid**

Gen	SNP	Trình tự primer (5' - 3')	Kích thước
RAD51	135G>C (rs1801320)	F:5'-AAGGGAAGAGGGCAGTCTGT-3' R:5'-AGACTGAGGTCCACTTGTG-3'	600 bp
	172G>T (rs1801321)	F:5'-TGGGAACTGCAACTCATCTGG-3' R:5'-GCTCCGACTTCACCCCGCCGG-3'	131 bp
XRCC3	722C>T (rs861539)	F:5'-GCTGTCTCGGGGCATGGCTC-3' R:5'-GCTTCCGCATCCTGGCTAAA-3'	231 bp
	4541 A>G (rs1799794)	F:5'-TGAGGCGCCTAATCAGC-3' R:5'-TGGACTGTGTCAAGCAGCG-3'	293 bp
	17893A>G (rs1799796)	F:5'-GACACCTCTACAGAGGACG-3' R:5'-TTCTCGATGGTTAGGCACAG-3'	650 bp

\* Trình tự môi dựa theo các nghiên cứu của Ali (2016), Lu (2007) và Tulbah (2016) về các đa hình đơn nucleotid gen RAD51 và XRCC3.<sup>109-111</sup>

➤ Sản phẩm PCR được điện di theo quy trình điện di (Phụ lục 4-I).

#### 2.2.4.6 . Giải trình tự gen theo phương pháp Sanger

Giải trình tự gen theo phương pháp Sanger sử dụng BigDye terminator sequencing (Applied Biosystems, Foster city, USA) để giải trình tự xác nhận các đột biến đã tìm được bằng Giải trình tự thế hệ mới, đối với các bệnh nhân mang ĐB gen BRCA1/2 và tìm các ĐB đó ở người nhà bệnh nhân tham gia nghiên cứu, và xác nhận đại diện các kiểu gen của các SNP gen RAD51, XRCC3.

- Cho vào ống dung tích 200  $\mu$ l các thành phần sau:

**Bảng 2.5. Thành phần PCR giải trình tự gen**

STT	Thành phần	Thể tích ( $\mu$ l)
1	DNA đích đã được tinh sạch	2
2	BigDye Terminator v3.0	2
3	Môi xuôi (hoặc môi ngược) 1 $\mu$ M	3,2
4	BigDye seq. buffer 5X	4
5	Nước cất	8,8

(Thực hiện 2 ống cho 1 mẫu: 1 ống có môi xuôi, 1 ống có môi ngược)

- Chu trình nhiệt: 98°C/5 phút  $\rightarrow$  [98°C/15 giây  $\rightarrow$  60°C/10 giây  $\rightarrow$  60°C/2 phút 30 giây] x 30 chu kỳ.

- Tiến hành phân tích trình tự gen bằng hệ thống ABI Prism 310 (Applied Biosystems): Cho vào mỗi giếng 5 $\mu$ l DNA và 15 $\mu$ l formamide. Đặt các giếng vào máy giải trình tự và khởi động chương trình chạy. Các nucleotide trên gen biểu hiện bằng các đỉnh (peak) với 4 màu tương đương với 4 loại nucleotid A,T,G,C.

- Phân tích và ghi nhận kết quả xác định ĐB *BRCA1/2* và kiểu gen đại diện SNP *RAD51*, *XRCC3*. So sánh với trình tự gen của Gene Bank GRCh38.p13 (*BRCA1*: NM\_007294.4/ NG\_005905, *BRCA2*: NM\_000059.4/ NG\_012772, *RAD51*: NM\_002875.5/ NG\_012120, *XRCC3*: NM\_005432.4/ NG\_11516).

## 2.2.4.7. Quy trình kỹ thuật đa hình độ dài cắt giới hạn (RFLP)

➤ Quy trình RFLP sản phẩm PCR để xác định SNP gen *RAD51*, *XRCC3*

**Bảng 2.6. Thành phần phản ứng RFLP**

STT	Thành phần	Thể tích (μl)
1	H <sub>2</sub> O	3
2	CutSmart Buffer	1.5
3	Enzym cắt giới hạn	0,5
4	Sản phẩm PCR	10
Tổng thể tích		15

**Bảng 2.7 Điều kiện phản ứng enzyme cắt giới hạn**

Gen	SNP	Enzyme	Nhiệt độ ủ	Kích thước sản phẩm PCR (bp)	Kiểu gen và kích thước sản phẩm cắt (bp)
<i>RAD51</i>	rs1801320 (135G>C)	<i>Bst</i> MI	60°C	600	CC: 337/136/127 GG: 136/176/161/127 GC: 136/127/337/176/161
	rs1801321 (172G>T)	<i>Ngo</i> MIV	37°C	131	TT: 131 GG: 110/21 GT: 131/110/21
<i>XRCC3</i>	rs861539 (722C>T)	<i>Nla</i> III	37°C	231	CC: 219/12 CT: 219/107/112/12 TT: 112/107/12
	rs1799794 (4541A>G)	<i>Fok</i> I	37°C	293	AA: 100/193 AG: 100/193/293 GG: 293
	rs1799796 (17893A>G)	<i>Pvu</i> II	37°C	650	AA: 283/367 AG: 283/367/650 GG: 650



- Sản phẩm RFLP được điện di theo quy trình điện di (Phụ lục 4-II).
- Phân tích kết quả RFLP:

- Đa hình đơn nucleotid *RAD51-rs1801320*:

Đoạn gen *RAD51* mang SNP rs1801320 dạng alen G chứa 3 điểm cắt của enzyme *Bst*NI (5'CC↓WGG3') nên bị cắt thành 4 đoạn DNA kích thước 176bp, 161bp, 136bp và 127bp. Dạng alen C không có trình tự nhận biết này, nên đoạn gen chỉ bị cắt tại 2 điểm và tạo thành 3 đoạn kích thước là 337bp, 136bp, 127bp. Các kiểu gen sẽ có sản phẩm cắt như sau:

- Kiểu gen GG có 4 đoạn 176bp, 161bp, 136bp và 127bp.
- Kiểu gen CC có 3 đoạn 337bp, 136bp, 127bp.
- Kiểu gen GC cắt có 5 đoạn 337bp, 176bp, 161bp, 136bp, 127bp.

- Đa hình đơn nucleotid *RAD51-rs1801321*:

Trong trường hợp alen G, sản phẩm PCR có trình tự nhận biết của enzyme *Ngo*MVI (G↓CCGGC), nên đoạn gen này bị cắt thành 2 băng kích thước 110bp và 21bp. Nếu là alen T, đoạn gen không có trình tự nhận biết của enzyme nên sẽ không bị cắt. Các kiểu gen sẽ có sản phẩm cắt tương ứng:

- Kiểu gen GG: sản phẩm cắt gồm 2 đoạn 110 bp và 21 bp.
- Kiểu gen TT: sản phẩm cắt gồm đoạn 131bp.
- Kiểu gen GT: sản phẩm cắt gồm 3 đoạn 131bp, 110bp và 21bp.

- Đa hình đơn nucleotid *XRCC3-rs861539*:

Tại vị trí SNP *XRCC3-rs861539*, nếu nucleotide T sẽ có trình tự nhận biết (CATG↓) của enzyme *Nla*III. Khi đó *Nla*III sẽ cắt nó tại 2 điểm thành 3 đoạn kích thước 112bp, 107bp và 12bp. Nếu là nucleotide C, thì chỉ bị cắt tại 1 điểm, tạo thành 2 đoạn 219bp và 12bp. Các kiểu gen có sản phẩm cắt tương ứng:

- Kiểu gen TT gồm các đoạn 112bp, 107bp và 12bp.
- Kiểu gen CC gồm đoạn 219bp và 12bp.
- Kiểu gen CT gồm các đoạn 219bp, 112bp, 107bp và 12bp.

- *Đa hình đơn nucleotid XRCC3-rs1799794:*

Tại SNP *XRCC3-rs1799794* (c.-316A>G), trong trường hợp allele A sẽ tạo thành 1 trình tự nhận biết (GGATG(N)<sub>9</sub>↓), và được enzyme *FokI* cắt đoạn gen mang SNP ra các đoạn DNA có kích thước 193 bp và 100 bp. Trong trường hợp allele G, không có trình tự nhận biết này, đoạn gen sẽ không bị cắt và có kích thước là 293 bp. Các kiểu gen có sản phẩm cắt tương ứng như sau:

- Kiểu gen AA: sản phẩm cắt gồm các đoạn 193 bp và 100 bp.
- Kiểu gen GG: sản phẩm cắt gồm đoạn 293 bp.
- Kiểu gen AG: sản phẩm cắt gồm các đoạn 293 bp, 193 bp và 100 bp.

- *Đa hình đơn nucleotid XRCC3-rs1799796:*

Tại vị trí của SNP *XRCC3-rs1799796*, trường hợp alen A sẽ tạo thành 1 trình tự nhận biết (CAG↓CTG), và được *PvuII* cắt thành các đoạn DNA kích thước 367bp và 283bp. Nếu alen G, sẽ không có trình tự nhận biết này, đoạn gen không bị cắt giữ kích thước 650bp. Sản phẩm cắt các kiểu gen tương ứng:

- Kiểu gen AA gồm các đoạn 367 bp và 283 bp.
- Kiểu gen GG chỉ có đoạn 650 bp.
- Kiểu gen AG gồm các đoạn 650 bp, 367 bp và 283 bp.

### **2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu**

- Địa điểm nghiên cứu: Bệnh viện Phụ sản Trung Ương và Trung tâm Nghiên cứu Gen – Protein, Trường Đại học Y Hà Nội. Các xét nghiệm thực hiện tại Trung tâm Gen-Protein, Đại học Y Hà Nội.

- Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 01/2017 đến 10/2020.

### **2.4. Xử lý số liệu**

Sử dụng phần mềm SPSS 20.0 để phân tích thống kê. Phân loại các biến số lượng và biến định danh. Các biến số lượng được kiểm tra phân bố theo phân phối chuẩn bằng kiểm định Kolmogorov-Smirnov. So sánh giá trị trung bình các định lượng theo phân phối chuẩn bằng kiểm định Student T-test.

Các biến định tính như tình trạng mãn kinh, kiểu alen, kiểu gen, tiền sử mắc UT vú, tiền sử gia đình mắc UT, mô bệnh học, giai đoạn bệnh giữa hai nhóm có ĐB với không ĐB gen *BRCA1/2* và giữa nhóm bệnh nhân UTBT với nhóm chứng được so sánh bằng kiểm định Chi bình phương hoặc test Fisher (kiểm định 2 phía) với bảng 2x2 hoặc kiểm định Phi and Cramer's với bảng lớn hơn 2x2,  $p < 0.05$  được coi là có ý nghĩa thống kê. So sánh nguy cơ mắc UTBT giữa các kiểu gen, kiểu alen các SNP *RAD51*, *XRCC3* sử dụng tỉ số odd (OR) và khoảng tin cậy 95% (CI95%). Sử dụng hồi quy logistic đa biến phân tích mối liên quan giữa các SNP với mô bệnh học và giai đoạn bệnh.

Các ĐB xác định được sẽ được phân tích trên các cơ sở dữ liệu ClinVar (NCBI), BRCA Exchange.<sup>60,112</sup> Đối với các ĐB mới chưa được công bố được đánh giá ý nghĩa thông qua các ĐB đã được công bố, có cùng ảnh hưởng lên tổng hợp protein *BRCA1* và *BRCA2* và các công cụ tin sinh học dự đoán khả năng gây bệnh như Mutation Taster, In Silico Prior, ...

## 2.5. Đạo đức trong nghiên cứu của đề tài

- Đề tài đã được Hội đồng Đạo đức của trường Đại học Y Hà Nội chấp thuận theo chứng nhận số 107/HĐĐĐĐHYHN ngày 30/5/2017.
- Các đối tượng tham gia nghiên cứu hoàn toàn tự nguyện và có quyền rút lui khỏi nghiên cứu khi không muốn tham gia nghiên cứu.
- Các thông tin liên quan đến bệnh nhân được đảm bảo giữ bí mật.
- Các kỹ thuật thao tác trên bệnh nhân được đảm bảo đúng chuyên môn.
- Đề tài nghiên cứu thực hiện vì mục đích khoa học, không vì mục đích khác.

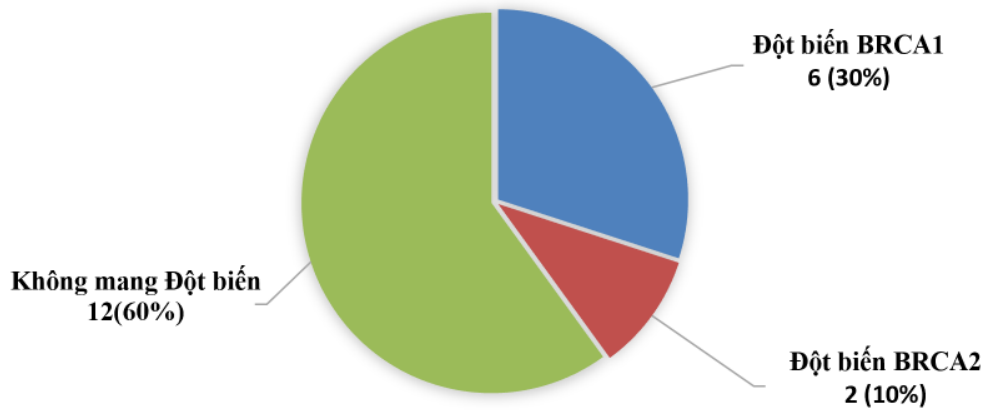
## 2.6. Kinh phí thực hiện đề tài

Đề tài được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài cấp Bộ "*Nghiên cứu xây dựng quy trình xác định đột biến và đa hình thái đơn nucleotid trên một số gen liên quan đến ung thư vú và ung thư buồng trứng*" do GS. TS. Nguyễn Viết Tiến làm chủ nhiệm đề tài.

## CHƯƠNG 3 : KẾT QUẢ

### 3.1. Xác định đột biến gen *BRCA1* và *BRCA2* ở bệnh nhân UTBT

Toàn bộ mẫu DNA của bệnh nhân sau khi tách chiết từ mẫu máu được thực hiện giải trình tự thế hệ mới cho kết quả có 8 trong 20 bệnh nhân có mang ĐB *BRCA1* (6 mẫu) và *BRCA2* (2 mẫu). Các mẫu mang ĐB được kiểm định bằng giải trình tự Sanger với các cặp môi thiết kế đặc hiệu (Bảng 2.3).



**Biểu đồ 3.1. Tỷ lệ mang đột biến gen *BRCA1/2***

#### Nhận xét:

- 8 (40%) bệnh nhân mang ĐB gen *BRCA1/2* trong đó 6 bệnh nhân mang ĐB gen *BRCA1* và 2 bệnh nhân mang ĐB gen *BRCA2*
- 12 (60%) bệnh nhân không mang ĐB hai gen trên.

#### 3.1.1. Đặc điểm chung của các bệnh nhân được xác định ĐB *BRCA1/2*

##### 3.1.1.1. Tuổi mắc bệnh của các bệnh nhân

**Bảng 3.1. Tuổi mắc UTBT của các bệnh nhân xác định ĐB *BRCA1/2***

	Có ĐB			Không có ĐB	Tổng	p
	ĐB <i>BRCA1</i>	ĐB <i>BRCA2</i>	Tổng			
	n=06	n=02	n=8			
Trung bình tuổi chẩn đoán	47,67 ± 5,99	63,50 ±19,09	51,63 ±11,46	50,58 ±9,37	51,00 ±9,97	0,147

#### Nhận xét:

- Trung bình tuổi mắc bệnh của những bệnh nhân mang ĐB gen *BRCA1* là 47,67, ĐB gen *BRCA2* là 63,5.

- Trung bình tuổi mắc bệnh của những bệnh nhân có mang ĐB gen *BRCA1/2* là 51,63 và không khác biệt với trung bình tuổi mắc bệnh của những bệnh nhân không mang ĐB là 50,58.

### 3.1.1.2. Đặc điểm hội chứng UT vú và UTBT di truyền (HBOC)

**Bảng 3.2. Đặc điểm hội chứng UT vú và UTBT di truyền (HBOC)**

	<b>Đặc điểm Hội chứng UT vú- UTBT di truyền</b>	<b>Mang ĐB</b>	<b>Không mang ĐB</b>	<b>Tổng</b>	<b>Tỉ lệ ĐB</b>	<b>p</b>
A	Chỉ có người thân mắc UT vú hoặc UTBT (a)	5	5	10	50%	0,535
	Chỉ mắc kèm UT vú (b)	2	6	8	25%	
	Cả hai yếu tố (c)	1	1	2	50%	
B	Có người thân mắc UTBT (d)	3	3	6	50%	0,535
	Có người thân mắc UT vú (e)	3	3	6	50%	
	Không có người thân mắc UT vú và UTBT (b)	2	6	8	25%	
C	Có người thân mắc UT vú hoặc UTBT (d+e)	6	6	12	50%	0,264
	Không có người thân mắc UT vú và UTBT (b)	2	6	8	25%	
D	Mắc kèm UT vú (b+c)	3	7	10	30%	0,361
	Không mắc kèm UT vú (a)	5	5	10	50%	
Tổng ((a)+(b)+(c))		8	12	20	40%	

#### **Nhận xét:**

- Trong phân bảng (A) có 10 (50%) bệnh nhân chỉ có người thân mắc UT vú hoặc/và UTBT, 8 (40%) chỉ mắc kèm UT vú, và 2 (10%) có cả 2 yếu tố. Tỉ lệ mang ĐB *BRCA1/2* trong tổng số bệnh nhân là 40% (8/20), trong nhóm chỉ có người thân mắc UT vú và/hoặc UTBT (a) là 50%, nhóm chỉ mắc kèm UT vú (b) là 25%, nhóm mang cả hai yếu tố (c) là 50%.

- Ở phân bảng (B) và (C), trong 12 (60%) bệnh nhân có người thân mắc UT (d+e), có 6 bệnh nhân có người thân mắc UT vú (e) và 6 bệnh nhân người

có người thân mắc UTBT (d). Ở phân bảng (D) có 10 bệnh nhân có mắc kèm UT vú (b+c) và 10 bệnh nhân không mắc kèm UT vú (a)

- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh các đặc điểm này giữa các bệnh nhân mang và không mang ĐB *BRCA1/2*.

### 3.1.2. Kết quả xác định ĐB gen *BRCA1* và *BRCA2*

Kết quả được giải trình tự được so sánh với trình tự chuẩn trên GeneBank bằng phần mềm CLC Main Workbench, phân tích các đặc điểm vị trí của ĐB trên gen *BRCA1* và *BRCA2*, phân tích khả năng gây bệnh trên các cơ sở dữ liệu về đột biến gen *BRCA1/2* cho kết quả thể hiện ở Bảng 3.3.

**Bảng 3.3. Đột biến gen *BRCA1* và *BRCA2* ở các bệnh nhân UTBT.**

Mã	Vị trí	Thay đổi nucleotide	BCCR, OCCR (1)	Vùng / gắn với	Thay đổi acid amin	Loại ĐB (2)	Ý nghĩa (3)	Ghi chú (4)
KBT8	<i>BRCA1</i> Exon 11	c.1016delA dị hợp	-	-	p.Lys339fsTer2	F	P	113
KBT2	<i>BRCA1</i> Exon 11	c.1621C>T dị hợp	OCCR	-	p.Gln541Ter	N	P	114
KBT6	<i>BRCA1</i> Exon 11	c.2760-2763 delACAG dị hợp	OCCR	-	p.Thr922fs Ter77	F	P	115
KBT4	<i>BRCA1</i> Intron 16	c.4986+4A>T dị hợp	BCCR23	BRCT/ BACH1	IVS16+4A>T	Ss	P	116
KBT7	<i>BRCA1</i> Exon 17	c.4997dupA dị hợp	BCCR23	BRCT/ BACH1	p.Tyr1666Ter	N	P	117
KBT3	<i>BRCA1</i> Exon 22	c.5335delC dị hợp	BCCR23	BRCT/ BACH1	p.Gln1779fs Ter14	F	P	118
KBT15	<i>BRCA2</i> Exon 11	c.4022delC dị hợp	OCCR1	-	p.Ser1341Ter	N	P	ĐB mới
KBT1	<i>BRCA2</i> Exon 11	c.5453C>A dị hợp	OCCR1	-	p.Ser1818Ter	N	P	119

Mã bệnh nhân (Phụ lục 5). (1)BCCR – Breast cancer cluster regions: Vùng cụm UT vú; OCCR- Ovarian cancer cluster regions: Vùng cụm UTBT. (2)Loại ĐB: F – ĐB dịch khung (Frameshift mutation); N -ĐB vô nghĩa (Nonsense mutation); Ss – ĐB vị trí cắt (Splice site mutation). (3) Ý nghĩa được kiểm định trên các cơ sở dữ liệu.<sup>60</sup> P-gây bệnh (pathogenic). (4) Nguồn tài liệu trích dẫn.

**Nhận xét:**

- Có 6 ĐB gen *BRCA1* và 2 ĐB gen *BRCA2* được tìm thấy trong 20 bệnh nhân. 8 ĐB đều ở trạng thái dị hợp.

- Trong các ĐB gen *BRCA1* có 3 ĐB nằm trên exon 11, 1 ĐB trên intron 16, 1 ĐB trên exon 17, và 1 ĐB trên exon 22, trong khi hai ĐB gen *BRCA2* đều có vị trí trên exon 11.

- Có 4 ĐB nằm trên vùng cụm UTBT (OCCR), 03 ĐB nằm trên vùng cụm UT vú (BCCR), còn lại 1 ĐB không nằm trên các loại vùng này.

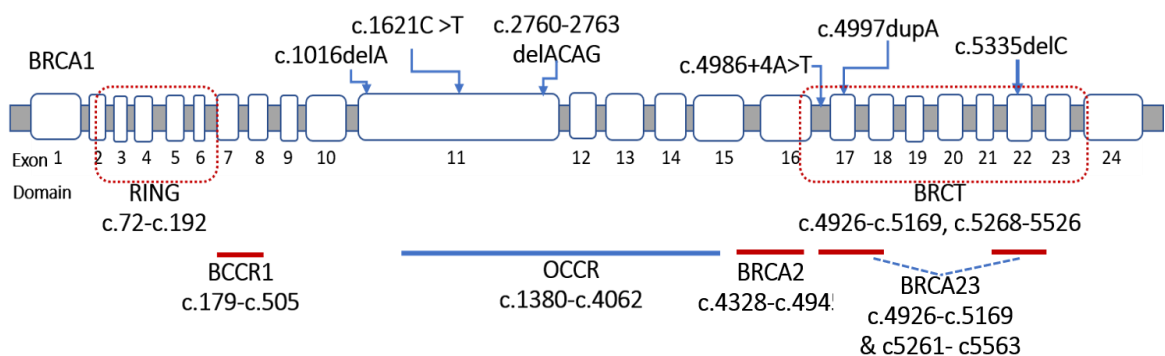
- Có 3 ĐB gen *BRCA1* nằm trên cùng chức năng BRCT gắn với protein BACH1 là c.4986+4A>T, c.4997dupA và c.5335delC

- Trong đó có 3 ĐB dịch khung (*BRCA1*: c.1016delA, *BRCA1*: c.2760-2763delACAG và *BRCA1*: c.5335delC); 4 ĐB vô nghĩa (*BRCA1*: c.1621C>T, *BRCA1*: c.4997dupA, *BRCA2*: c.4022delC và *BRCA2*:c.5453C>A) và một ĐB vị trí cắt (*BRCA1*: c.4986+4A>T)

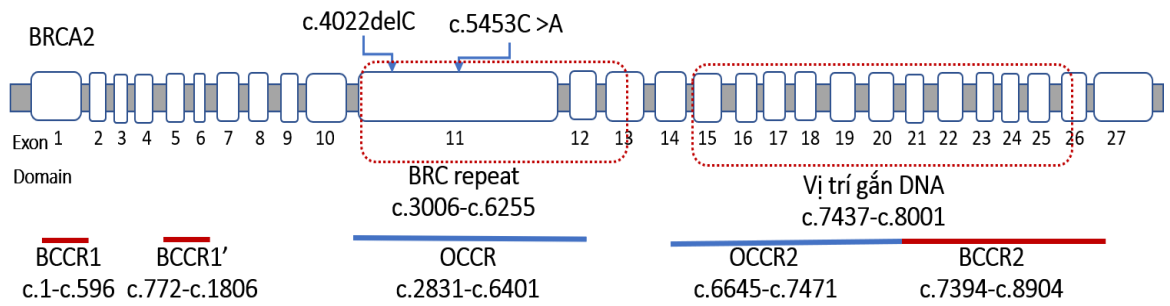
- Dựa vào các cơ sở dữ liệu về khả năng gây bệnh của các ĐB, các ĐB đều làm tăng nguy cơ mắc UT vú và UTBT.

- Có 01 ĐB mới *BRCA2*:c.4022delC lần đầu được tìm thấy trong nghiên cứu này, chưa từng được công bố.

Từ các kết quả phân tích trên, lập nên sơ đồ vị trí tương đối các đột biến đã xác định trên gen *BRCA1* và gen *BRCA2* và tương quan với các vùng chức năng của gen (Sơ đồ 3.1 và Sơ đồ 3.2).



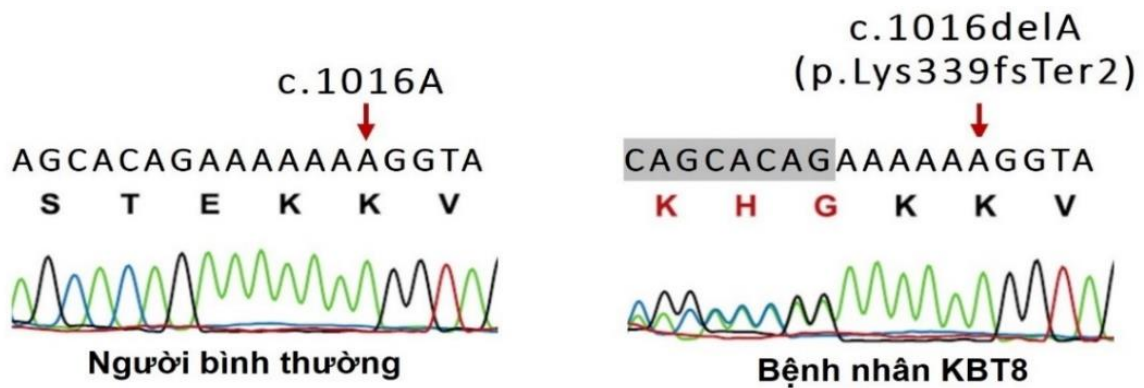
**Sơ đồ 3.1** Vị trí tương đối các ĐB được xác định trên gen *BRCA1*



### Sơ đồ 3.2 Vị trí tương đối các DB được xác định trên gen BRCA2

#### 3.1.2.1. Đột biến NM\_007294.4(BRCA1):c.1016delA

DB *BRCA1*:c.1016delA phát hiện ở bệnh nhân KBT8 có mẹ mắc UT vú.



Hình 3.1. Giải trình tự gen xác định DB *BRCA1*:c.1016delA

#### Nhận xét:

- Sản phẩm giải trình tự rõ nét, các đỉnh màu tương ứng các nucleotid rõ ràng, tương đồng với trình tự gen *BRCA1*, chứng tỏ sản phẩm PCR đặc hiệu.

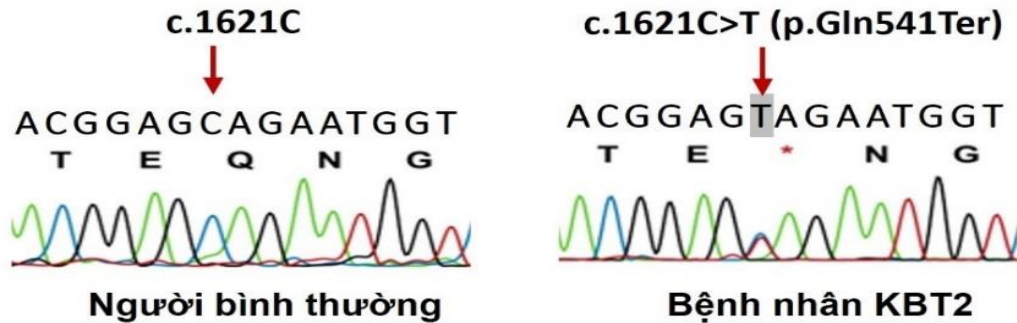
- Ở mẫu KBT8 bằng môi ngược từ vị trí nucleotide 1016 bao gồm tín hiệu của 6 đỉnh A so với 7 đỉnh A ở mẫu đối chứng và tín hiệu các nucleotide sau vị trí này bị nhiễu (theo chiều giải mã ngược từ phải sang trái), cho thấy KBT8 có DB xóa một nucleotide A, dạng dị hợp tử. DB làm thay đổi khung đọc của gen *BRCA1* và tạo thành mã kết thúc sớm cách vị trí DB 2 acid amin.

- DB c.1016delA này không phát hiện được ở mẫu đối chứng.



### 3.1.2.2. Đột biến *BRCA1:c.1621C>T*

ĐB *BRCA1:c.1621C>T* ở bệnh nhân KBT2 có mẹ và 1 chị gái mắc UT vú.



**Hình 3.2. Giải trình tự gen xác định ĐB *BRCA1:c.1621C>T***

#### Nhận xét:

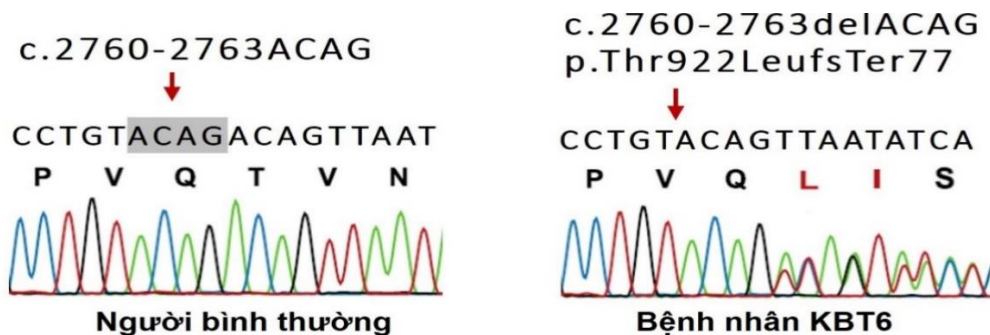
- Sản phẩm giải trình tự rõ nét, các đỉnh màu tương ứng các nucleotide rõ ràng, tương đồng với trình tự gen *BRCA1*, chứng tỏ sản phẩm PCR đặc hiệu.

- Ở mẫu KBT2 tại vị trí nucleotide 1621 bao gồm tín hiệu của đỉnh C và đỉnh T cho thấy có ĐB điểm thay đổi nucleotide C thành T, dạng dị hợp tử và ĐB thay đổi bộ ba CAG (mã hóa cho Glutamine) thành TAG (mã kết thúc).

- ĐB này không phát hiện được ở mẫu đối chứng.

### 3.1.2.3. Đột biến *NM\_007294.4(BRCA1):c.2760-2763delACAG*

ĐB *NM\_007294.4(BRCA1):c.2760-2763delACAG* phát hiện ở bệnh nhân KBT6 có 1 chị gái và 1 em gái cũng mắc UTBT.



**Hình 3.3. Giải trình tự gen xác định ĐB *BRCA1:c.2760-2763delACAG***

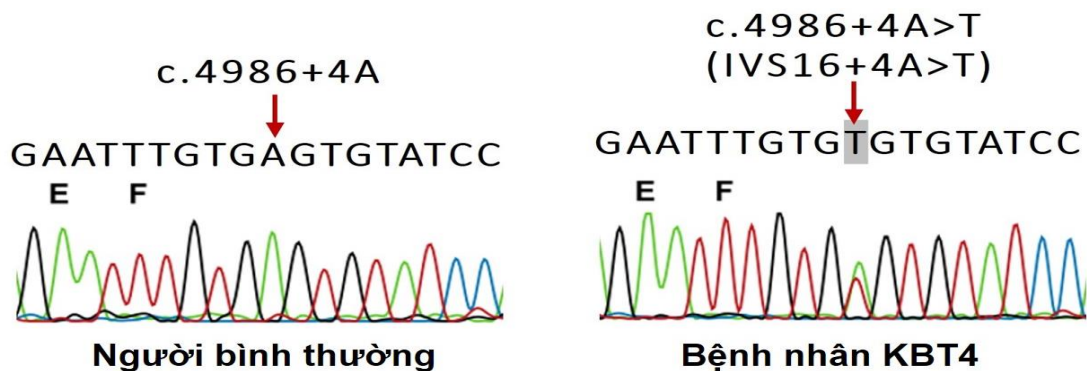
**Nhận xét:**

- Sản phẩm giải trình tự rõ nét, các đỉnh màu tương ứng các nucleotid rõ ràng, tương đồng với trình tự gen *BRCA1*, chứng tỏ sản phẩm PCR đặc hiệu.

- Ở KBT6 tại vị trí nucleotide 2764 exon 11 bao gồm tín hiệu của đỉnh A và đỉnh T và tín hiệu các nucleotide sau vị trí này bị nhiễu cho thấy ĐB xóa 4 nucleotide ACAG, dạng dị hợp tử, làm thay đổi khung đọc của gen *BRCA1* và tạo thành mã kết thúc sớm cách vị trí ĐB 77 acid amin. ĐB này không phát hiện được ở mẫu đối chứng.

**3.1.2.4. Đột biến *NM\_007294.4(BRCA1):c4986+4A>T***

ĐB *NM\_007294.4(BRCA1):c4986+4A>T* ở bệnh nhân KBT4 mắc UT vú, có em gái UTBT.



**Hình 3.4. Giải trình tự gen xác định ĐB *BRCA1:c.4986+4A>T***

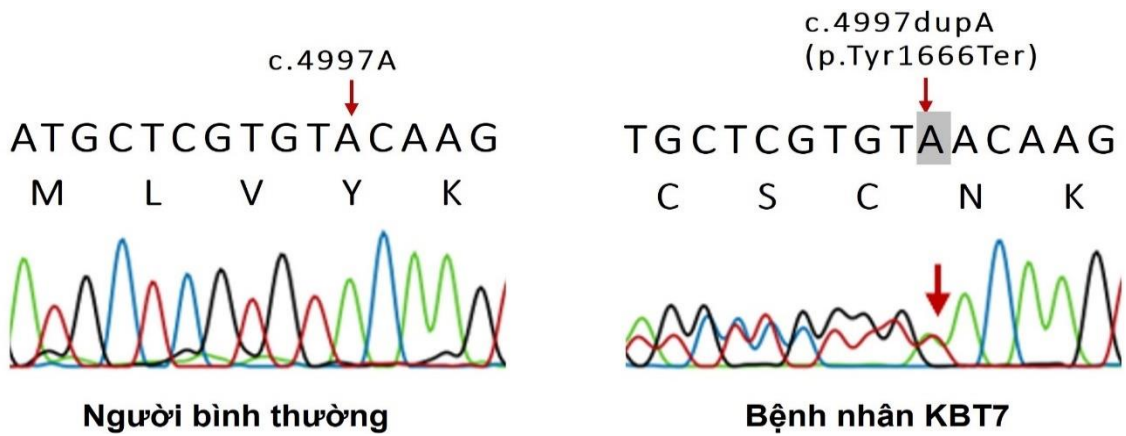
**Nhận xét:**

- Sản phẩm giải trình tự rõ nét, các đỉnh màu tương ứng các nucleotid rõ ràng, tương đồng với trình tự gen *BRCA1*, chứng tỏ sản phẩm PCR đặc hiệu.

- Ở mẫu KBT4 tại vị trí nucleotide 4986+4 trên intron 16 xuất hiện tín hiệu của một đỉnh A và một đỉnh T, cho thấy ĐB điểm thay thế A thành T, dạng dị hợp tử và làm thay đổi vị trí cắt (splice site) ở intron 16 trong quá trình hoàn thiện mRNA. ĐB này không phát hiện được ở mẫu đối chứng.

### 3.1.2.5. Đột biến *BRCA1:c.4997dupA*

ĐB *BRCA1:c.4997dupA* ở bệnh nhân KBT7 có chỉ mắc UT vú.



**Hình 3.5. Giải trình tự gen ĐB *BRCA1:c.4997dupA***

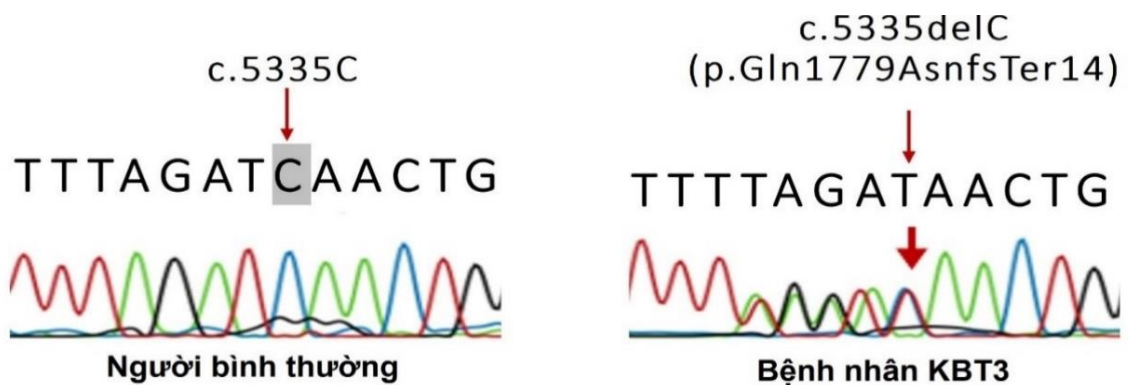
#### Nhận xét:

- Sản phẩm giải trình tự rõ nét, các đỉnh màu tương ứng các nucleotid rõ ràng, tương đồng với trình tự gen *BRCA1*, chứng tỏ sản phẩm PCR đặc hiệu.

- Ở mẫu KBT7 bằng môi ngược tại vị trí giữa nucleotid 4997 và 4998 trên exon 17 xuất hiện thêm tín hiệu của một đỉnh A và tín hiệu các nucleotid sau vị trí này bị nhiễu (theo chiều giải mã ngược từ phải sang trái). Cho thấy mẫu KBT7 có ĐB điểm chèn thêm một nucleotide A, dạng dị hợp tử và làm thay đổi bộ ba TAC (mã hóa Tyrosine) thành TAA (mã kết thúc). ĐB này không phát hiện được ở mẫu đối chứng

### 3.1.2.6. Đột biến *NM\_007294.4(BRCA1):c.5335delC*

ĐB *NM\_007294.4(BRCA1):c.5335delC* xác định ở bệnh nhân KBT3 có di ruột mắc UTBT.



**Hình 3.6. Giải trình tự gen xác định ĐB *BRCA1:c.5335delC***

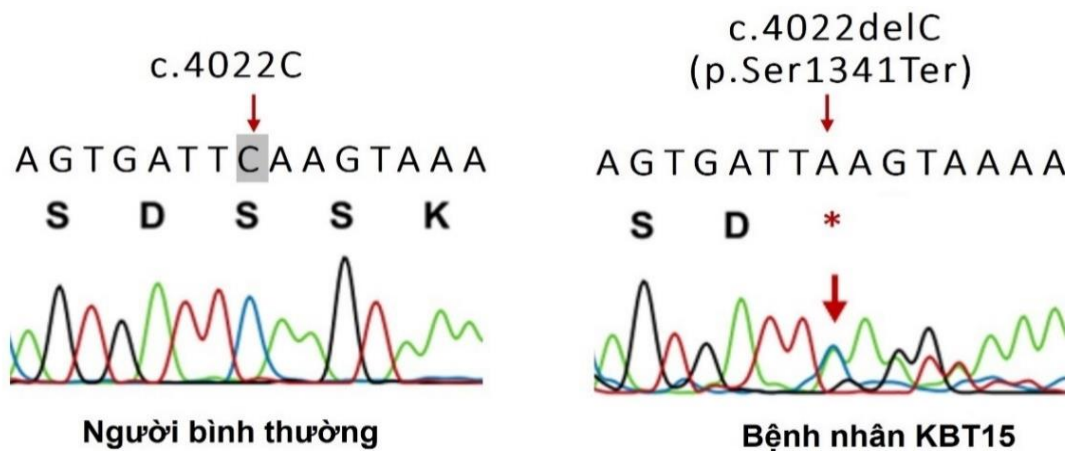
**Nhận xét:**

- Sản phẩm giải trình tự rõ nét, các đỉnh màu tương ứng các nucleotid rõ ràng, tương đồng với trình tự gen *BRCA1*, chứng tỏ sản phẩm PCR đặc hiệu

- Ở mẫu KBT3 bằng môi ngược tại vị trí nucleotide 5335 có tín hiệu của đỉnh C và đỉnh T, và tín hiệu các nucleotide sau vị trí này bị nhiễu (theo chiều giải mã ngược từ phải sang trái) cho thấy ĐB xóa một nucleotide C, dạng dị hợp tử làm thay đổi bộ ba CAA (mã hóa Glutamine) thành bộ ba AAC (mã hóa Asparagine) dẫn đến sai khung đọc của gen *BRCA1* và tạo thành mã kết thúc sớm cách vị trí ĐB 14 acid amin. ĐB c.5335delC này không phát hiện được ở mẫu đối chứng.

**3.1.2.7. Đột biến NM\_000059.4(*BRCA2*):c.4022delC**

ĐB NM\_000059.4(*BRCA2*):c.4022delC xác định ở bệnh nhân KBT15 mắc UTBT và UT vú.



**Hình 3.7. Giải trình tự gen xác định ĐB *BRCA2*:c.4022delC**

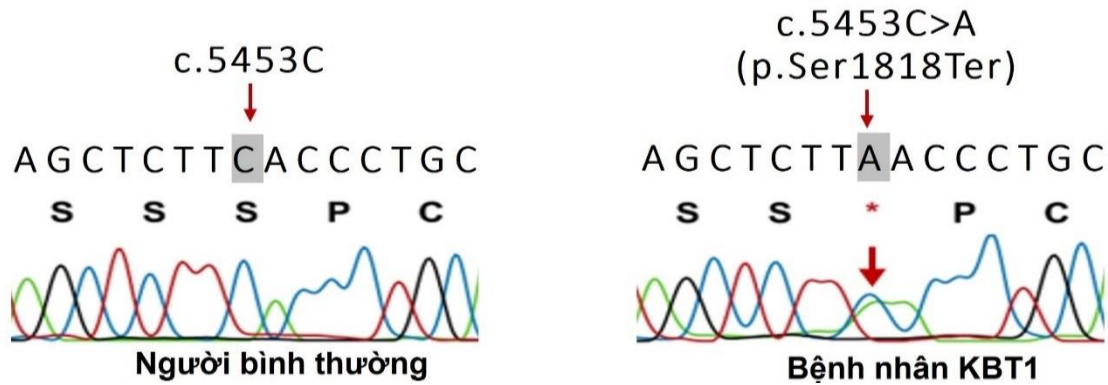
**Nhận xét:**

- Sản phẩm giải trình tự rõ nét, các đỉnh màu tương ứng các nucleotid rõ ràng, tương đồng với trình tự gen *BRCA2*, chứng tỏ sản phẩm PCR đặc hiệu

- Ở mẫu KBT15 tại vị trí nucleotide 4022 bao gồm tín hiệu của đỉnh C và đỉnh A và tín hiệu các nucleotide sau vị trí này bị nhiễu, cho thấy ĐB xóa một nucleotide C, dạng dị hợp tử làm thay đổi bộ ba TCA (mã hóa Serine) thành TAA (mã kết thúc). ĐB c.4022delC này không phát hiện được ở mẫu đối chứng.

### 3.1.2.8. Đột biến NM\_000059.4(BRCA2):c.5453C>A

ĐB NM\_000059.4(BRCA2):c.5453C>A xác định ở bệnh nhân KBT1 mắc UTBT kèm UT vú.



**Hình 3.8. Giải trình tự gen xác định ĐB BRCA2:c.5453C>A**

#### Nhận xét:

- Sản phẩm giải trình tự rõ nét, các đỉnh màu tương ứng các nucleotid rõ ràng, tương đồng với trình tự gen *BRCA2*, chứng tỏ sản phẩm PCR đặc hiệu.

- Ở mẫu KBT1 tại vị trí nucleotide 5453 bao gồm tín hiệu của đỉnh C và đỉnh A cho thấy ĐB điểm thay đổi nucleotide C thành A, dạng dị hợp tử và làm thay đổi bộ ba TCA (mã hóa cho Serine) thành TAA (mã kết thúc). ĐB c.5453C>A này không phát hiện được ở mẫu đối chứng.

### 3.1.3. Mối liên quan giữa đột biến BRCA1/2 và mô bệnh học

**Bảng 3.4. Đặc điểm mô bệnh học và mối liên quan với ĐB BRCA1/2**

Mô bệnh học	Mang ĐB	Không ĐB	Tổng	p
	N=8 (%)	N=12 (%)	N=20 (%)	
UT BM thanh dịch	6 (75%)	10 (83,3%)	16 (80%)	0,358
UT BM dạng NMTC	1 (12,5)	0 (0%)	1 (5%)	
UT tb sáng	0 (0%)	1 (8,3%)	1 (5%)	
UT tb hạt	1 (12,5)	0 (0%)	1 (5%)	
UT Sarcoma	0 (0%)	1 (8,3%)	1 (5%)	

**Nhận xét:**

- Có 16 (80%) bệnh nhân tham gia nghiên cứu xác định ĐB *BRCA1/2* có mô bệnh học là UT tế bào biểu mô thanh dịch.
- Trong nhóm bệnh nhân mang ĐB UT biểu mô thanh dịch chiếm 75%.
- Không có sự khác biệt về mô bệnh học giữa nhóm bệnh nhân mang ĐB gen *BRCA1/2* và nhóm không mang ĐB ( $p=0,358$ ).

*Bảng 3.5 Mối liên quan giữa kiểu đột biến với mô bệnh học*

Gen	Kiểu ĐB	Mô bệnh học			p
		UT BM thanh dịch	UT BM dạng NMTC	UT tb hạt	
		n (%)	n (%)	n (%)	
<i>BRCA1</i>	Dịch khung	2 (66,7%)	1 (33,3%)	0 (0%)	0,136
	Vô nghĩa	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	
	Vị trí cắt	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	
<i>BRCA2</i>	Vô nghĩa	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	-

**Nhận xét:**

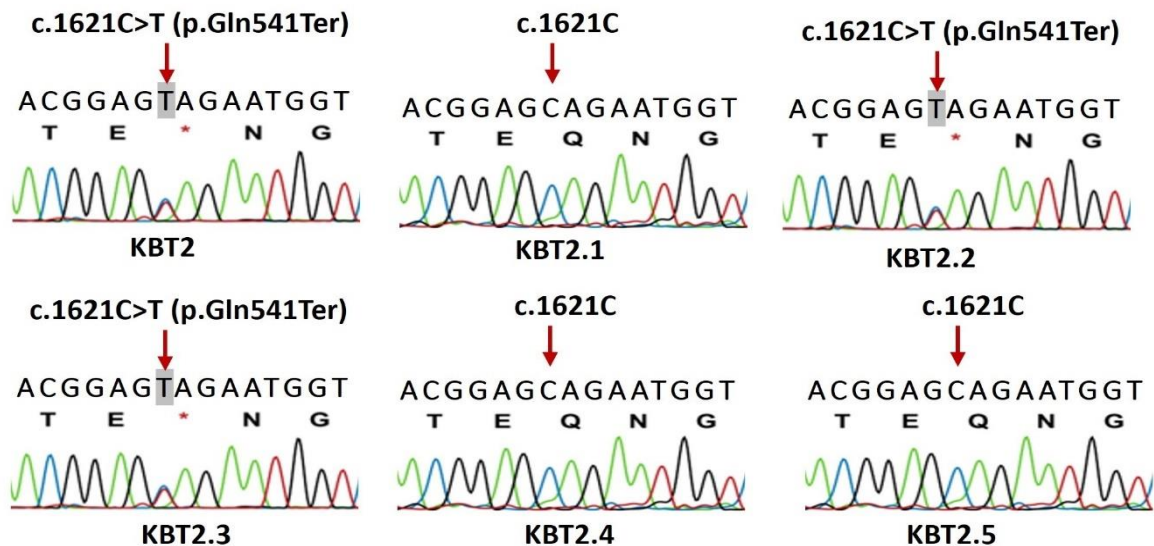
- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về mô bệnh học giữa các kiểu đột biến trên gen *BRCA1* ( $p=0,136$ ).
- Hai bệnh nhân mang đột biến vô nghĩa trên gen *BRCA2* đều có kết quả mô bệnh học là ung thư biểu mô thanh dịch.

### 3.1.4. Xác định ĐB *BRCA1/2* ở người thân các bệnh nhân

Chúng tôi thu thập các mẫu máu và thông tin người nhà bệnh nhân tự nguyện tham gia nghiên cứu. Các mẫu máu được tách chiết DNA và giải trình tự Sanger bằng các môi thiết kế đặc hiệu để xác định các ĐB. 6 (35,3%) trong 17 người thân của 4 bệnh nhân được xét nghiệm có mang ĐB như ở bệnh nhân.

#### 3.1.4.1. Đột biến *BRCA1:c.1621C>T* ở người thân bệnh nhân KBT2

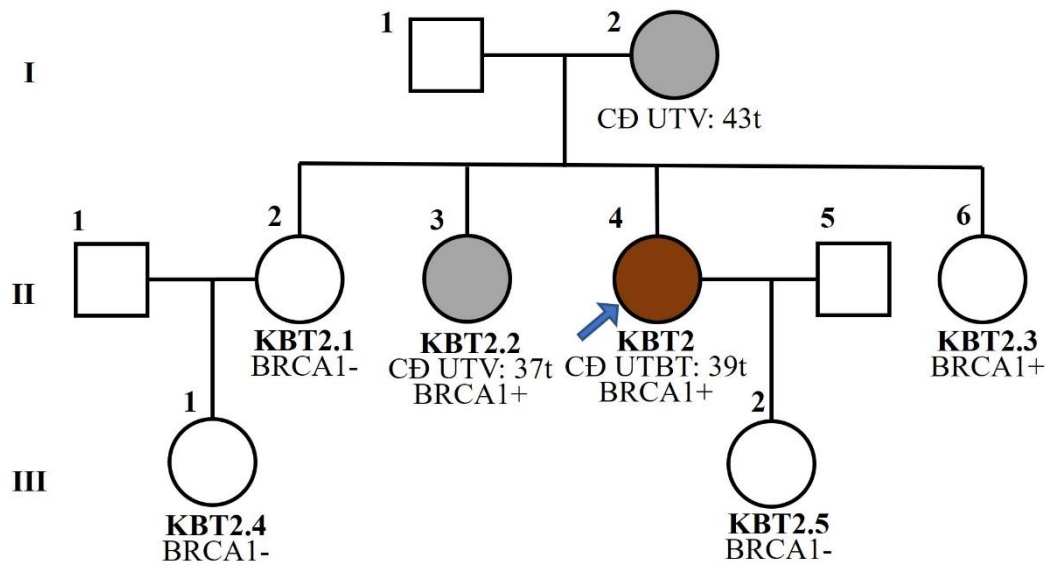
Bệnh nhân KBT2 có ĐB *BRCA1:c.1621C>T*, có mẹ và 01 chị gái mắc UT vú. Những người thân của bệnh nhân KBT2 bao gồm con gái, 2 chị gái, 1 em gái và con gái của chị đã được thu thập mẫu máu để xác định ĐB.



**Hình 3.9.** Giải trình tự gen xác định ĐB *c.1621C>T* ở KBT2 và người thân

#### Nhận xét:

- Chị gái mắc UT vú (KBT2.2) và em gái (KBT2.3) bệnh nhân có mang ĐB.
- Con gái bệnh nhân KBT2 (KBT2.5), chị gái không mắc UT vú (KBT2.1) và con gái người này (KBT2.4) không mang ĐB.



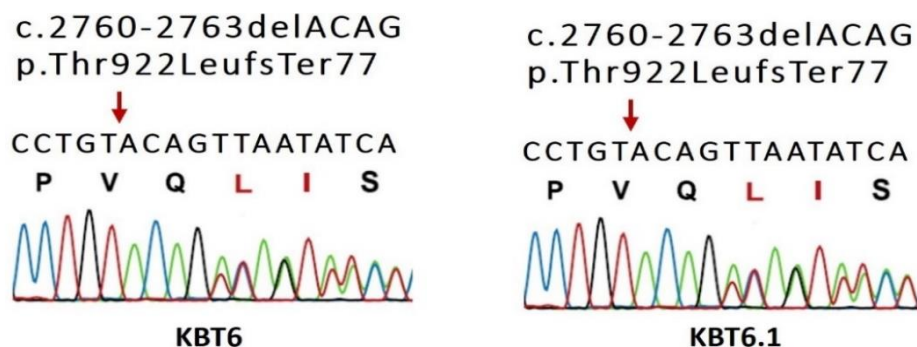
**Sơ đồ 3.3** Phả hệ di truyền ĐB  $BRCA1:c.1621C>T$  bệnh nhân KBT2.

Hình vuông: Nam. Hình tròn: Nữ. Mũi tên: Bệnh nhân nghiên cứu. Màu nâu: UTBT. Màu xám: UT vú. CD UTV: Tuổi chẩn đoán UT vú. CD UTBT: Tuổi chẩn đoán UTBT. BRCA+: Mang ĐB. BRCA-: Không mang ĐB. KBT: mã bệnh nhân và người nhà bệnh nhân (Phụ lục 5)

**Nhận xét:** ĐB  $BRCA1:c.1621C>T$  có cả ở người mắc UT vú (II-3), người mắc UTBT (II-4) và người chưa mắc 2 loại UT này (II-6).

**3.1.4.2. ĐB  $BRCA1:c.2760-2763delACAG$  ở người thân bệnh nhân KBT6**

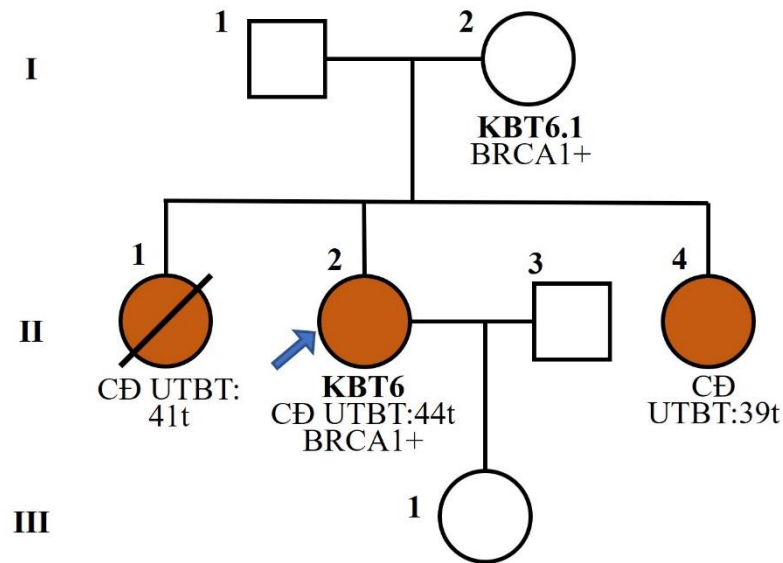
Bệnh nhân KBT6 có chị gái (đã mất) và em gái cũng mắc UTBT. Mẹ của bệnh nhân (KBT6.1) được thu thập mẫu máu để xác định ĐB này.



**Hình 3.10.** Giải trình tự gen xác định ĐB ở KBT6 và người thân

**Nhận xét:** - Mẹ bệnh nhân (KBT6.1) có mang ĐB gen này.





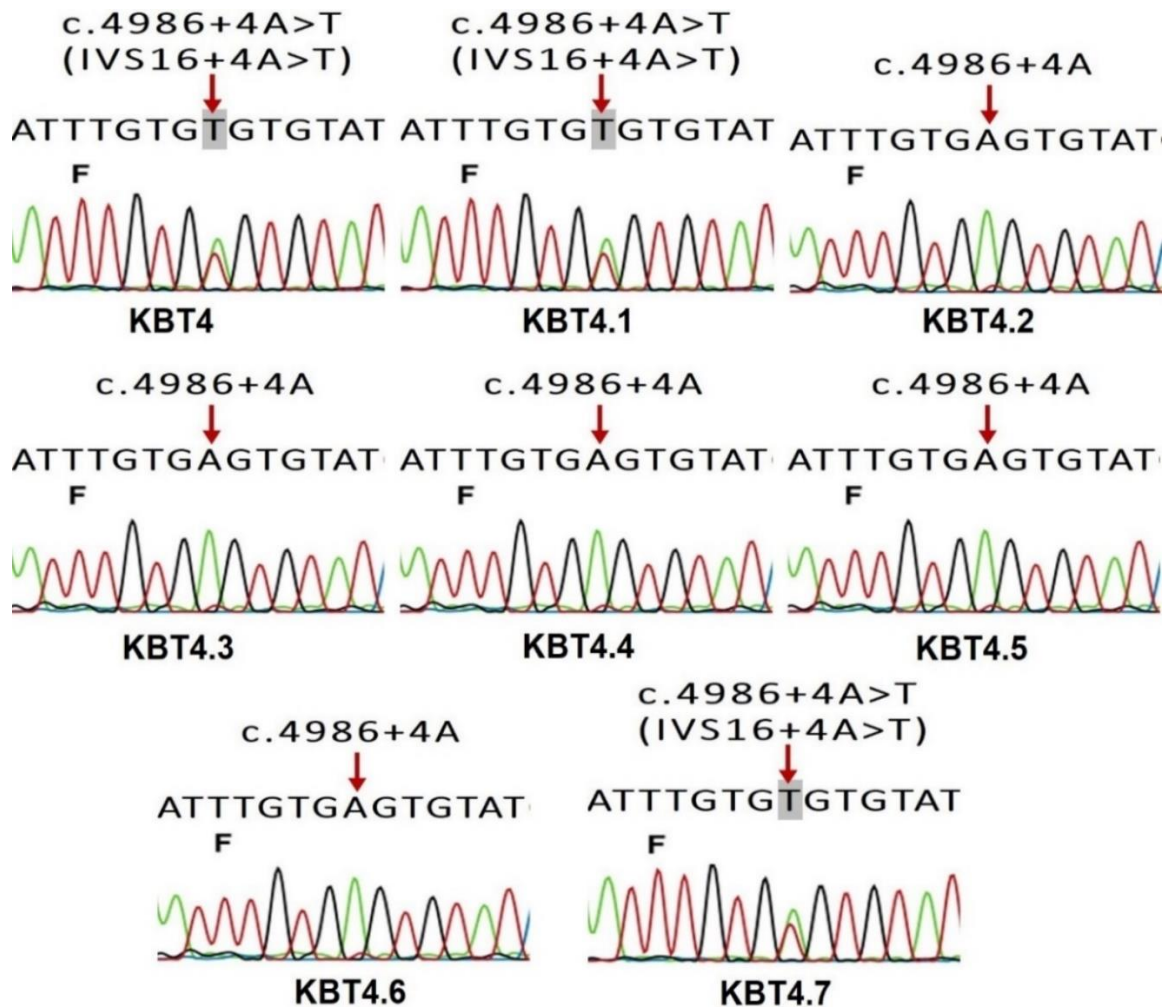
**Sơ đồ 3.4. Phả hệ di truyền ĐB  $BRCA1:c.2760-2763delACAG$  KBT6**

Hình vuông: Nam. Hình tròn: Nữ. Mũi tên: Bệnh nhân nghiên cứu. Gạch chéo: Đã mất. Màu nâu: UTBT. CD UTBT: Tuổi chẩn đoán UTBT.  $BRCA+$ : Mang ĐB.  $BRCA-$ : Không mang ĐB. KBT: mã bệnh nhân và người nhà bệnh nhân (Phụ lục 5)

**Nhận xét:** ĐB này xuất hiện ở bệnh nhân UTBT (II-2) và người chưa mắc UT (I-2).

#### 3.1.4.3. Đột biến $BRCA1:c.4986A>T$ ở người thân bệnh nhân KBT4

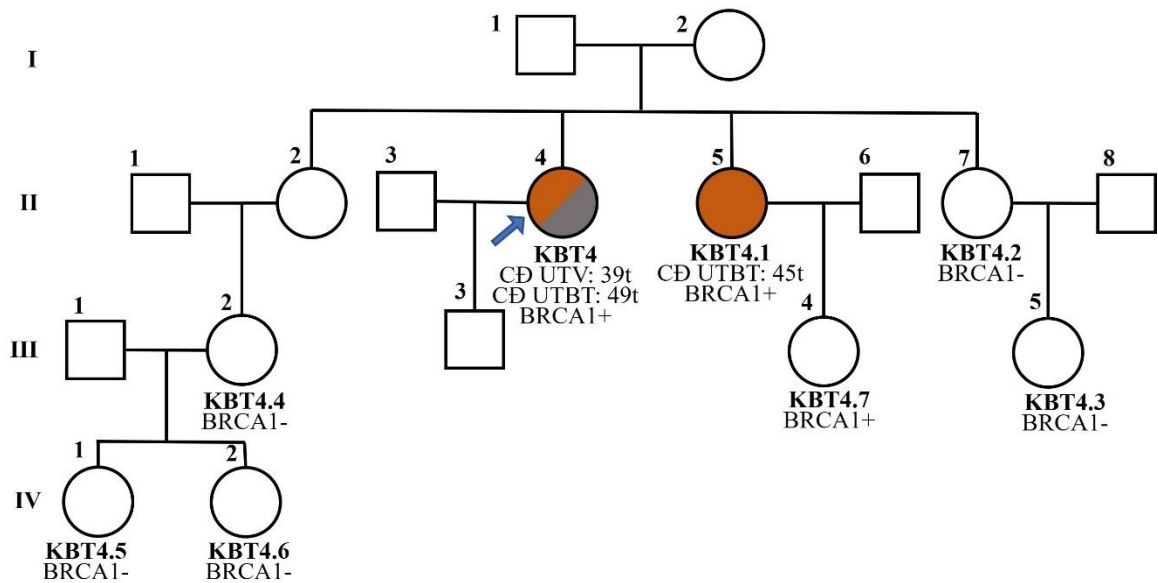
Bệnh nhân KBT4 có tiền sử mắc UT vú và có 1 em gái mắc UTBT. Những người thân bao gồm em gái mắc UTBT (KBT4.1) và con gái (KBT4.7); em gái khác (KBT4.2) và con gái (KBT4.3); cháu gái (con của chị- KBT4.4) và 2 con gái của người này (KBT4.5, KBT4.6) được xét nghiệm tìm ĐB gen này.



**Hình 3.11. Giải trình tự gen xác định ĐB c.4986A>T ở KBT4 và người thân**

**Nhận xét:**

- Em gái bệnh nhân (KBT4.1) và con gái (KBT4.7) mang ĐB.
- Em gái khác (KBT4.2) và con gái (KBT4.3), con gái của chị gái (KBT4.4) và hai con gái người này (KBT4.5 và KBT4.6) không mang ĐB.



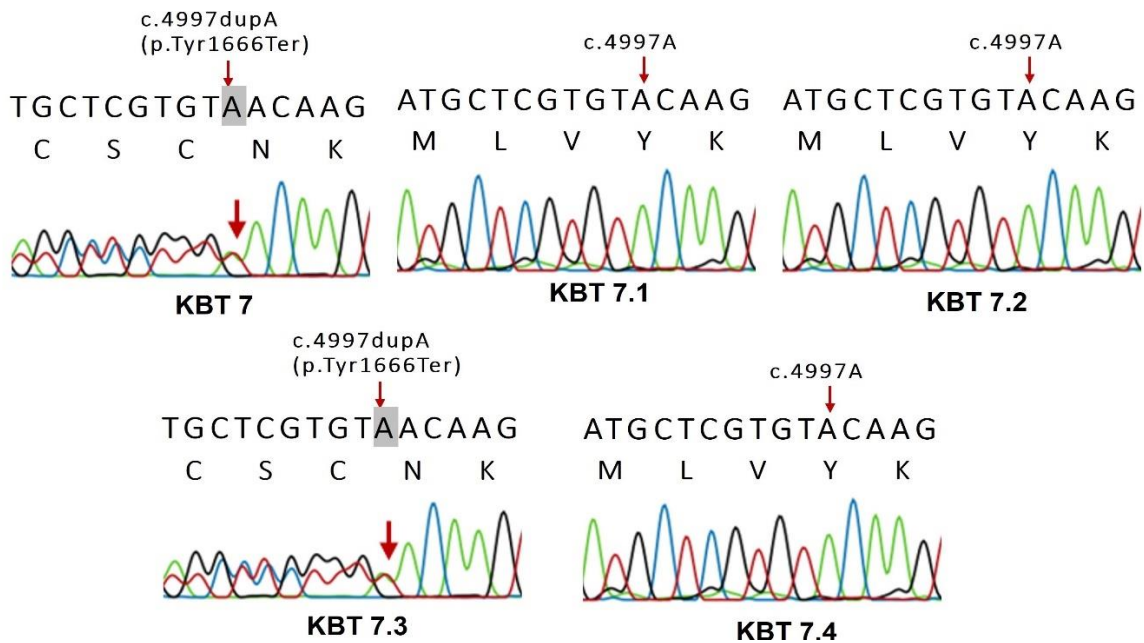
**Sơ đồ 3.5. Phả hệ di truyền ĐB BRCA1: c.4986+4A>T bệnh nhân KBT4.**

Hình vuông: Nam. Hình tròn: Nữ. Mũi tên: Bệnh nhân nghiên cứu. Màu nâu: UTBT. Màu xám: UT vú. CD UTV: Tuổi chẩn đoán UT vú. CD UTBT: Tuổi chẩn đoán UTBT. BRCA+: Mang ĐB. BRCA-: Không mang ĐB. KBT: mã bệnh nhân và người nhà bệnh nhân (Phụ lục 5)

**Nhận xét:** ĐB có ở người mắc UTBT (II-5), người mắc cả UTBT và UT vú (II-4), và người chưa mắc UT (III-4).

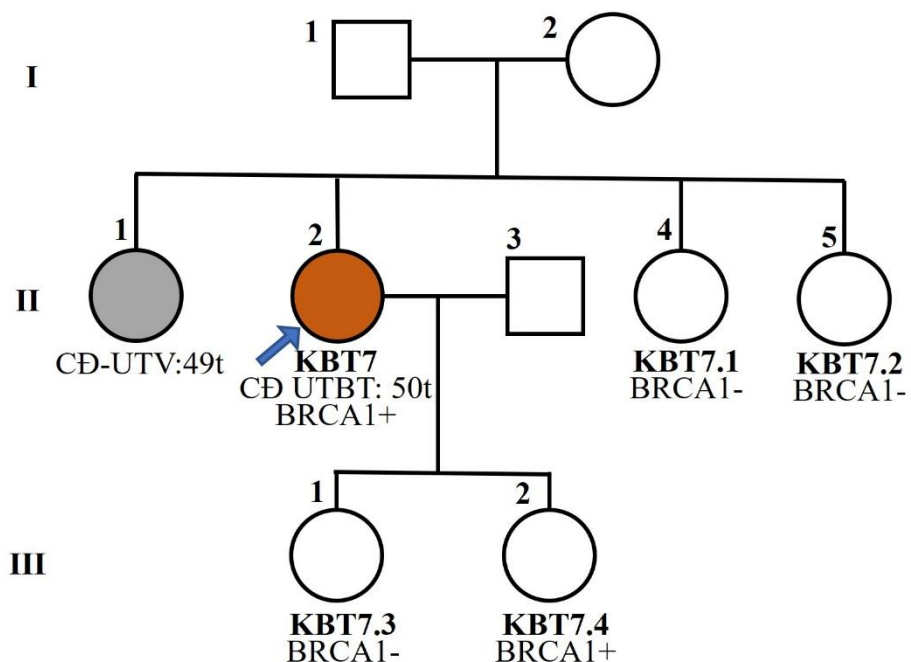
**3.1.4.4. Đột biến BRCA1:c.4997dupA ở người thân bệnh nhân KBT7**

Bệnh nhân KBT7 có 1 chị gái mắc UT vú. Những người thân được xét nghiệm tìm đột biến gen này bao gồm hai con gái (KBT7.3 và KBT7.4) và hai em gái (KBT7.1 và KBT7.2) của bệnh nhân.



**Hình 3.12. Giải trình tự gen xác định ĐB ở KBT7 và người thân**

**Nhận xét:** 01 con gái bệnh nhân (KBT7.4) mang ĐB gen này trong khi 1 con gái khác (KBT7.3) và hai người em gái (KBT7.1 và KBT7.2) không mang ĐB.



**Sơ đồ 3.6 Phả hệ di truyền ĐB BRCA1:c.4997dupA bệnh nhân KBT7.**

Hình vuông: Nam. Hình tròn: Nữ. Mũi tên: Bệnh nhân nghiên cứu. Màu nâu: UTBT. Màu xám: UT vú. CD UTV: Tuổi chẩn đoán UT vú. CD UTBT: Tuổi chẩn đoán UTBT. BRCA+: Mang ĐB. BRCA-: Không mang ĐB. KBT: mã bệnh nhân và người nhà bệnh nhân (Phụ lục 5)

**Nhận xét:**

- DB xuất hiện ở bệnh nhân UTBT (II-2) và người chưa mắc UT (III-2).
- DB ở bệnh nhân KBT7 trong trạng thái dị hợp nên 1 con gái mang đột biến và 1 con gái khác không mang đột biến này

**3.2. Xác định các SNP *RAD51*, *XRCC3* và mối liên quan với UTBT**

Ban đầu 412 bệnh nhân UTBT và 380 người khỏe mạnh đồng ý tham gia vào nghiên cứu và được lấy mẫu máu phân tích các SNP gen *XRCC3* và *RAD51*. Tuy nhiên sau khi thu thập thông tin có 32 bệnh nhân với chẩn đoán UTBT tái phát, không xác định chính xác thông tin độ tuổi và kết quả giai đoạn UTBT ngay tại thời điểm chẩn đoán. Cho nên chúng tôi chỉ ghi nhận và phân tích kết quả của 380 bệnh nhân UTBT và 380 đối chứng phù hợp.

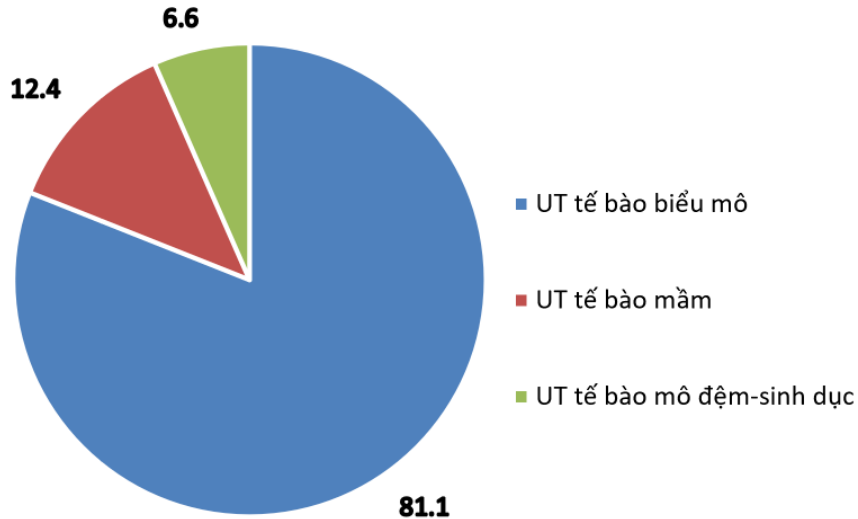
**3.2.1. Đặc điểm chung và lâm sàng nhóm UTBT và nhóm chứng****Bảng 3.6. Các đặc điểm chung của nhóm UTBT và nhóm chứng**

Đặc điểm		UTBT		Đối chứng		p
		n=380	%	n=380	%	
Nhóm tuổi	≤ 39	93	24,5	102	26,8	0,739
	40-59	173	45,5	170	44,7	
	≥ 60	114	30,0	108	28,4	
Tuổi trung bình		49,80 ± 15,50		49,26 ± 13,88		0,610
Trung bình tuổi có kinh		15,22 ± 1,77		15,01 ± 1,85		0,096
Mãn kinh	Còn kinh	166	43,7	177	46,6	0,423
	Mãn kinh	214	56,3	203	53,4	

**Nhận xét:**

- Phân bố nhóm tuổi cả hai nhóm bệnh nhân UTBT và nhóm đối chứng là tương đồng, nhiều nhất ở độ tuổi từ 40-59 và thấp nhất là độ tuổi dưới 40.
- Tuổi trung bình nhóm bệnh nhân UTBT là 49,8 và nhóm chứng là 49,26. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm nghiên cứu.

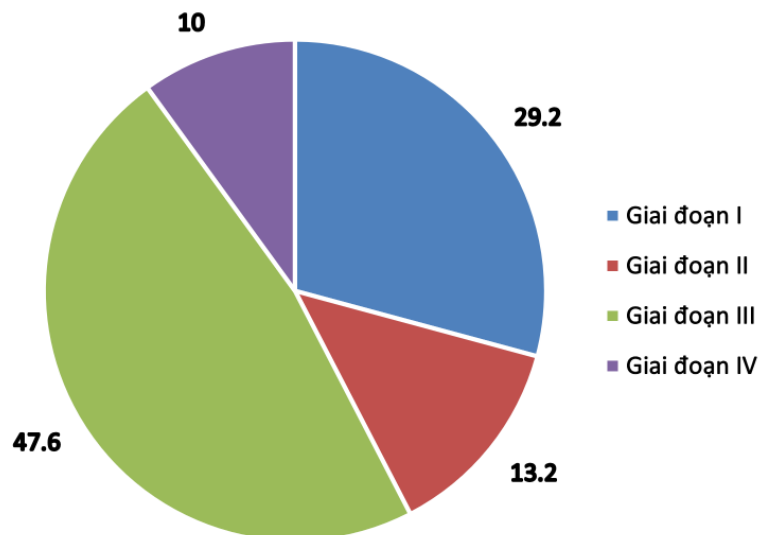
- Trung bình tuổi có kinh và trạng thái mãn kinh giữa hai nhóm cũng không khác biệt có ý nghĩa thống kê.



**Biểu đồ 3.2. Tỷ lệ phân loại mô bệnh học trong nhóm UTBT**

**Nhận xét:**

- Tỷ lệ dạng UT biểu mô chiếm đa số với 81,1%, so với tỷ lệ dạng UT tế bào mầm là 12,4% và tỷ lệ dạng UT mô đệm-sinh dục là 6,6%.



**Biểu đồ 3.3. Tỷ lệ các giai đoạn UTBT theo FIGO của nhóm UTBT**

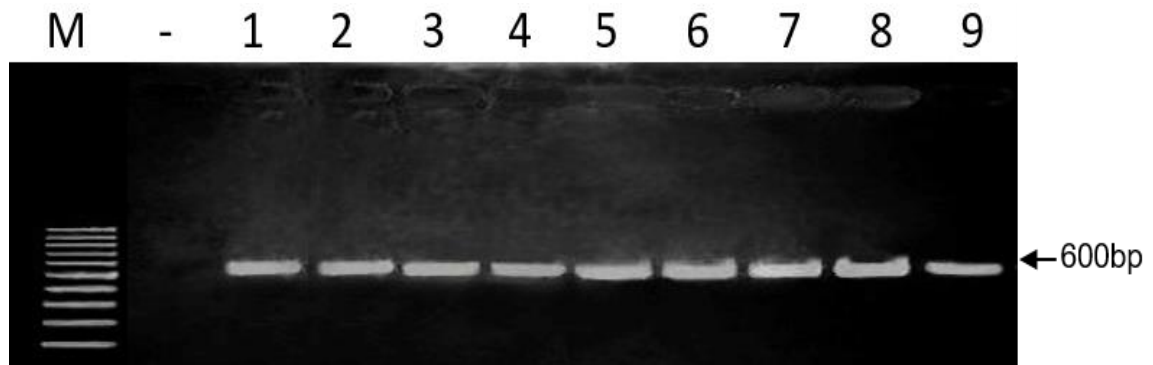
**Nhận xét:**

- Trong các giai đoạn UT, các bệnh nhân ở giai đoạn III chiếm tỷ lệ cao nhất (47,6), thấp nhất là giai đoạn IV (10%).

### 3.2.2. Xác định SNP *RAD51-rs1801320* và mối liên quan với *UTBT*

#### 3.2.2.1. Xác định SNP *RAD51-rs1801320*

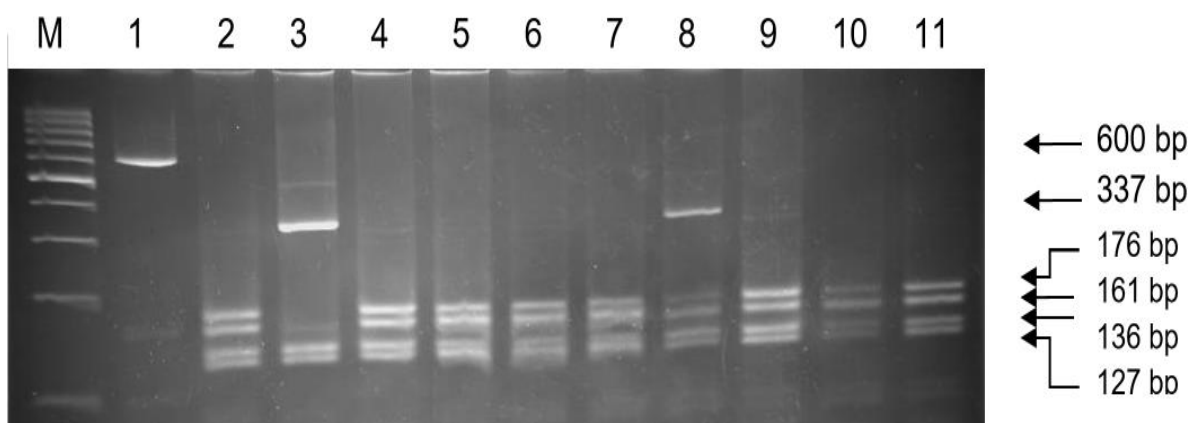
DNA sau khi tách chiết được sử dụng để khuếch đại vùng gen có chứa SNP *RAD51-rs1801320* bằng kỹ thuật PCR. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR trên gel agarose được thể hiện ở Hình 3.13.



**Hình 3.13. Kết quả điện di sản phẩm PCR chứa SNP *RAD51-rs1801320***  
*M*: marker 100 bp; (-): chứng âm. Các sản phẩm PCR của các mẫu DNA

#### Nhận xét:

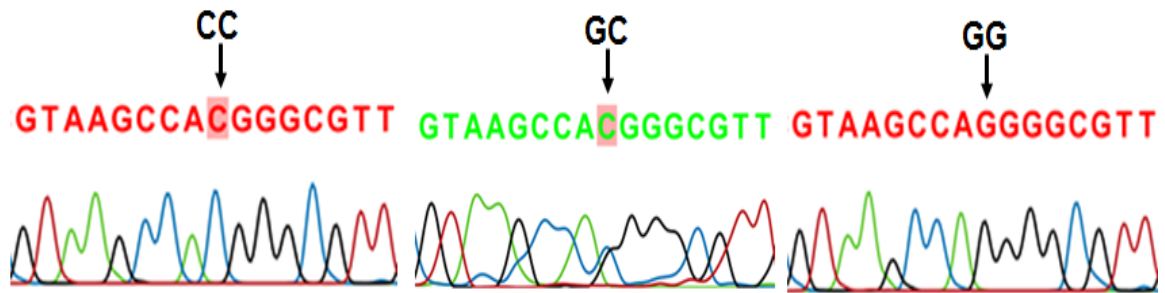
- Sản phẩm PCR chứa SNP *RAD51-rs1801320* thu được chất lượng tốt, gồm 1 băng duy nhất kích thước 600bp. Chứng tỏ cặp mồi đặc hiệu, chu trình nhiệt tối ưu. Sản phẩm PCR sử dụng được cho kỹ thuật PCR-RFLP tiếp theo.



**Hình 3.14. Kết quả điện di sản phẩm cắt có SNP *RAD51-rs1801320***  
*M*: Marker 100 bp; Sản phẩm PCR đoạn gen có *RAD51-rs1801320* (1);  
 Kiểu gen GG (2, 4-7); Kiểu gen CC (3); kiểu gen GC (8).

**Nhận xét:**

- Kết quả điện di sản phẩm của phản ứng cắt enzyme cho thấy ở tất cả các mẫu, các băng thu được rõ nét, có kích thước 337bp, 176bp, 161bp, 136bp, 127bp so trên thang DNA chuẩn. Cho thấy enzyme BstNI đã cắt sản phẩm PCR thành các đoạn có kích thước đúng như tính toán lý thuyết.



**Hình 3.15.** Giải trình tự đại diện sản phẩm PCR chứa SNP RAD51-rs1801320.

**Nhận xét:**

Tín hiệu giải trình tự với các đỉnh nucleotide rõ ràng. Mẫu PCR của kiểu gen CC có một đỉnh nucleotid C duy nhất, kiểu gen GC có hai đỉnh nucleotid G và nucleotid C, kiểu gen GG có một đỉnh nucleotid G duy nhất. Như vậy, kết quả giải trình tự thu được là trùng khớp với kết quả xác định kiểu gen bằng phương pháp RFLP.

### 3.3.2.2. Mối liên quan của SNP RAD51-rs1801320 với nguy cơ mắc UTBT

Kết quả phân tích SNP RAD51-rs1801320 trên tổng số đối tượng nghiên cứu và trong từng nhóm nghiên cứu được thể hiện ở Bảng 3.7.



**Bảng 3.7. Tỷ lệ kiểu gen/ alen SNP RAD51-rs1801320 và mối liên quan với nguy cơ mắc UTBT**

RAD51-rs1801320		Nhóm UTBT		Nhóm chứng		Tổng		p	OR (CI95%)
		n	%	n	%	N	%		
Kiểu alen	G	586	77,1	638	83,9	1224	80,5	0,001	1,0
	C	174	22,9	122	16,1	296	19,5		<b>1,553</b> <b>(1,201-2,008)</b>
Kiểu gen	GG	242	63,7	264	69,5	506	66,6	0,000	1,0
	GC	102	26,8	110	28,9	212	27,9		1,012 (0,734-1,394)
	CC	36	9,5	6	1,6	42	5,5		<b>6,545</b> <b>(2,710-15,807)</b>
Di truyền lặn	GG + GC	344	90,5	374	98,4			0,000	1,0
	CC	36	9,5	6	1,6				<b>6,523</b> <b>(2,715-15,673)</b>
Di truyền trội	GG	242	63,7	264	69,5			0,091	1,0
	GC + CC	138	36,3	116	30,5				1,298 (0,959-1,756)

**Nhận xét:**

- Trong tổng 2 nhóm nghiên cứu tỷ lệ alen C (19,5%) thấp hơn alen G và kiểu gen GG có tần suất cao nhất, và kiểu gen CC có tần suất thấp nhất.

- Tỷ lệ alen C nhóm UTBT cao hơn nhóm chứng. Alen C có nguy cơ mắc UTBT cao hơn alen G 55% với  $p < 0,05$ ,  $OR_{C/G} = 1,55$ ,  $CI_{95\%} = 1,201-2,008$ .

- Tỷ lệ kiểu gen đồng hợp CC ở nhóm UTBT cao hơn so với ở nhóm chứng, và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Kiểu gen CC có nguy cơ mắc UTBT cao hơn các kiểu gen còn lại 6,5 lần trong mô hình so sánh đồng hợp ( $OR_{CC/GG} = 6,545$ ;  $CI_{95\%} = 2,710-15,807$ ) và mô hình di truyền lặn ( $OR_{CC/(GG+GC)} = 6,523$ ;  $CI_{95\%} = 2,715-15,673$ ).

**Bảng 3.8. Mối liên quan giữa SNP rs1801320 với giai đoạn và mô bệnh học**

<b>RAD51-rs1801320</b>		<b>GG</b>		<b>GC</b>		<b>CC</b>		<b>p<sup>1</sup></b>	<b>OR<sub>GG/(GT+TT)</sub><sup>2</sup></b> <b>CI95%</b>
		<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>		
<b>Mô bệnh học</b>	<b>UT biểu mô</b>	199	64,6	82	26,6	27	8,8	0,835	1,0
	<b>UT tế bào mầm</b>	29	61,7	12	25,5	6	12,8		1,163 (0,504-2,684)
	<b>UT mô đệm-sinh dục</b>	14	56,0	8	32,0	3	12,0		1,157 (0,503-2,661)
<b>Giai đoạn</b>	<b>Giai đoạn IV</b>	25	65,8	8	21,1	5	13,1	0,055	1,0
	<b>Giai đoạn I</b>	71	64,0	24	21,6	16	14,4		1,051 (0,487-2,268)
	<b>Giai đoạn II</b>	26	52,0	18	36,0	6	12,0		1,141 (0,488-2,665)
	<b>Giai đoạn III</b>	120	66,3	52	28,7	9	5,0		0,989 (0,488-2,006)

<sup>1</sup> Kiểm định Chi square. <sup>2</sup>OR được điều chỉnh theo các biến tuổi chẩn đoán bệnh, tuổi có kinh, tình trạng mãn kinh theo mô hình hồi quy logistic đa biến. Ung thư biểu mô và giai đoạn IV là các nhóm tham chiếu.

**Nhận xét:**

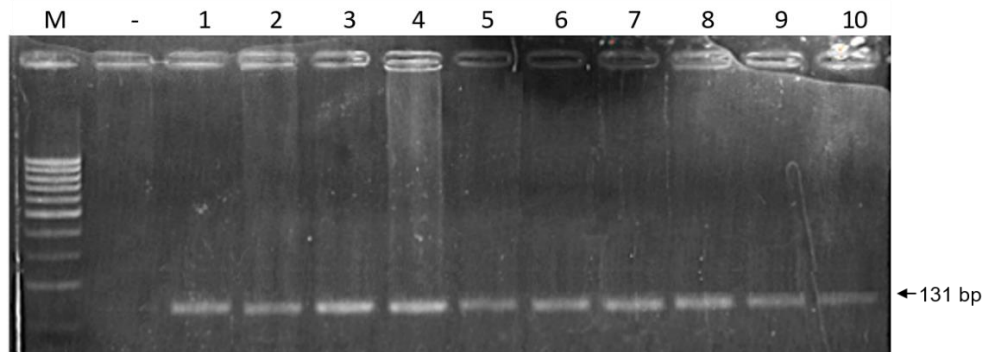
- Phân bố các nhóm mô bệnh học và các giai đoạn phát hiện bệnh theo FIGO giữa các nhóm kiểu gen không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p=0,835 và p=0,055).

- Khi hiệu chỉnh theo các biến tuổi chẩn đoán bệnh, tuổi có kinh, tình trạng mãn kinh theo mô hình hồi quy logistic đa biến chưa tìm thấy mối liên quan giữa các kiểu gen với phân loại mô bệnh học và giai đoạn bệnh.

### 3.2.3. Xác định SNP RAD51-rs1801321 và mối liên quan với UTBT

#### 3.2.3.1. Xác định SNP RAD51-rs1801321

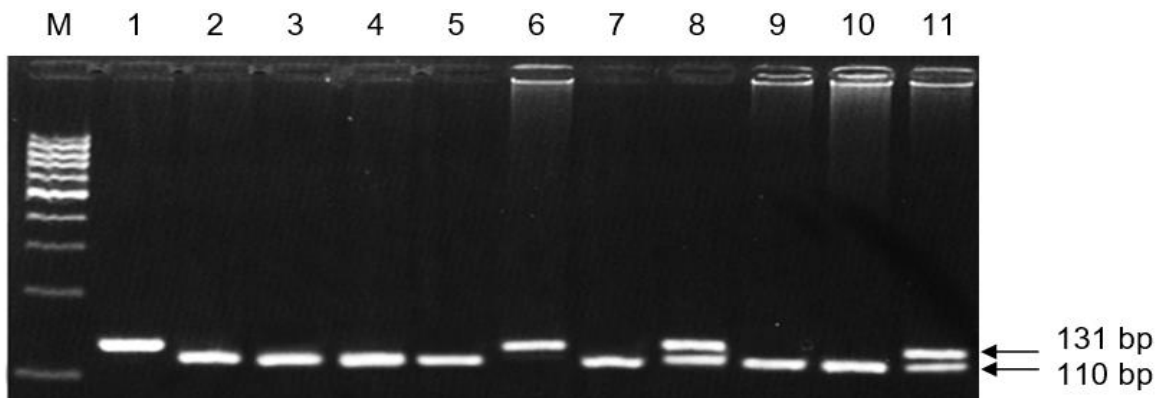
Dùng cặp mồi đặc hiệu và DNA sau tách chiết, khuếch đại đoạn chứa SNP RAD51-rs1801321 bằng PCR. Sản phẩm được điện di trên gel agarose 2%.



**Hình 3.16. Kết quả điện di sản phẩm PCR có SNP RAD51-rs1801321**

*M: marker 100 bp; (-): chứng âm. Các sản phẩm PCR của các mẫu DNA*

**Nhận xét:** Sản phẩm PCR có SNP RAD51-rs1801321 thu được chất lượng tốt, gồm 1 băng duy nhất, kích thước 131bp. Chứng tỏ cặp mồi đặc hiệu, chu trình nhiệt tối ưu. Sản phẩm PCR sử dụng được cho kỹ thuật PCR-RFLP.

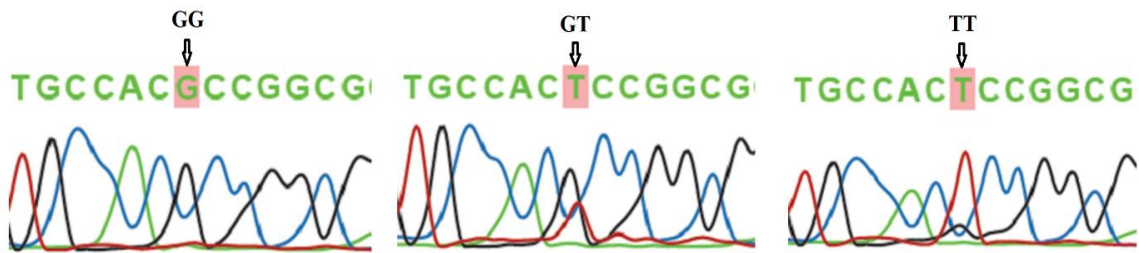


**Hình 3.17. Kết quả điện di sản phẩm cắt chứa SNP rs1801321**

*M: Marker 100 bp; Sản phẩm PCR đoạn gen chứa RAD51-rs1801321 (1); Kiểu gen GG (2-5,7,9,10); Kiểu gen TT (6); kiểu gen GT (8,11)*

**Nhận xét:**

Sản phẩm cắt có các băng thu được rõ nét, kích thước khoảng 131bp, 110bp so trên thang DNA chuẩn. Băng 21bp có kích thước nhỏ không phát hiện được trên ảnh điện di. Cho thấy enzyme *NgoMVI* đã cắt sản phẩm PCR thành các đoạn DNA có kích thước đúng như tính toán lý thuyết.



**Hình 3.18. Giải trình tự đại diện sản phẩm PCR SNP RAD51-rs1801321**

**Nhận xét:**

- Tín hiệu giải trình tự với các đỉnh nucleotide rõ ràng. Kiểu gen TT có một đỉnh nucleotide T duy nhất, kiểu gen GT có 2 đỉnh nucleotide G và T, kiểu gen GG có một đỉnh nucleotide G duy nhất. Như vậy, kết quả giải trình tự thu được là trùng khớp với kết quả xác định kiểu gen bằng PCR-RFLP.

### 3.2.3.2. Mối liên quan của SNP RAD51-rs1801321 với nguy cơ mắc UTBT

Kết quả phân tích SNP RAD51-rs1801320 trên tổng số đối tượng nghiên cứu và trong từng nhóm nghiên cứu được thể hiện ở Bảng 3.9.

**Bảng 3.9. Tỷ lệ kiểu gen/alen SNP RAD51-rs1801321 và mối liên quan với nguy cơ mắc UTBT**

RAD51-rs1801321		Nhóm UTBT		Nhóm chứng		Tổng		p	OR (CI95%)
		n	%	n	%	N	%		
Kiểu alen	T	229	30,1	237	31,2	466	<b>30,7</b>	0,656	1,0
	G	531	69,9	523	68,8	1054	69,3		1,051 (0,845-1,307)
Kiểu gen	GT	111	29,2	159	41,8	270	35,5	<b>0,001</b>	1,0
	GG	210	55,3	182	47,9	392	51,6		<b>1,653</b> (1,208-2,261)
	TT	59	15,5	39	10,3	98	12,9		<b>2,167</b> (1,352-3,473)
Di truyền lặn 1	TT + GT	170	44,7	198	52,1			<b>0,042</b>	1,0
	GG	210	55,3	182	47,9				<b>1,344</b> (1,010-1,788)
Di truyền lặn 2	GG+ GT	321	84,5	341	89,7			<b>0,032</b>	1,0
	TT	59	15,5	39	10,3				<b>1,607</b> (1,043-2,476)

**Nhận xét:**

- Trong tổng hai nhóm tỷ lệ alen T (30,7%) thấp hơn tỷ lệ alen G và kiểu gen GG có tần suất cao nhất, kiểu gen TT có tần suất thấp nhất.

- Tỷ lệ alen G nhóm UTBT (69,9%) cao hơn so với nhóm chứng (68,8%). Alen T và alen G có nguy cơ mắc UTBT không quá khác biệt với  $OR_{G/T}=1,051$  và CI95% chứa 1 ( $p=0,656$ ).

- Tỷ lệ các kiểu gen GG và TT nhóm UTBT cao hơn nhóm chứng, trong khi kiểu gen GT lại thấp hơn. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ( $p=0,001$ ).

- Kiểu gen GT có nguy cơ UTBT thấp hơn GG 65% và chỉ bằng 1 nửa nguy cơ của TT khi so sánh từng cặp với  $OR_{GG/GT}=1,653$ ,  $OR_{TT/GT}=2,167$  và các CI95% đều không chứa 1. Những nhóm chứa kiểu gen GT thì có nguy cơ UTBT thấp hơn kiểu gen đồng hợp còn lại trong các mô hình di truyền lặn với  $OR_{GG/(TT+GT)}=1,344$ ,  $OR_{TT/(GG+GT)}=1,607$  với các CI95% không chứa 1. Càng chứng tỏ kiểu gen GT mang nguy cơ UTBT thấp hơn 2 kiểu gen TT và GG.

**Bảng 3.10. Mối liên quan giữa SNP rs1801321 với giai đoạn và mô bệnh học**

<b>RAD51-rs1801321</b>		<b>GG</b>		<b>GT</b>		<b>TT</b>		<b>p<sup>1</sup></b>	<b>OR<sub>GG/(GT+TT)</sub><sup>2</sup></b> <b>CI95%</b>
		<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>		
<b>Mô bệnh học</b>	<b>UT biểu mô</b>	170	81,0	88	79,3	50	84,7	0,701	1,0
	<b>UT tế bào mầm</b>	27	12,9	13	11,7	7	11,9		1,163 (0,504-2,684)
	<b>UT mô đệm-sinh dục</b>	13	6,2	10	9,0	2	3,4		1,157 (0,503-2,661)
<b>Giai đoạn</b>	<b>Giai đoạn IV</b>	21	10,0	10	9,0	7	11,9	0,979	1,0
	<b>Giai đoạn I</b>	62	29,5	31	27,9	18	30,5		1,051 (0,487-2,268)
	<b>Giai đoạn II</b>	26	12,4	15	13,5	9	15,3		1,141 (0,488-2,665)
	<b>Giai đoạn III</b>	101	48,1	55	49,5	25	42,4		0,989 (0,488-2,006)

<sup>1</sup> Kiểm định Chi square. <sup>2</sup>OR được điều chỉnh theo các biến tuổi chẩn đoán bệnh, tuổi có kinh, tình trạng mãn kinh theo mô hình hồi quy logistic đa biến. Ung thư biểu mô và giai đoạn IV là các nhóm tham chiếu.

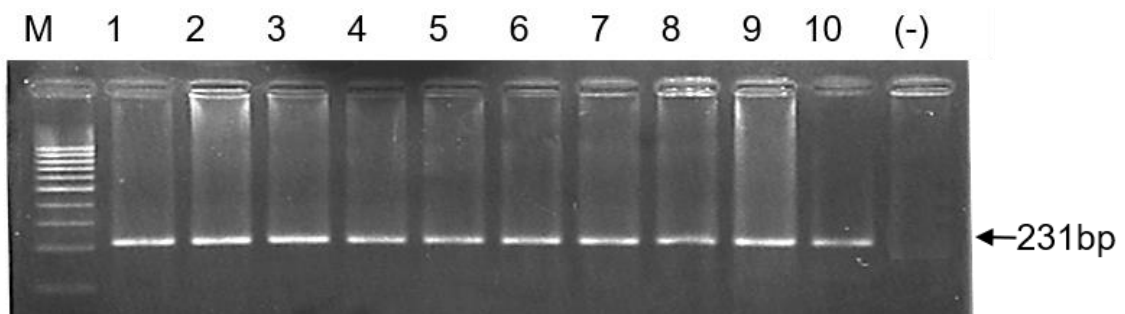
**Nhận xét:**

- Phân bố các nhóm mô bệnh học và các giai đoạn phát hiện bệnh theo FIGO giữa các nhóm kiểu gen không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p=0,701$  và  $p=0,979$ ).

- Khi hiệu chỉnh theo các biến tuổi chẩn đoán bệnh, tuổi có kinh, tình trạng mãn kinh theo mô hình hồi quy logistic đa biến chưa tìm thấy mối liên quan giữa các kiểu gen với phân loại mô bệnh học và giai đoạn bệnh.

**3.2.4. Xác định SNP XRCC3-rs861539 và mối liên quan với UTBT****3.2.4.1. Xác định SNP XRCC3-rs861539**

Sử dụng cặp mồi đặc hiệu khuếch đại vùng gen có chứa SNP XRCC3-rs861539 bằng kỹ thuật PCR. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 2%.

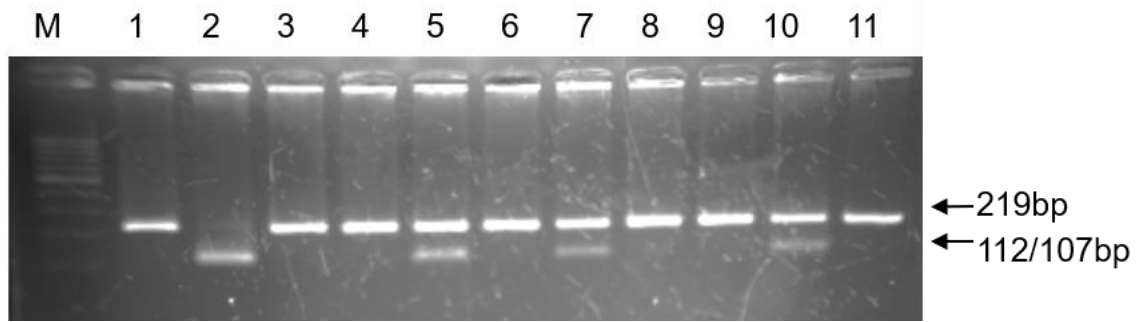


**Hình 3.19. Kết quả điện di sản phẩm PCR chứa SNP XRCC3-rs861539**

*M: marker 100 bp; (-): chứng âm. Các sản phẩm PCR của các mẫu DNA*

**Nhận xét:**

- Sản phẩm PCR đoạn gen có SNP XRCC3-rs861539 thu được có chất lượng tốt, gồm 1 băng duy nhất có kích thước 231 bp. Các sản phẩm PCR có thể sử dụng được cho kỹ thuật RFLP tiếp theo.

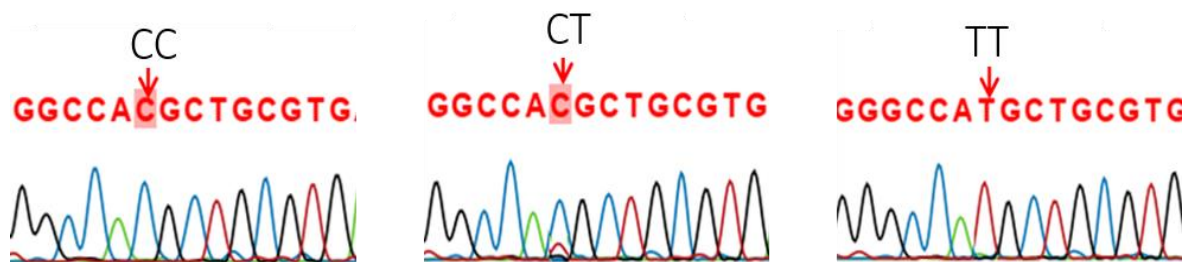


**Hình 3.20. Kết quả điện di sản phẩm cắt chứa SNP XRCC3-rs861539**

*M: Marker 100 bp; Sản phẩm PCR của đoạn gen chứa XRCC3-rs861539 (1); Kiểu gen TT (2); Kiểu gen CC (3, 4, 6, 8, 9, 11); kiểu gen CT (5, 7, 10)*

**Nhận xét:**

- Kết quả điện di sản phẩm cắt enzym các băng thu được rõ nét so trên thang DNA chuẩn. Do 2 băng 112bp và 107bp có kích thước chênh nhau rất ít, vì vậy trên hình ảnh điện di 2 băng phân tách không rõ ràng, chập lại thành một băng. Băng 12bp có kích thước nhỏ không phát hiện được trên ảnh điện di. Từ kết quả trên ta thấy enzym *NlaIII* đã cắt sản phẩm PCR thành các đoạn DNA có kích thước đúng như ý tính toán lý thuyết của nghiên cứu.



**Hình 3.21. Giải trình tự đại diện sản phẩm PCR chứa SNP XRCC3-rs861539**

**Nhận xét:**

- Tín hiệu giải trình tự với các đỉnh nucleotide rõ ràng. Kiểu gen CC có 1 đỉnh nucleotide C duy nhất, kiểu gen CT có 2 đỉnh nucleotide C và nucleotide T, kiểu gen TT có 1 đỉnh nucleotide T duy nhất. Như vậy, kết quả giải trình tự thu được trùng khớp với kết quả xác định kiểu gen bằng phương pháp RFLP.



3.2.4.2. *Mối liên quan của SNP XRCC3-rs861539 với nguy cơ mắc UTBT***Bảng 3.11. Tỷ lệ kiểu gen/alen SNP XRCC3-rs861539 và mối liên quan với nguy cơ UTBT**

XRCC3-rs861539		Nhóm UTBT		Nhóm chứng		Tổng		p	OR (CI95%)
		n	%	n	%	N	%		
Kiểu alen	T	40	5,3	49	6,4	89	5,9	0,326	1,0
	C	720	94,7	711	93,6	1431	94,1		1,241 (0,807-1,908)
Kiểu gen	TT	2	0,5	3	0,8	5	0,7	0,633	1,0
	CT	36	9,5	43	11,3	79	10,4		1,256 (0,199-7,932)
	CC	342	90,0	334	87,9	676	88,9		1,536 (0,255-9,250)
Di truyền lặn	TT + CT	38	10,0	46	12,1			0,355	1,0
	CC	342	90,0	334	87,9				1,240 (0,786-1,954)
Di truyền trội	TT	2	0,5	3	0,8			0,656	1,0
	CC+CT	378	99,5	377	99,2				1,504 (0,250-9,052)

**Nhận xét:**

- Trong tổng 2 nhóm tỉ lệ alen T (5,9%) thấp hơn nhiều so với alen C và kiểu gen đồng hợp CC có tần suất cao nhất, kiểu gen TT có tần suất thấp nhất.

- Tỷ lệ alen C nhóm UTBT (94,7%) cao hơn so với nhóm chứng (93,6%). Alen C mang nguy cơ UTBT cao hơn alen T ( $OR_{C/T}=1,241$ ), tuy nhiên chưa đủ ý nghĩa thống kê khi CI95% của OR (0,807-1,908) chứa 1 và  $p=0,326$ .

- Tỷ lệ kiểu gen CC nhóm UTBT cao hơn nhóm chứng, trong khi CT và TT lại thấp hơn. Tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p=0,633$ ).

- Kiểu gen CC và CT có nguy cơ UTBT cao hơn TT ( $OR_{CC/TT} = 1,536$  và  $OR_{CT/TT} = 1,256$ ), tuy nhiên cũng chưa đủ ý nghĩa thống kê vì các CI95% của OR đều chứa 1.

- Kiểu gen CC có nguy cơ UTBT cao hơn nhóm 2 kiểu gen còn lại trong mô hình di truyền lặn ( $OR_{CC/(CT+TT)} = 1,240$ ), và nhóm kiểu gen chứa alen C có nguy cơ mắc UTBT cao hơn kiểu gen TT ( $OR_{(CC+CT)/TT} = 1,504$ ), nhưng chưa đủ ý nghĩa thống kê khi CI95% của các OR đều chứa 1, và  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.12. Mối liên quan giữa SNP rs861539 với giai đoạn và mô bệnh học**

<i>XRCC3</i> -rs861539		CC		CT		TT		$p^1$	$OR_{CC/(CT+TT)}^2$ CI95%
		n	%	n	%	n	%		
Mô bệnh học	UT biểu mô	279	81,6	27	75,0	2	100,0	0,420	1,0
	UT tế bào mầm	43	12,6	4	11,1	0	0,0		0,770 (0,179-3,303)
	UT mô đệm-sinh dục	20	5,8	5	13,9	0	0,0		0,402 (0,137-1,179)
Giai đoạn	Giai đoạn IV	34	9,9	4	11,1	0	0,0	0,674	1,0
	Giai đoạn I	101	29,5	9	25,0	1	50,0		1,145 (0,325-4,035)
	Giai đoạn II	43	12,6	6	16,7	1	50,0		0,726 (0,196-2,694)
	Giai đoạn III	164	48,0	17	47,2	0	0,0		1,093 (0,344-3,472)

<sup>1</sup> Kiểm định Chi square. <sup>2</sup>OR được điều chỉnh theo các biến tuổi chẩn đoán bệnh, tuổi có kinh, tình trạng mãn kinh theo mô hình hồi quy logistic đa biến. Ung thư biểu mô và giai đoạn IV là các nhóm tham chiếu.

**Nhận xét:**

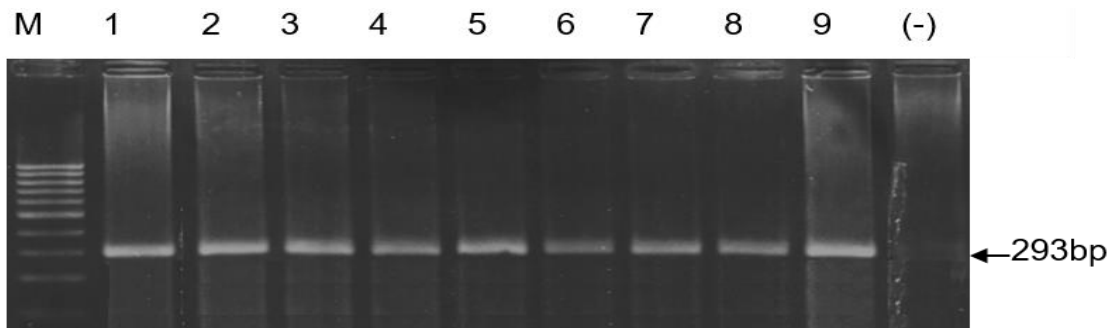
- Phân bố các nhóm mô bệnh học và các giai đoạn phát hiện bệnh theo FIGO giữa các nhóm kiểu gen không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p=0,420$  và  $p=0,674$ ).

- Khi hiệu chỉnh theo các biến tuổi chẩn đoán bệnh, tuổi có kinh, tình trạng mãn kinh theo mô hình hồi quy logistic đa biến chưa tìm thấy mối liên quan giữa các kiểu gen với phân loại mô bệnh học và giai đoạn bệnh.

### 3.2.5. Xác định SNP XRCC3-rs1799794 và mối liên quan với UTBT

#### 3.2.5.1. Xác định SNP XRCC3-rs1799794

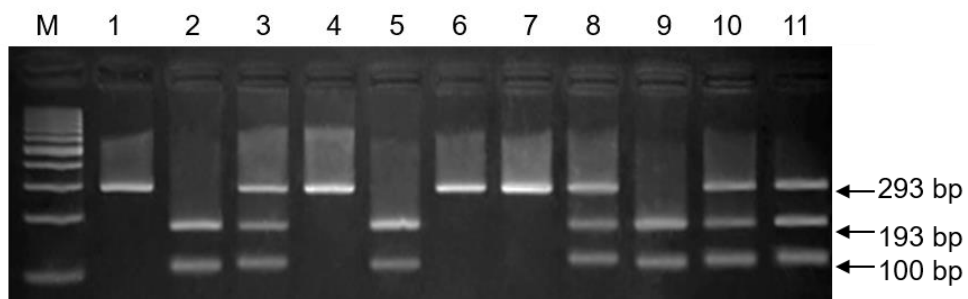
Sử dụng cặp mồi đặc hiệu và DNA sau khi tách chiết để khuếch đại vùng gen có chứa SNP XRCC3-rs1799794 bằng kỹ thuật PCR. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 2%.



**Hình 3.22. Kết quả điện di sản phẩm PCR chứa SNP XRCC3-rs1799794**

*M: marker 100 bp; (-): chứng âm. Các sản phẩm PCR của các mẫu DNA*

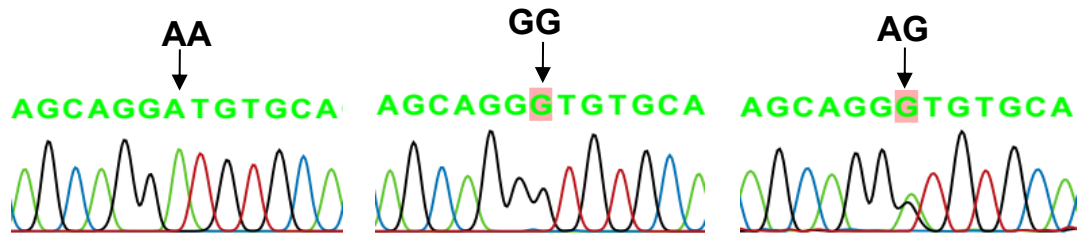
**Nhận xét:** Sản phẩm PCR chứa SNP XRCC3-rs1799794 thu được chất lượng tốt, gồm 1 băng duy nhất kích thước 293bp. Chứng tỏ cặp mồi đặc hiệu, chu trình nhiệt tối ưu. Sản phẩm PCR sử dụng được cho kỹ thuật RFLP tiếp theo.



**Hình 3.23. Kết quả điện di sản phẩm cắt chứa SNP XRCC3-rs1799794**

*M: Marker 100 bp; Sản phẩm PCR đoạn gen chứa XRCC3-rs1799794 (1); Kiểu gen AA (2, 5, 9); Kiểu gen GG (4, 6, 7); kiểu gen AG (3, 8, 10, 11).*

**Nhận xét:** Kết quả điện di sản phẩm của phản ứng cắt cho thấy, các băng thu được rõ nét, không bị đứt gãy, có kích thước 293 bp, 193 bp và 100 bp so trên thang DNA chuẩn. Chứng tỏ enzyme *FokI* đã cắt sản phẩm PCR thành các đoạn DNA có kích thước đúng như tính toán lý thuyết của nghiên cứu.



**Hình 3.24.** Giải trình tự đại diện sản phẩm PCR chứa SNP XRCC3-rs1799794

**Nhận xét:** Tín hiệu giải trình tự với các đỉnh nucleotide rõ ràng. Mẫu PCR của kiểu gen AA có 1 đỉnh nucleotide A duy nhất, kiểu gen AG có 2 đỉnh A và G, kiểu gen GG có 1 đỉnh G duy nhất. Như vậy, kết quả giải trình tự thu được là trùng khớp với kết quả xác định kiểu gen bằng phương pháp RFLP.

### 3.2.5.2. Mối liên quan của SNP XRCC3-rs1799794 với nguy cơ mắc UTBT

Kết quả phân tích SNP XRCC3-rs1799794 trên tổng số đối tượng nghiên cứu và trong từng nhóm được thể hiện ở Bảng 3.13.

**Bảng 3.13. Tỷ lệ kiểu gen/alen SNP XRCC3-rs1799794 và mối liên quan với nguy cơ UTBT**

XRCC3-rs1799794		Nhóm UTBT		Nhóm chứng		Tổng		p	OR (CI95%)
		n	%	n	%	N	%		
Kiểu alen	A	406	53,4	410	53,9	816	53,7	0,837	1,0
	G	354	46,6	350	46,1	704	<b>46,3</b>		1,012 (0,835-1,250)
Kiểu gen	AG	210	55,3	172	45,3	382	50,3	<b>0,022</b>	1,0
	GG	72	18,9	89	23,4	161	21,2		<b>0,663</b> (0,458-0,960)
	AA	98	25,8	119	31,3	217	28,6		<b>0,675</b> (0,483-0,943)
Di truyền trội	AA	98	25,8	119	31,3			0,092	1,0
	GG + AG	282	74,2	261	68,7				1,312 (0,957-1,799)
Di truyền trội	GG	72	18,9	89	23,4			0,132	1,0
	AA+ AG	308	81,1	291	76,6				1,308 (0,922-1,856)

**Nhận xét:**

- Trong tổng 2 nhóm tỷ lệ alen G (46,3%) thấp hơn alen A và kiểu gen dị hợp AG có tần suất cao nhất, kiểu gen đồng hợp GG có tần suất thấp nhất.

- Tỷ lệ alen G trong nhóm UTBT (46,6%) cao hơn so với nhóm chứng (46,1%). Alen G có nguy cơ mắc UTBT cao hơn alen A ( $OR_{G/A} = 1,012$ ), tuy nhiên CI95% của OR chứa 1, nên chưa đủ ý nghĩa thống kê ( $p=0,837$ ).

- Tỷ lệ kiểu gen AG nhóm UTBT cao hơn nhóm chứng, trong khi tỷ lệ AA và GG lại thấp hơn. Và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ( $p=0,022$ ).

- Kiểu gen AG có nguy cơ UTBT cao hơn kiểu gen AA và GG lần lượt là 32,5% và 33,7%, vì khi so sánh từng cặp kiểu gen này với AG cho  $OR_{GG/AG} = 0,663$ ,  $OR_{AA/AG} = 0,675$ , và các CI95% không chứa 1.

- Trong các mô hình di truyền trội, các tổ hợp có kiểu gen AG có nguy cơ UTBT cao hơn các kiểu gen còn lại, với  $OR_{(GG+AG)/AA} = 1,312$  và  $OR_{(AA+AG)/GG} = 1,308$ , tuy các CI95% chứa 1.

**Bảng 3.14. Mối liên quan giữa SNP rs1799794 với giai đoạn và mô bệnh học**

XRCC3-rs1799794		AA		AG		GG		p <sup>1</sup>	OR <sub>AA/(AG+GG)</sub> <sup>2</sup>
		n	%	n	%	n	%		
Mô bệnh học	UT biểu mô	83	84,7	171	81,4	54	75,0	0,594	1,0
	UT tế bào mầm	9	9,2	26	12,4	12	16,7		0,478 (0,175-1,303)
	UT mô đệm-sinh dục	6	6,1	13	6,2	6	8,3		0,628 (0,234-1,686)
Giai đoạn	Giai đoạn IV	8	8,2	20	9,5	10	13,9	0,767	1,0
	Giai đoạn I	31	31,6	61	29,0	19	26,4		1,917 (0,765-4,807)
	Giai đoạn II	16	16,3	26	12,4	8	11,1		1,899 (0,664-5,432)
	Giai đoạn III	43	43,9	103	49,0	35	48,6		1,553 (0,685-3,521)

<sup>1</sup> Kiểm định Chi square. <sup>2</sup>OR được điều chỉnh theo các biến tuổi chẩn đoán bệnh, tuổi có kinh, tình trạng mãn kinh theo mô hình hồi quy logistic đa biến. Ung thư biểu mô và giai đoạn IV là các nhóm tham chiếu.

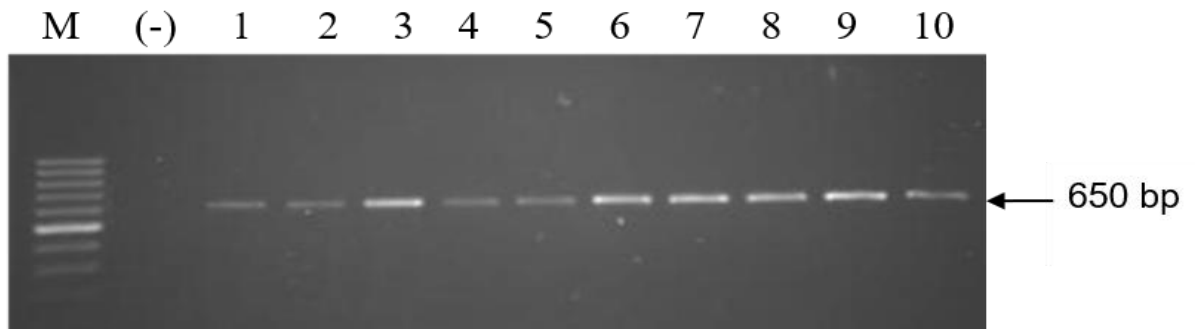
**Nhận xét:**

- Phân bố các nhóm mô bệnh học và các giai đoạn phát hiện bệnh theo FIGO giữa các nhóm kiểu gen không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p=0,594$  và  $p=0,767$ ).

- Khi hiệu chỉnh theo các biến tuổi chẩn đoán bệnh, tuổi có kinh, tình trạng mãn kinh theo mô hình hồi quy logistic đa biến chưa tìm thấy mối liên quan giữa các kiểu gen với phân loại mô bệnh học và giai đoạn bệnh.

**3.2.6. Xác định SNP XRCC3-rs1799796 và mối liên quan với UTBT****3.2.6.1. Kết quả khuếch đại vùng gen chứa SNP XRCC3-rs1799796**

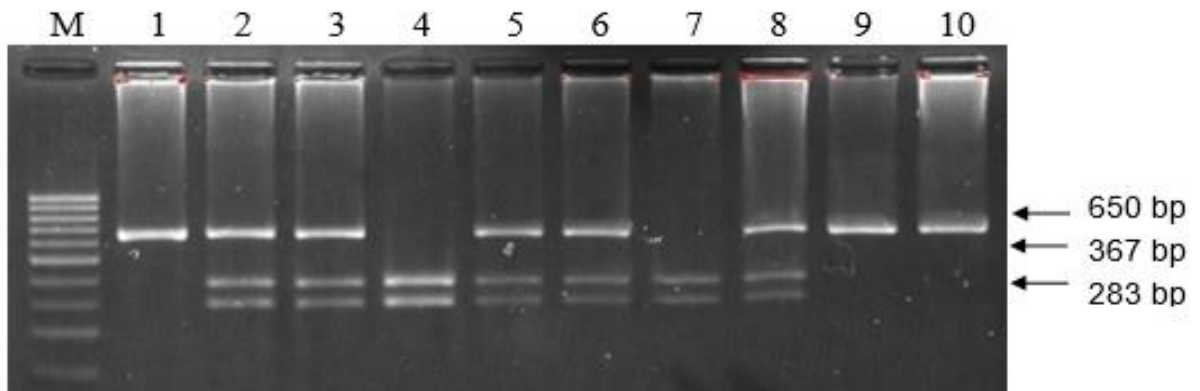
Dùng cặp mồi đặc hiệu và DNA sau tách chiết khuếch đại vùng có SNP XRCC3-rs1799796 bằng PCR. Sản phẩm được điện di trên gel agarose 2%.



**Hình 3.25. Kết quả điện di sản phẩm PCR chứa SNP XRCC3-rs1799796**

*M: marker 100 bp; (-): chứng âm. Các sản phẩm PCR của các mẫu DNA.*

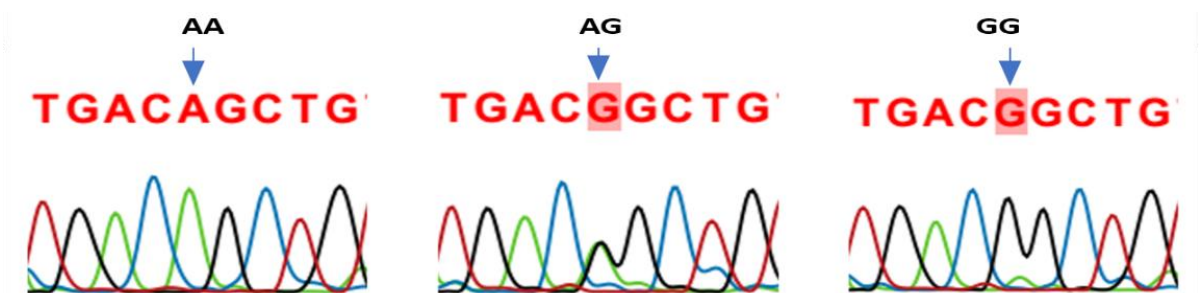
**Nhận xét:** Sản phẩm PCR chứa SNP XRCC3-rs1799796 thu được chất lượng tốt, gồm 1 băng duy nhất kích thước 650bp. Chứng tỏ cặp mồi đặc hiệu, chu trình nhiệt tối ưu. Sản phẩm PCR sử dụng được cho kỹ thuật RFLP tiếp theo.



**Hình 3.26. Kết quả điện di sản phẩm cắt chứa SNP XRCC3-rs1799796**

*M: Marker 100 bp; Sản phẩm PCR đoạn gen chứa SNP rs1799796 (1); Kiểu gen AA (4, 7); Kiểu gen GG (9, 10); Kiểu gen AG (2, 3, 5, 6, 8).*

**Nhận xét:** Sản phẩm cắt có các băng rõ nét, kích thước 650bp, 367bp và 283bp so trên thang DNA chuẩn. Enzyme *PvuII* cắt sản phẩm PCR đúng như tính toán lý thuyết.



**Hình 3.27. Giải trình tự đại diện sản phẩm PCR chứa SNP XRCC3-rs1799796**

**Nhận xét:** Tín hiệu giải trình tự với các đỉnh nucleotide rõ ràng. Mẫu PCR kiểu gen AA có 1 đỉnh A duy nhất, AG có 2 đỉnh A và G, GG có 1 đỉnh G duy nhất. Kết quả này trùng khớp với kết quả xác định kiểu gen bằng RFLP.

### 3.2.6.2. Mối liên quan của SNP XRCC3-rs1799796 với nguy cơ mắc UTBT

Kết quả phân tích SNP XRCC3-rs1799796 trên tổng số đối tượng nghiên cứu và trong từng nhóm nghiên cứu được thể hiện ở Bảng 3.15.



**Bảng 3.15. Tỷ lệ kiểu gen/alen SNP XRCC3-rs1799796 và mối liên quan với nguy cơ UTBT**

XRCC3-rs1799796		Nhóm UTBT		Nhóm chứng		Tổng		p	OR (CI95%)
		n	%	n	%	N	%		
<b>Kiểu alen</b>	<b>A</b>	451	59,3	418	55,0	869	57,2	0,087	1,0
	<b>G</b>	309	40,7	342	45,0	651	<b>42,8</b>		0,837 (0,683-1,026)
<b>Kiểu gen</b>	<b>GG</b>	60	15,8	89	23,4	149	19,6	0,024	1,0
	<b>AG</b>	189	49,7	164	43,2	353	46,4		<b>1,709</b> <b>(1,159-2,521)</b>
	<b>AA</b>	131	34,5	127	33,4	258	33,9		<b>1,530</b> <b>(1,017-2,302)</b>
<b>Di truyền lặn</b>	<b>AG + GG</b>	249	65,5	253	66,6			0,759	1,0
	<b>AA</b>	131	34,5	127	33,4				1,048 (0,776-1,415)
<b>Di truyền trội</b>	<b>GG</b>	60	15,8	89	23,4			0,008	1,0
	<b>AA + AG</b>	320	84,2	291	76,6				<b>1,631</b> <b>(1,134-2,347)</b>

**Nhận xét:**

- Trong tổng 2 nhóm tỷ lệ alen G (42,8%) thấp hơn tỷ lệ alen A và kiểu gen GG có tần suất thấp nhất, kiểu gen AG có tần suất cao nhất.

- Tỷ lệ alen G trong nhóm UTBT (40,7%) thấp hơn nhóm chứng (45,0%). Alen G mang nguy cơ mắc UTBT thấp hơn alen A với  $OR_{G/A}=0,837$ , tuy nhiên chưa đủ ý nghĩa thống kê, do CI95% chứa 1 ( $p=0,087$ ).

- Tỷ lệ các kiểu gen AA và AG nhóm UTBT cao hơn nhóm chứng, trong khi GG lại thấp hơn. Và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ( $p=0,024$ ).

- Kiểu gen AG và AA có nguy cơ UTBT cao hơn GG lần lượt là 70% và 53% vì trong so sánh dị hợp và đồng hợp cho  $OR_{AG/GG} = 1,709$  và  $OR_{AA/GG}=1,530$ ) và CI95% không chứa 1.

- Trong phân tích mô hình di truyền trội lần nữa khẳng định điều này, nhóm kiểu gen chứa alen A (AA+AG) mang nguy cơ UTBT cao hơn kiểu gen GG là 63% với  $OR_{GG/(AA+AG)}=1,631$  và  $CI95\%=1,134-2,347$  không chứa 1.

**Bảng 3.16. Mối liên quan giữa SNP rs1799796 với giai đoạn và mô bệnh học**

XRCC3-rs1799796		AA		AG		GG		p <sup>1</sup>	OR <sub>AA/(AG+GG)</sub> <sup>2</sup> (CI95%)
		n	%	n	%	n	%		
Mô bệnh học	UT biểu mô	100	76,3	159	84,1	49	81,7	0,203	1,0
	UT tế bào mầm	18	13,7	23	12,2	6	10,0		1,636 (0,696-3,848)
	UT mô đệm-sinh dục	13	9,9	7	3,7	5	8,3		2,298 (0,995-5,308)
Giai đoạn	Giai đoạn IV	14	10,7	16	8,5	8	13,3	0,595	1,0
	Giai đoạn I	43	32,8	51	27,0	17	28,3		1,100 (0,498-2,428)
	Giai đoạn II	17	13,0	23	12,2	10	16,7		0,873 (0,360-2,118)
	Giai đoạn III	57	43,5	99	52,4	25	41,7		0,756 (0,362-1,577)

<sup>1</sup> Kiểm định Chi square. <sup>2</sup>OR được điều chỉnh theo các biến tuổi chẩn đoán bệnh, tuổi có kinh, tình trạng mãn kinh theo mô hình hồi quy logistic đa biến. Ung thư biểu mô và giai đoạn IV là các nhóm tham chiếu.

#### Nhận xét:

- Tỷ lệ các nhóm mô bệnh học và các giai đoạn bệnh giữa các nhóm kiểu gen không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p=0,203 và p=0,595).

- Khi hiệu chỉnh theo các biến tuổi chẩn đoán bệnh, tuổi có kinh, tình trạng mãn kinh theo mô hình hồi quy logistic đa biến chưa tìm thấy mối liên quan giữa các kiểu gen với phân loại mô bệnh học và giai đoạn bệnh.

## CHƯƠNG 4 : BÀN LUẬN

### 4.1. Xác định đột biến gen *BRCA1* và *BRCA2* ở bệnh nhân UTBT

Kỹ thuật giải trình tự gen được áp dụng rộng rãi với độ chính xác cao để phát hiện hầu hết các dạng ĐB (mất đoạn, thêm đoạn, thay thế nucleotid...). Nguyên vật liệu để nghiên cứu có sẵn và hầu hết các phòng thí nghiệm đều có thể làm được. Tuy nhiên, kỹ thuật cũng có một số hạn chế như: trong trường hợp gen quá dài thì sẽ phải mất rất nhiều phản ứng giải trình tự và tốn kém. Nếu sản phẩm PCR không đặc hiệu, có nhiều sản phẩm phụ sẽ ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả giải trình tự làm cho các tín hiệu nhiễu không đọc được kết quả. Kỹ thuật giải trình tự đòi hỏi qua nhiều bước nên tốn thời gian, do đó khó áp dụng đối với các bệnh cần chẩn đoán sớm. Mặc dù vẫn còn nhiều nhược điểm nhưng kỹ thuật giải trình tự vẫn là một trong những kỹ thuật được áp dụng nhiều nhất trong nghiên cứu. Để đạt được hiệu quả tối đa nghiên cứu cần kết hợp nhiều phương pháp.

Nghiên cứu tiến hành trên 20 mẫu bệnh nhân UTBT có một hoặc cả hai yếu tố là (1) mắc kèm UT vú và (2) có yếu tố di truyền, với người thân trong gia đình mắc UT vú hoặc/và UTBT.

Trong 20 bệnh nhân UTBT được giải trình tự gen *BRCA1* và *BRCA2* bằng giải trình tự thế hệ mới và kiểm định lại bằng giải trình tự Sanger, xác định được có 6 bệnh nhân mang ĐB gen *BRCA1* chiếm 30%, 2 bệnh nhân mang ĐB gen *BRCA2* chiếm 10% và 12 bệnh nhân không mang ĐB hai gen này (Biểu đồ 3.1).

Trong 8 bệnh nhân mang ĐB *BRCA1/2* thì 6 bệnh nhân mang ĐB *BRCA1* chiếm 75%, 2 bệnh nhân mang ĐB *BRCA2* chiếm 25%, tương đồng với tỉ số tỉ lệ ĐB *BRCA1*/tỉ lệ ĐB *BRCA2* có liên quan hội chứng HBOC là 66%:34% trong tổng quan về hai gen này trên Trung tâm thông tin công nghệ sinh học quốc gia (National Center Biotechnology Information - NCBI) ( $p=0,452$ ).<sup>61</sup>

Ginburg (2010) trong một nghiên cứu trên 292 bệnh nhân UT vú không chọn lọc tiền sử gia đình, trong đó có 3 bệnh nhân có hội chứng HBOC, xác định tỉ lệ mang ĐB *BRCA1/2* chỉ 0,68%, khi chỉ có 1 bệnh nhân mang ĐB trên gen *BRCA1* và 1 bệnh nhân mang ĐB trên *BRCA2*, tuy nhiên cả hai bệnh nhân đều không có hội chứng HBOC.<sup>103</sup> Nghiên cứu gần đây của Hoàng Anh Vũ (2020) trên 101 bệnh nhân UTBT không chọn lọc, chỉ xác định được 8 bệnh nhân mang ĐB trên gen *BRCA1* (7,9%) và không bệnh nhân nào mang ĐB trên *BRCA2*.<sup>120</sup>

Trong tập hợp số liệu của Trung tâm xét nghiệm di truyền Myriad, Hoa Kỳ với 162 914 bệnh nhân (không phải gốc Do thái Ashkenazi) với tiêu chí như nghiên cứu của tôi chọn lọc thì tỉ lệ mang ĐB gen *BRCA1/2* từ 12,1% đến 64,5% (Bảng 4.1.).<sup>121</sup>

**Bảng 4.1. Tỉ lệ ĐB ở gen *BRCA1/2* (không phải Do thái Ashkenazi)**

Tiền sử cá nhân	Tiền sử UT gia đình (ít nhất 1 người thân cấp độ 1, hoặc 2)					
	Không UT vú <50t và UTBT	1 người UT vú <50t, không UTBT	>1 người UT vú; không UTBT	1 người UTBT; không UT vú <50t	>1 người UTBT; không UT vú <50t	UT vú <50t và UTBT
Không UT vú, UTBT	1,5%	2,6%	5,6%	3,0%	5,3%	7,2%
UT vú ≥ 50t	2,2%	3,8%	8,0%	4,9%	9,5%	10,6%
UT vú < 50t	4,7%	10,4%	21,2%	10,3%	21,9%	26,6%
UT vú ở nam	6,9%	17,4%	36,6%	15,9%	*33,3%	28,3%
UTBT, không UT vú	7,7%	<b>14,3%</b>	<b>27,4%</b>	<b>14,7%</b>	<b>22,7%</b>	<b>34,4%</b>
UT vú ≥ 50t và UTBT	<b>12,1%</b>	<b>23,6%</b>	<b>50,0%</b>	<b>23,6%</b>	<b>44,2%</b>	<b>39,4%</b>
UT vú < 50t và UTBT	<b>26,3%</b>	<b>40,0%</b>	<b>64,5%</b>	<b>41,2%</b>	<b>45,5%</b>	<b>57,4%</b>

\*N<20. Tổng số quan sát trong bảng là 162 914 người

#### 4.1.1. Đặc điểm chung của các bệnh nhân được xác định ĐB *BRCA1/2*

Độ tuổi trung bình ở thời điểm chẩn đoán bệnh của những bệnh nhân mang ĐB (51,63) và những bệnh nhân không mang ĐB (50,58) là tương đồng ( $p=0,147$ ) (Bảng 3.1). Tuổi chẩn đoán những bệnh nhân mang ĐB *BRCA1* (47,67) thấp hơn ở những bệnh nhân có ĐB *BRCA2* (63,05), tương đồng với những nhận định của các nghiên cứu trước rằng UTBT ở người mang ĐB *BRCA2* xuất hiện muộn hơn trung bình 8-10 năm so với người mang ĐB *BRCA1*.<sup>122</sup>

Dựa theo hai trong số các tiêu chí chọn bệnh nhân xét nghiệm ĐB gen *BRCA1/2* đối với hội chứng UT vú - UTBT di truyền (HBOC) theo hướng dẫn của Mạng lưới toàn diện về UT quốc gia (NCCN- National comprehensive cancer network) là (1) bệnh nhân mắc hai loại UT, hoặc (2) bệnh nhân mắc UTBT có người thân mắc UT vú hoặc/và UTBT.<sup>123</sup> Trong nghiên cứu này chúng tôi có 10 (50%) bệnh nhân chỉ có yếu tố người thân mắc UT vú hoặc/và UTBT, 8 (40%) bệnh nhân chỉ có yếu tố mắc cả hai loại UT, còn lại 2 (10%) bệnh nhân có cả hai yếu tố trên (Bảng 3.2-A). Trong 12 (60%) bệnh nhân có yếu tố người thân mắc UT thì có 6 bệnh nhân có người thân mắc UT vú, 6 bệnh nhân có người thân mắc UTBT (Bảng 3.2-B, C). Nếu xét riêng yếu tố mắc kèm UT vú thì có 10 (50%) bệnh nhân có mắc kèm UT vú và 10 (50%) bệnh nhân trong tiền sử không ghi nhận UT vú, và không có bệnh nhân nào trong số người thân có mắc UT vú và UTBT (Bảng 3.2-D).

Tỉ lệ mang ĐB *BRCA1/2* trong tổng số bệnh nhân là 40% (8/20), trong đó tỉ lệ mang ĐB trong nhóm bệnh nhân UTBT chỉ có người thân mắc UT vú hoặc/và UTBT (a) là 50% (5/10), trong nhóm chỉ mắc kèm UT vú (b) là 25% (2/8), và nhóm có cả hai yếu tố (c) là 50% (1/2). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỉ lệ mang ĐB gen giữa 3 nhóm bệnh nhân này ( $p>0,05$ ) (Bảng 3.2-A). Đồng thời phân tích mối liên quan tỉ lệ mang ĐB *BRCA1/2* với

về các đặc điểm có hay không có người thân mắc UT vú hoặc UTBT, hoặc có hay không có mắc kèm UT vú cũng cho kết quả không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) (Bảng 3.2-B, C, D). Chưa tìm ra mối liên hệ giữa các yếu tố tiền sử gia đình có người thân mắc UT vú hay UTBT và tiền sử mắc UT vú với khả năng mang ĐB gen *BRCA1/2* ở những bệnh nhân UTBT có hội chứng HBOC.

Dựa vào các bảng số liệu trong nghiên cứu của Frank (2002) về tỉ lệ ĐB gen *BRCA1* và *BRCA2* ở 10 000 người (cả người Do thái Ashkenazi và các dân tộc khác), phân tích những bệnh nhân UTBT không phải người Do thái Ashkenazi cho thấy tỉ lệ mang ĐB *BRCA1/2* trong nhóm bệnh nhân UTBT chỉ có người thân mắc UT vú hoặc/và UTBT (a) là 31,6% (103/326), trong nhóm chỉ có tiền sử UT vú (b) là 19,23% (10/52), và nhóm có cả hai yếu tố trên (c) là 49,4% (41/83), và tỉ lệ mang ĐB trong tổng bệnh nhân 3 nhóm là 33,41% (154/461).<sup>124</sup> Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh tỉ lệ mang ĐB *BRCA1/2* trong 3 nhóm đối tượng riêng và trong tổng số bệnh nhân trong nghiên cứu của tôi và nghiên cứu của Frank (2002) với tất cả giá trị  $p > 0,05$ .

Trong một nghiên cứu đa trung tâm trên 3310 phụ nữ mang ĐB gen *BRCA1/2* ở Hà Lan, Teixxeira nhận thấy khi so sánh với những đối tượng không có người thân mắc UT vú hay UTBT thì những đối tượng có người thân mắc UTBT có xu hướng tăng nguy cơ mắc UTBT, trong khi những người chỉ có người thân mắc UT vú lại có nguy cơ mắc UTBT thấp hơn.<sup>125</sup> Điều này có thể hữu ích khi tư vấn cho những người mang ĐB *BRCA1/2* về nguy cơ mắc UTBT hay UT vú khi biết tiền sử mắc UT trong gia đình họ.

#### **4.1.2. Kết quả xác định ĐB gen *BRCA1/2***

Sản phẩm khuếch đại gen *BRCA1* và *BRCA2* được giải trình tự và so sánh kết quả với trình tự chuẩn trên GeneBank (*BRCA1*: NM\_007294.3 hoặc

NG\_005905, *BRCA2*: NM\_000059.3 hoặc NG\_012772) bằng phần mềm CLC Main Workbench. Kết quả phân tích được thể hiện ở Bảng 3.3 và được khái quát lại trong Sơ đồ 3.1 và Sơ đồ 3.2. Tên của các ĐB theo sự thay đổi nucleotide và sự thay đổi ở cấp độ protein dựa theo nguyên tắc ký hiệu của Hiệp hội biến thể bộ gen người (Human Genome Variation Society- HGVS).

Trong 06 ĐB của gen *BRCA1* có 03 ĐB trên exon 11 (c.1016delA, c.1621C>T và c.2760-2763delACAG), 01 ĐB trên intron 16 (c.4986+4A>T), 01 ĐB trên exon 17 (c.4997dupA) và 1 ĐB trên exon 22 (c.5335delC). Hai ĐB trên gen *BRCA2* đều nằm trên exon 11, trong đó c.4022delC là ĐB mới chưa được báo cáo.

Trong 8 ĐB trên *BRCA1* và *BRCA2* có 4 ĐB vô nghĩa (N) làm xuất hiện mã bộ ba kết thúc sớm ngay tại vị trí ĐB, 3 ĐB dịch khung (F) làm xuất hiện mã bộ ba kết thúc sớm sau vị trí ĐB một số bộ ba và 1 ĐB vị trí cắt (Ss) trên intron 16 gen *BRCA1*. Dựa vào Bảng 1.5 về nguy cơ tương đối so với các ĐB thêm và không xóa ở exon 11 cả hai gen *BRCA1* và *BRCA2*, thì cả hai ĐB trên *BRCA2* đều ở trên exon 11 và đều là ĐB vô nghĩa nên có gây nguy cơ mắc UTBT cao hơn và UT vú thấp hơn các ĐB vị trí khác, và loại khác trên gen *BRCA2*. Còn trên gen *BRCA1* nếu sắp theo thứ tự giảm dần về nguy cơ UTBT thì các ĐB lần lượt là c.1621C>T, c.2763delACAG, c.1016delA, c.4997dupA, c.5335delC và c.4986+4A>T tùy thuộc vào loại ĐB và vị trí xảy ra ĐB (Bảng 1.5).<sup>80</sup>

Tất cả ĐB này được các cơ sở dữ liệu và các công cụ tin sinh học đánh giá hoặc dự đoán là ĐB gây bệnh, làm tăng khả năng mắc các bệnh UT liên quan hội chứng HBOC.<sup>126</sup> Khả năng gây bệnh sẽ được đánh giá riêng lẻ khi phân tích cụ thể với từng ĐB.

Có 4 ĐB nằm trên vùng cụm UTBT (OCCR) (c.1621C>T, c.2760-2763delACAG trên OCCR gen *BRCA1* và c.4022delC, c.5453C>A trên OCCR1 gen *BRCA2*) được cho là có nguy cơ UTBT cao hơn và nguy cơ UT

vú thấp hơn so với các ĐB ngoài vùng cụm UTBT. Ngược lại 3 ĐB trên *BRCA1* c.4986+4A>T, c.4997dupA và c.5335delC nằm trên vùng cụm UT vú (BCCR2) lại mang nguy cơ UT vú cao hơn và nguy cơ UTBT thấp hơn so với các ĐB ở ngoài vùng này (Hình 1.5 và Hình 1.6).<sup>80</sup> Ngoài ra 3 ĐB ở vùng cụm UT vú còn nằm trong vùng chức năng BRCT gắn với protein BACH1, được cho rằng mang nguy cơ UT vú cao hơn những người không mang ĐB với HR là 1,26 (CI95% 1,15-1,38),  $p < 0,001$ , còn nguy cơ UTBT thấp hơn những người không mang ĐB tuy chưa đủ ý nghĩa thống kê khi HR=0,86 (CI95% 0,74-1,01),  $p = 0,09$  (Bảng 1.6).<sup>80</sup>

Hai ĐB trên gen *BRCA2* c.4022delC và 5453C>A tuy nằm trong vùng lặp BRC repeat có chức năng tương tác với protein *RAD51* trong quá trình sửa chữa DNA, tuy nhiên lại nằm ở khoảng trung gian giữa các đoạn lặp BRC này nên ảnh hưởng lên nguy cơ mắc UT vú và UTBT phụ thuộc vùng chức năng chưa được chứng minh (Bảng 1.6).<sup>80</sup>

#### 4.1.2.1. Đột biến NM\_007294.4(*BRCA1*):c.1016delA

Hình 3.1 cho thấy sản phẩm giải trình tự rõ nét, tại vị trí nucleotide 1016 có xóa 1 nucleotide A, do ĐB dị hợp nên các tín hiệu sau vị trí ĐB bị nhiễu do trình tự nucleotide khác nhau. ĐB này không có trên mẫu đối chứng.

ĐB xóa 1 nucleotide A c.1016delA trên exon 11 gen *BRCA1* làm lệch khung đọc với sự tạo thành 1 acid amin Arginine thay vì Lysine và một mã kết thúc sớm tại codon 341 cách vị trí ĐB 2 codon làm cho đoạn protein bị cắt ngắn sớm hoặc phân rã mRNA vô nghĩa-gián tiếp (NMD). Do đó sự thay đổi làm ảnh hưởng chức năng protein *BRCA1* được hiểu là một ĐB gây bệnh.

Tuy nằm trên exon 11 nhưng là ĐB dịch khung nên so với các ĐB vô nghĩa trên exon 11 thì c.1016delA có nguy cơ mắc UT vú cao hơn với HR=1,20, CI95% =1,08-1,33 và nguy cơ mắc UTBT thấp hơn với HR=0,94, CI95%= 0,80-1,11 (Bảng 1.5).<sup>80</sup> *BRCA1*:c.1016delA nằm ngoài những vùng cụm UTBT (OCCR) hay vùng cụm UT vú (BCCR) nên không làm tăng đặc



biệt nguy cơ UT vú hay UTBT hơn các đột biến trong các vùng cụm này (Hình 1.5). Và ĐB cũng không nằm vùng chức năng quan trọng tương tác với các protein khác nên cũng không là yếu tố ảnh hưởng khác biệt khi so sánh nguy cơ UT vú và UTBT với các ĐB vị trí khác.<sup>80</sup>

Các sở dữ liệu như ClinVar, LOVD, ENIGMA đều cho kiểm định ĐB này là ĐB gây bệnh liên quan đến tăng nguy cơ mắc UTBT và UT vú. Phần mềm Mutation Taster của Viện y tế Berlin (Đức) đánh giá tiềm năng gây bệnh của đột biến *BRCA1:c.1016delA*, cho kết quả đột biến này được dự đoán gây bệnh thông qua dịch khung làm phân rã mRNA vô nghĩa gián tiếp, thay đổi chuỗi acid amin, ảnh hưởng lên đặc tính protein.<sup>127</sup> ĐB được phát hiện ở bệnh nhân mắc UTBT có mẹ mắc UT vú. *BRCA1:c.1016delA* được công bố lần đầu trong nghiên cứu của Hogervorst trên những bệnh nhân người Hà Lan mắc UT vú và UTBT (năm 1995).<sup>113</sup>

#### 4.1.2.2 Đột biến NM\_007294.4(*BRCA1*):c.1621C>T

Hình 3.2 cho thấy sản phẩm giải trình tự rõ nét, tại vị trí nucleotide 1612 có xuất hiện đồng thời 2 đỉnh màu của nucleotide T và C (do ĐB dị hợp tử), các tín hiệu hình ảnh sau vị trí ĐB là của sợi DNA không mang ĐB. ĐB này không phát hiện được trên mẫu đối chứng. ĐB c.1621C>T xảy ra thay thế nucleotide C bằng T tại vị trí nucleotide 1621 trên gen *BRCA1* dẫn đến sự thay Glutamin tại codon 541 bằng một mã kết thúc sớm, kết quả của việc này là làm cho đoạn protein *BRCA1* bị cắt ngắn sớm hoặc phân rã mRNA vô nghĩa-gián tiếp (NMD). ĐB vô nghĩa này nằm trên exon 11 nên so với các dạng ĐB khác, nó gây nguy cơ mắc UTBT cao hơn và nguy cơ mắc UT vú thấp hơn so với các ĐB loại khác và các vị trí khác (Bảng 1.5).<sup>80</sup>

*BRCA1:c.1621C>T* nằm ở vị trí thuộc vùng cụm UTBT (OCCR: c.1380-c.4062) trên gen *BRCA1* nên có nguy cơ mắc UTBT cao hơn và nguy cơ mắc UT vú thấp hơn những ĐB không nằm trong vùng cụm UTBT với tỉ số

$RHR_{UT\ vú/UTBT} = 0,62$  (CI95%, 0,56–0,70;  $p = 9 \times 10^{-17}$ ) (Hình 1.5).<sup>80</sup> ĐB này không nằm ở vùng chức năng quan trọng tương tác với các protein khác nên không là yếu tố ảnh hưởng khác biệt khi so sánh nguy cơ UT vú và UTBT với các ĐB vị trí khác về vùng chức năng.<sup>80</sup>

Các sở dữ liệu ClinVar, LOVD, ENIGMA đều cho kiểm định ĐB này là ĐB gây bệnh liên quan đến tăng nguy cơ mắc UTBT và UT vú.

Phần mềm Mutation Taster của Viện y tế Berlin (Đức) dự đoán đột biến *BRCA1:c.1621C>T* là gây bệnh thông qua làm phân rã mRNA vô nghĩa gián tiếp, thay đổi chuỗi acid amin, ảnh hưởng lên đặc tính protein.<sup>127</sup> Theo cơ sở dữ liệu In Silico Prior đánh giá khả năng gây bệnh các biến thể của các gen nhạy cảm ung thư của Viện ung thư Huntsman (Đại học Utah, Hoa kỳ), dựa trên thuật toán MaxEntScan, cho biết đột biến *BRCA1:c.1621C>T* có khả năng gây bệnh cực cao (99%) (Hình 4.1).<sup>128</sup>

<b>BRCA1 c.1621C&gt;T p.Q541*</b>	
<b>Khả năng gây bệnh (do rối loạn chức năng sai nghĩa)</b>	
	<b>Khả năng</b>
<b>Đột biến sai nghĩa</b>	
<b>Trong key domain</b>	
Align GV-GD score: C0	0.03
Align GV-GD score: C15-C25	0.29
Align GV-GD score: C35-C55	0.66
Align GV-GD score: C65	0.81
<b>Ngoài key domain</b>	
Độ nghiêm trọng không liên quan sai nghĩa	0.02
<b>Đột biến câm</b>	0.02
<b>Đột biến vô nghĩa</b>	<b>0.99</b>

Hình 4.1 Khả năng gây bệnh của ĐB *BRCA1:c.1621C>T* trên In Silico Prior

ĐB này đã được công bố lần đầu trong nghiên cứu trên bệnh nhân UT vú và UTBT có tính chất di truyền ở Đức (Dong, 1998).<sup>114</sup> Trong một nghiên cứu của Hoàng Anh Vũ (2020) *BRCA1:c.1621C>T* cũng được phát hiện ở 2 bệnh nhân UTBT người Việt Nam.<sup>120</sup> ĐB này có khả năng là ĐB “đặc trưng” (founder mutation) ở người Việt Nam.

#### 4.1.2.3 Đột biến *NM\_007294.4(BRCA1): c.2760-2763delACAG*

ĐB xóa 4 nucleotide *NM\_007294.4(BRCA1):c.2760-2763delACAG* trên exon 11 còn có 1 định danh khác là *NM\_007294.4(BRCA1):c.2764-2767delACAG* (do có sự lặp lại của trình tự ACAG), làm lệch khung đọc gen *BRCA1* từ codon 922 với sự tạo thành 76 acid amin lạ và 1 mã kết thúc sớm tại codon 999 (p.Thr922fsTer77) làm cắt ngắn sớm protein *BRCA1* hoặc gián tiếp làm vô nghĩa mRNA do phân rã.

ĐB dịch khung này nằm trên exon 11 gây nguy cơ mắc UTBT thấp hơn với  $HR=0,94$ ,  $CI95\%=0,80-1,11$  và nguy cơ mắc UT cao hơn với  $HR=1,20$ ,  $CI95\%=1,08-1,33$  so với các ĐB vô nghĩa trên exon 11 (Bảng 1.5).<sup>80</sup> *BRCA1:c.2760-2763delACAG* nằm ở vị trí thuộc vùng cụm UTBT (OCCR: c.1380-c.4062) trên gen *BRCA1* nên có nguy cơ mắc UTBT cao hơn và nguy cơ mắc UT vú thấp hơn những ĐB không nằm trong vùng cụm OCCR này với  $RHR_{UT\text{ vú}/UTBT} = 0,62$  ( $CI95\%, 0,56-0,70; p=9 \times 10^{-17}$ ) (Hình 1.5).<sup>80</sup> ĐB này không nằm vùng chức năng quan trọng tương tác với các protein khác nên không là yếu tố ảnh hưởng khác biệt khi so sánh nguy cơ UT vú và UTBT với các ĐB vị trí khác.<sup>80</sup>

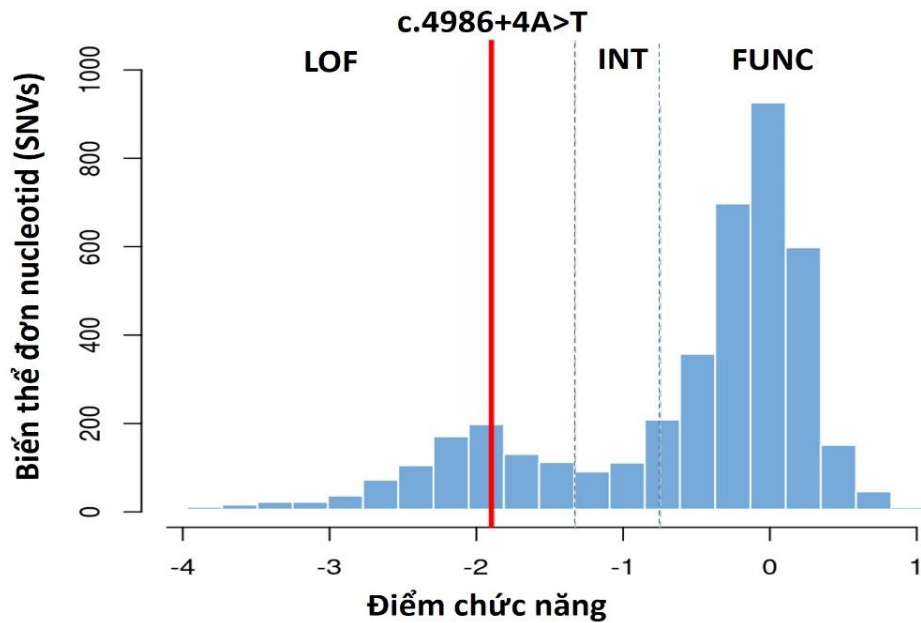
Các cơ sở dữ liệu như ClinVar, LOVD, ENIGMA đều cho kiểm định ĐB này là ĐB gây bệnh liên quan đến tăng nguy cơ mắc UTBT và UT vú. Phần mềm Mutation Taster của Viện y tế Berlin (Đức) dự đoán đột biến này gây bệnh thông qua dịch khung, làm phân rã mRNA vô nghĩa gián tiếp, hoặc thay đổi chuỗi acid amin, ảnh hưởng lên đặc tính protein.<sup>127</sup> ĐB đã được công bố lần đầu trong nghiên cứu trên các bệnh nhân UT người Hà Lan năm 2006.<sup>115</sup>

#### 4.1.2.4 Đột biến NM\_007294.4(*BRCA1*): c.4986+4A>T

ĐB trên intron 16 *BRCA1* tại vị trí nucleotide 4986+4 thay thế nucleotide A bằng T làm thay đổi vị trí cắt intron đầu 5' (splice donor) trong quá trình hoàn thiện mRNA.

ĐB vị trí cắt (splice-site) duy nhất trong nghiên cứu này trong nhóm gây nguy cơ UT vú cao hơn với HR=1,51, CI95%=1,34-1,70 và nguy cơ UTBT thấp hơn với HR=0,73, CI95%=0,60-0,88 so với các ĐB vô nghĩa trên exon 11 (Bảng 1.5).<sup>80</sup> Đây là ĐB nằm trên vùng cụm UT vú BCCR23 (c.4926-c.5169 & c.5261-c.5563) có nguy cơ mắc UT vú cao hơn và UTBT thấp hơn các ĐB tại các vị trí khác ngoài vùng này với  $RHR_{UT\text{ vú}/UTBT} = 1,38$ ; CI95%=1,22–1,55 (Hình 1.5).<sup>80</sup> Tuy nhiên ĐB lại nằm vùng chức năng quan trọng BRCT tương tác với protein BACH1 nên ảnh hưởng lên hoạt động của protein *BRCA1* trong quá trình sửa chữa DNA, làm tăng nguy cơ UT vú so những người không mang ĐB với HR là 1,26 (CI95% 1,15-1,38),  $p < 0,001$ , còn nguy cơ UTBT thấp hơn những người không mang ĐB thì chưa có ý nghĩa thống kê khi HR=0,86 (CI95% 0,74-1,01),  $p=0,09$  (Bảng 1.6).<sup>80</sup>

Các cơ sở dữ liệu ClinVar, LOVD đánh giá đây là ĐB gây bệnh làm tăng nguy cơ mắc UT vú và UTBT. "Cơ sở dữ liệu phân loại chức năng của các biến thể gen *BRCA1*" dựa trên chỉnh sửa bão hòa bộ gen (Saturation Genome Editing-SGE) của Viện Brotman Baty (Đại học Washington, Hoa kỳ), cung cấp điểm chức năng (function score) của 3 893 biến thể đơn nucleotid trong và ở gần 13 exon mã hóa cho domain RING và BRCT của gen *BRCA1* (exon 2-5, và 15-23) phản ánh ảnh hưởng của các biến thể so với bộ gen ban đầu, đã đánh giá biến thể *BRCA1*:c.4986+4A>T là gây mất chức năng của gen *BRCA1* với điểm chức năng (Function score) là -1,897 (Hình 4.2).<sup>112</sup>



Hình 4.2 Điểm chức năng đột biến *BRCA1:c.4986+4A>T*

*Điểm chức năng (Function score):* LOF – Mất chức năng (loss of function) khi điểm chức năng  $< -1,328$ . INT – chức năng tương đối (intermediate) điểm chức năng trong khoảng  $-0,748$  đến  $-1,328$ . FUNC – có chức năng (functional) khi điểm chức năng  $> -0,748$ .

Năm 2012, nhóm nghiên cứu của Wappenschmidt đã sử dụng thuật toán MaxEntScan (Maximum Entropy model) và HSF (Human Splice Finder) để dự đoán về ảnh hưởng của vị trí cắt nối ở các trình tự ĐB và thể đại. Kết quả cho thấy các ĐB IVS16+3G>C, IVS16+4A>G, IVS16+5G>A dường như làm suy yếu các vị trí cắt của intron 16. Kết quả giải trình tự cho thấy sự kết hợp của 65 nucleotide tại đầu 5' của intron 16 dẫn đến sự thay đổi về protein, Met bị thay bởi Val tại codon 1663 và làm xuất hiện mã kết thúc sớm tại codon 1677 (p.Met1663Valfs\*14).<sup>129</sup> Theo cơ sở dữ liệu In Silico Prior đánh giá khả năng gây bệnh khả năng gây bệnh các biến thể của các gen nhạy cảm ung thư của Viện ung thư Huntsman (Đại học Utah, Hoa kỳ), cũng dựa trên thuật toán MaxEntScan, cho biết đột biến vị trí cắt c.4986+4A>T có khả năng gây bệnh cao (97% với Z-score = -4,17) (Hình 4.3).<sup>128</sup>

## BRCA1 c.4986+4A&gt;T vị trí cắt đầu 5'

	Trình tự	MaxEntScan	
		Raw score	Z-score
Wild-type (không đột biến)	TTTgtgagt	5.91	-0.91
Mutant (đột biến)	TTTgtgtgt	-1.62	<b>-4.17</b>

Khả năng gây bệnh  
(do tổn thương vị trí cắt đầu 5')

Phân loại đặc tính	Z-score range	Khả năng
Outside splice consensus region	n/a	.02
Improved (Cải thiện)	increased score	.04
Minimal (Thấp nhất)	Z > 0	.04
Moderate (Vừa phải)	-2 <= Z < 0	.34
High (Cao)	Z < -2.0	<b>.97</b>

Hình 4.3 Khả năng gây bệnh ĐB BRCA1:c.4986+4A&gt;T theo In Silico Prior

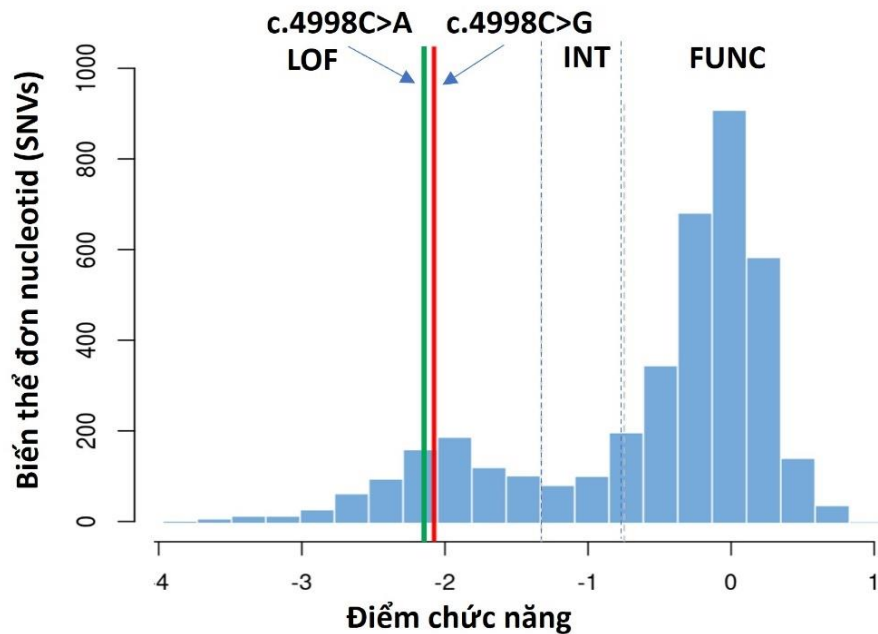
ĐB này được đã được báo cáo tìm thấy ở bệnh nhân UT vú, UTBT người Slovakia có người nhà mắc 2 UT này (Konecny, 2011).<sup>116</sup>

## 4.1.2.5 Đột biến BRCA1:c.4997dupA

ĐB thêm 1 nucleotide A (c.4997dupA) trên exon 17 làm sai khung đọc và thay Tyrosine bằng 1 mã kết thúc tại codon 1666, nên ĐB vô nghĩa này còn được ký hiệu là p.Tyr1666Ter (hay Y1666\*). ĐB vô nghĩa nằm trên exon 17 làm cắt ngắn protein BRCA1 gây nguy cơ mắc UTBT thấp hơn với HR=0,93 (CI95%=0,79-1,09) và nguy cơ UT vú cao hơn với HR=1,25 (CI95%=1,12-1,38) so với các ĐB vô nghĩa nằm trên exon 11 (Bảng 1.5).<sup>80</sup> Đây là ĐB nằm trên vùng cụm UT vú BCCR23 (c.4926-c.5169 & c.5261-

c.5563) có nguy cơ mắc UT vú cao hơn và UTBT thấp hơn các ĐB tại các vị trí khác ngoài vùng này với  $RHR_{UT\text{ vú}/UTBT} = 1,38$ ;  $CI95\% = 1,22-1,55$  (Hình 1.5).<sup>80</sup> Tuy nhiên ĐB lại nằm vùng chức năng quan trọng BRCT tương tác với protein BACH1 nên ảnh hưởng lên hoạt động của protein *BRCA1* trong quá trình sửa chữa DNA, làm tăng nguy cơ UT vú so những người không mang ĐB với HR là 1,26 ( $CI95\% 1,15-1,38$ ),  $p < 0,001$ , còn nguy cơ UTBT thấp hơn những người không mang ĐB thì chưa có ý nghĩa thống kê khi  $HR = 0,86$  ( $CI95\% 0,74-1,01$ ),  $p = 0,09$  (Bảng 1.6).<sup>80</sup>

ĐB đột biến được đưa thông tin lên cơ sở dữ liệu ClinVar từ những trung tâm xét nghiệm riêng lẻ, được ENIGMA kiểm định đánh giá là ĐB gây bệnh, tuy nhiên chưa được công bố trong các bài báo. ĐB này có sự ảnh hưởng lên chức năng protein *BRCA1* tương đồng với hai ĐB c.4998C>A và c.4998C>G cũng thay codon TAC mã hóa Tyrosine thành mã kết thúc sớm TAA hay TAG (p.Tyr1666Ter). Hai ĐB *BRCA1*:c.4998C>A và c.4998C>G cũng được các cơ sở dữ liệu ClinVar, LOVD, ENIGMA đánh giá là ĐB gây bệnh. Theo "Cơ sở dữ liệu phân loại chức năng của các biến thể gen *BRCA1* - SGE" của Viện Brotman Baty (Đại học Washington, Hoa kỳ), đã đánh giá các đột biến *BRCA1*:p.Tyr1666Ter gồm c.4998C>A và c.4998C>G là gây mất chức năng của gen *BRCA1* với điểm chức năng (Function score) lần lượt là -2,138 và -2,076 (Hình 4.4).<sup>112</sup>



Hình 4.4 Điểm chức năng các ĐB *BRCA1*:c.4998C>A và c.4998C>G

Điểm chức năng (Function score): LOF – Mất chức năng (loss of function) khi điểm chức năng  $< -1,328$ . INT – chức năng tương đối (intermediate) khi điểm chức năng trong khoảng  $-0,748$  đến  $-1,328$ . FUNC – có chức năng (functional) khi điểm chức năng  $> 0,748$ .

Phần mềm Mutation Taster của Viện y tế Berlin (Đức) dự đoán đột biến *BRCA1*:c.4997dupA là gây bệnh thông qua làm phân rã mRNA vô nghĩa gián tiếp, thay đổi chuỗi acid amin, ảnh hưởng lên đặc tính protein *BRCA1*.<sup>127</sup> Ngoài ra, theo cơ sở dữ liệu In Silico Prior của Viện ung thư Huntsman (Đại học Utah, Hoa kỳ), các đột biến *BRCA1*:p.Tyr1666Ter gồm c.4998C>A và c.4998C>G có khả năng gây bệnh cực cao (0,99) (Hình 4.5).<sup>128</sup>



BRCA1 c.4998C>A p.Y1666*		BRCA1 c.4998C>G p.Y1666*	
Khả năng gây bệnh (do rối loạn chức năng sai nghĩa)		Khả năng gây bệnh (do rối loạn chức năng sai nghĩa)	
<b>Đột biến sai nghĩa</b>	<b>Khả năng</b>	<b>Đột biến sai nghĩa</b>	<b>Khả năng</b>
Trong key domain		Trong key domain	
Align GV-GD score: C0	0.03	Align GV-GD score: C0	0.03
Align GV-GD score: C15-C25	0.29	Align GV-GD score: C15-C25	0.29
Align GV-GD score: C35-C55	0.66	Align GV-GD score: C35-C55	0.66
Align GV-GD score: C65	0.81	Align GV-GD score: C65	0.81
Ngoài key domain		Ngoài key domain	
Độ nghiêm trọng không liên quan sai nghĩa	0.02	Độ nghiêm trọng không liên quan sai nghĩa	0.02
<b>Đột biến câm</b>	0.02	<b>Đột biến câm</b>	0.02
<b>Đột biến vô nghĩa</b>	<b>0.99</b>	<b>Đột biến vô nghĩa</b>	<b>0.99</b>

Hình 4.5 Khả năng gây bệnh của đột biến BRCA1:c.4998C>A và c.4998C>G theo In Silico Prior

ĐB vô nghĩa này được phát hiện ở bệnh nhân UTBT KBT7 có 01 chị gái mắc UT vú. Ngoài ra nằm trong phạm vi đề tài chung cấp bộ của nghiên cứu này, ĐB còn xác định được trên 1 bệnh nhân UT vú có mẹ và bà ngoại mắc UTBT và dì bị UT vú. Xác định được em gái và con gái của bệnh nhân UT vú này cũng mang ĐB BRCA1:c.4997dupA. Trong báo cáo mới gần đây của Trần Văn Thuận (2020) về ĐB BRCA1:c.4998insA cũng tương ứng mức ảnh hưởng cấp độ protein p.Tyr1666Ter ở một bệnh nhân UT vú người Việt Nam có một em gái và con gái mắc UT vú, 9 trên 14 người thân của bệnh nhân được xét nghiệm, mang ĐB.<sup>130</sup> ĐB p.Tyr1666Ter có khả năng là ĐB “đặc trưng” (founder mutation) ở người Việt Nam.

#### 4.1.2.6 Đột biến NM\_007294.4(BRCA1): c.5335delC

ĐB c.5335delC (p.Gln1779fsTer14) trên exon 22 gen BRCA1 xóa 01 nucleotide C tại vị trí 5335 làm 13 acid amin từ vị trí codon 1779 thay đổi và xuất hiện stop codon cách vị trí ĐB 14 bộ ba mã hóa. Điều này cũng làm cho protein BRCA1 bị cắt ngắn đi, ảnh hưởng lên thể hiện chức năng protein.

ĐB tạo stop codon sớm trên exon 22 nên so với các ĐB vô nghĩa trên exon 11 có nguy cơ mắc UTBT thấp hơn với  $HR=0,93$ ,  $CI95\%=0,79-1,09$  và nguy cơ mắc UT vú cao hơn với  $HR=1,25$ ,  $CI95\%=1,12-1,38$  (Bảng 1.5).<sup>80</sup> ĐB *BRCA1:c.5335delC* nằm trên vùng chức năng quan trọng BRCT tương tác với protein BACH1 nên ảnh hưởng lên hoạt động của protein *BRCA1* trong quá trình sửa chữa DNA, làm tăng nguy cơ UT vú so những người không mang ĐB với  $HR$  là 1,26 ( $CI95\%$  1,15-1,38),  $p<0,001$ , còn nguy cơ UTBT thấp hơn những người không mang ĐB thì chưa có ý nghĩa thống kê khi  $HR=0,86$  ( $CI95\%$  0,74-1,01),  $p=0,09$  (Bảng 1.6).<sup>80</sup> Ngoài ra do ĐB nằm trên vùng cụm UT vú BCCR23 (c.4926-c.5169 & c.5261-c.5563) nên có nguy cơ mắc UT vú cao hơn và UTBT thấp hơn các ĐB tại các vị trí khác ngoài vùng này với  $RHR_{UT\text{ vú}/UTBT}=1,38$ ;  $CI95\%=1,22-1,55$  (Hình 1.5).<sup>80</sup>

Các cơ sở dữ liệu ClinVar, LOVD, ENIGMA đều đánh giá ĐB dịch khung gây stop codon sớm này là ĐB gây bệnh. Phần mềm Mutation Taster của Viện y tế Berlin (Đức) dự đoán đột biến *BRCA1:c.5335delC* là gây bệnh thông qua dịch khung, làm phân rã mRNA vô nghĩa gián tiếp, thay đổi chuỗi acid amin, ảnh hưởng lên đặc tính protein *BRCA1*.<sup>127</sup> Trong nghiên cứu này ĐB được phát hiện trên bệnh nhân UTBT có di mắc UTBT. ĐB p.Gln1779fsTer14 này được lần đầu phát hiện ở bệnh nhân UT vú người Philippine (De Leon Matsuda, 2002).<sup>118</sup> Ở người Việt Nam ĐB này đã được tìm thấy ở 2 chị em ruột mắc UT vú và 9 trên 22 thành viên chưa phát hiện UT của gia đình này (Hoàng Anh Vũ, 2010).<sup>104</sup> Và trong báo cáo mới đây của nhóm tác giả này xác định được ĐB ở một bệnh nhân UTBT.<sup>120</sup> Cho thấy khả năng ĐB này là ĐB “đặc trưng” (founder mutation) ở người Việt Nam.

#### 4.1.2.7. Đột biến *NM\_000059.4(BRCA2):c.4022delC*

ĐB mới *NM\_000059.4(BRCA2):c.4022delC* xóa 1 nucleotide Cytosine tại vị trí 4022 trên exon 11 gen *BRCA2* dẫn đến sự thay thế acid amin Serine tại codon 1341 bằng 1 mã kết thúc sớm (p.Ser1341Ter, TCA>TAA), làm cho protein *BRCA2* bị cắt ngắn hoặc phân rã mRNA vô nghĩa-gián tiếp.

ĐB vô nghĩa này nằm trên exon 11 gây nguy cơ UTBT cao hơn và nguy cơ UT vú thấp hơn so với các ĐB loại khác và các vị trí khác (Bảng 1.5).<sup>80</sup> *BRCA2:c.4022delC* nằm ở vị trí thuộc vùng cụm UTBT (OCCR1: c.3249-c.5681) trên *BRCA2* nên có nguy cơ UTBT cao hơn và nguy cơ UT vú thấp hơn những ĐB không nằm trong vùng cụm OCCR1 này với  $RHR_{UT\text{ vú}/UTBT} = 0,51$  (CI95%, 0,44–0,60;) (Hình 1.6).<sup>80</sup> ĐB này nằm ngoài giới hạn các vùng lặp BRC repeats (giữa BRC2 và BRC3) - chức năng gắn với protein RAD51 nên không là yếu tố ảnh hưởng khác biệt khi so sánh nguy cơ UT vú và UTBT với các ĐB vị trí khác (Bảng 1.6).<sup>80</sup>

Đây là một ĐB mới, chưa được công bố, nên các cơ sở dữ liệu như ClinVar, LOVD, ENIGMA đều không cung cấp thông tin kiểm định ĐB này là ĐB gây bệnh hay không. Ứng dụng các công cụ tin sinh học có thể tiên lượng khả năng gây bệnh của đột biến mới này như phần mềm Mutation Taster của Viện y tế Berlin (Đức), cho kết quả đột biến này được dự đoán gây bệnh thông qua phân rã mRNA vô nghĩa-gián tiếp, thay đổi chuỗi acid amin, ảnh hưởng lên đặc tính protein *BRCA2*.<sup>127</sup>

Ngoài ra do cấp độ protein p.Ser1341Ter của *BRCA2:c.4022delC* lại tương đồng với các ĐB *BRCA2:c.4022C>A* (TCA>TAA) và *BRCA2:c.4022C>G* (TCA>TGA) khi thay thế nucleotide C ở vị trí 4022 bằng nucleotide A và G đều tạo thành các stop codon sớm. Các ĐB này đã được xác định trên các bệnh nhân HBOC Nhật Bản<sup>131</sup> và được kiểm định là ĐB gây bệnh liên quan đến tăng nguy cơ mắc UTBT và UT vú bởi các cơ sở dữ liệu ClinVar, LOVD, ENIGMA. Tiên lượng khả năng gây bệnh của các đột biến *BRCA2:p.Ser1341Ter* gồm *c.4022C>A* và *c.4022C>G* trên cơ sở dữ liệu In Silico Prior (Đại học Utah, Hoa kỳ) là cực cao (0,99) (Hình 4.6).<sup>128</sup>

BRCA2 c.4022C>A p.S1341*		BRCA2 c.4022C>G p.S1341*	
Khả năng gây bệnh (do rối loạn chức năng sai nghĩa)		Khả năng gây bệnh (do rối loạn chức năng sai nghĩa)	
	Khả năng		Khả năng
<b>Đột biến sai nghĩa</b>		<b>Đột biến sai nghĩa</b>	
Trong key domain		Trong key domain	
Align GV-GD score: C0	0.03	Align GV-GD score: C0	0.03
Align GV-GD score: C15-C25	0.29	Align GV-GD score: C15-C25	0.29
Align GV-GD score: C35-C55	0.66	Align GV-GD score: C35-C55	0.66
Align GV-GD score: C65	0.81	Align GV-GD score: C65	0.81
Ngoài key domain		Ngoài key domain	
Độ nghiêm trọng không liên quan sai nghĩa	0.02	Độ nghiêm trọng không liên quan sai nghĩa	0.02
<b>Đột biến câm</b>	0.02	<b>Đột biến câm</b>	0.02
<b>Đột biến vô nghĩa</b>	<b>0.99</b>	<b>Đột biến vô nghĩa</b>	<b>0.99</b>

Hình 4.6 Khả năng gây bệnh 02 đột biến BRCA2:c.4022C>A và c.4022C>G theo In Silico Prior

Trong nghiên cứu của chúng tôi đột biến BRCA2:c.4022delC được xác định trên bệnh nhân KBT15 mắc UTBT với tiền sử đã mắc UT vú.

#### 4.1.2.8. Đột biến NM\_000059.4(BRCA2): c.5453C>A

Đột biến NM\_000059.4(BRCA2):c.5453C>A làm thay thế nucleotide C ở exon 11 gen BRCA2 bằng nucleotide A làm cho acid amin Serine tại codon 1818 trở thành 1 mã kết thúc sớm, dẫn đến protein BRCA2 bị cắt ngắn hoặc phân rã mRNA vô nghĩa gián tiếp.

Cũng như BRCA2:c.4022delC thì BRCA2:c.5453C>A cũng là một đột biến vô nghĩa nằm trên exon 11 nên gây nguy cơ UTBT cao hơn và nguy cơ UT vú thấp hơn so với các đột biến loại khác và vị trí khác (Bảng 1.5).<sup>80</sup> Và cũng nằm ở vị trí thuộc vùng cụm UTBT (OCCR1: c.3249-c.5681) trên gen BRCA2 nên có nguy cơ mắc UTBT cao hơn và nguy cơ mắc UT vú thấp hơn những đột biến không nằm trong vùng cụm OCCR1 này với  $RHR_{UT\text{ vú}/UTBT} = 0,51$ ; CI95%, 0,44–0,60;  $p = 6 \times 10^{-17}$  (Hình 1.6).<sup>80</sup> Đột biến này cũng nằm ngoài giới hạn các vùng lặp BRC repeats (giữa BRC5 và BRC6) - chức năng gắn với protein RAD51 nên không là yếu tố ảnh hưởng khác biệt khi so sánh nguy cơ UT vú và UTBT với các đột biến vị trí khác (Bảng 1.6).<sup>80</sup>

Cơ sở dữ liệu ClinVar đánh giá ĐB vô nghĩa gây stop codon sớm này là ĐB gây bệnh. Phần mềm Mutation Taster của Viện y tế Berlin (Đức) dự đoán đột biến *BRCA2*:c.5453C>A là gây bệnh thông qua dịch khung, làm phân rã mRNA vô nghĩa gián tiếp, thay đổi chuỗi acid amin, ảnh hưởng lên đặc tính protein *BRCA2*.<sup>127</sup> Ngoài ra, tiên lượng khả năng gây bệnh của đột biến *BRCA2*: c.5453C>A trên cơ sở dữ liệu In Silico Prior (Đại học Utah, Hoa kỳ) là cực cao (0,99) (Hình 4.7).<sup>128</sup>

<b>BRCA2 c.5453C&gt;A p.S1818*</b>	
<b>Khả năng gây bệnh</b> (do rối loạn chức năng sai nghĩa)	
	<b>Khả năng</b>
<b>Đột biến sai nghĩa</b>	
Trong key domain	
Align GV-GD score: C0	0.03
Align GV-GD score: C15-C25	0.29
Align GV-GD score: C35-C55	0.66
Align GV-GD score: C65	0.81
Ngoài key domain	
Độ nghiêm trọng không liên quan sai nghĩa	0.02
<b>Đột biến câm</b>	0.02
<b>Đột biến vô nghĩa</b>	<b>0.99</b>

Hình 4.7 Khả năng gây bệnh của ĐB *BRCA2*:c.5453C>A theo In Silico Prior

Trong nghiên cứu này ĐB được phát hiện ở 1 bệnh nhân mắc UTBT có tiền sử mắc UT vú. Năm 2017, nhóm nghiên cứu của Zhao cũng phát hiện được ĐB soma p.Ser1818Ter do sự thay thế nucleotide c.5453C>G ở bệnh nhân UTBT Trung Quốc.<sup>119</sup>

#### 4.1.3. Mối liên quan giữa đột biến *BRCA1/2* và mô bệnh học

Kết quả mô bệnh học của các bệnh nhân UTBT chủ yếu là UT biểu mô buồng trứng dạng thanh dịch (16 người chiếm 80%), trong đó có 6 bệnh nhân mang ĐB gen *BRCA1/2* chiếm 75% bệnh nhân mang ĐB gen (Bảng 3.4). Dù không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về mô bệnh học giữa nhóm bệnh

nhân UTBT mang ĐB *BRCA1/2* và nhóm không mang ĐB ( $p=0,358$ ), tuy nhiên kết quả trong nhóm mang ĐB gen *BRCA1/2* chiếm đa số là UTBT biểu mô thanh dịch tương đồng với các nghiên cứu khác. Các nghiên cứu trước đây báo cáo tỉ lệ UTBT thanh dịch chiếm 75-100% trong các bệnh nhân UTBT mang ĐB gen *BRCA1/2*.<sup>132,133</sup> Werness (2004) nhận định UTBT phát triển ở những phụ nữ mang ĐB *BRCA1* có khả năng nhiều là UTBT không phải dạng dịch nhầy hơn ở nhóm phụ nữ không mang ĐB ( $p<0,01$ ).<sup>134</sup> Trong một phân tích tổng quan của Hodgson (2020) cho rằng các ĐB *BRCA1/2* được tìm thấy chủ yếu ở các bệnh nhân với mô bệnh học UT biểu mô buồng trứng và UTBT thanh dịch độ ác tính cao được cho là dấu hiệu chẩn đoán của UTBT liên quan hội chứng HBOC.<sup>135</sup> Tần suất mang ĐB gen *BRCA1/2* tăng lên khoảng 25% ở những bệnh nhân được có kết quả mô bệnh học này. Ngoài ra còn có những dạng mô bệnh học khác như UTBT dạng nội mạc tử cung, UTBT dịch nhầy, UTBT tế bào sáng cũng được mô tả có liên quan đến hội chứng HBOC.<sup>135</sup> Trong một phân tích của Handley (2018) với 887 bệnh nhân UTBT được xác định ĐB *BRCA1/2* tại Canada từ 2001 đến 2014, báo cáo rằng các bệnh nhân UT biểu mô buồng trứng thanh dịch có khả năng mang ĐB *BRCA1/2* hơn với tỉ lệ 21,3% so với UTBT dạng nội mạc và tế bào sáng chỉ với tỉ lệ 7,5% ( $p<0,001$ ).<sup>136</sup>

Phân tích mối liên quan giữa kiểu đột biến của hai gen *BRCA1*, *BRCA2* với mô bệnh học, thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về mô bệnh học giữa các nhóm kiểu đột biến dịch khung, vô nghĩa và vị trí cắt trên gen *BRCA1* (Bảng 3.5). Trong khi cả hai bệnh nhân mang đột biến vô nghĩa trên gen *BRCA2* đều có mô bệnh học là ung thư biểu mô thanh dịch nên chưa thể đánh giá mối liên quan giữa mô bệnh học và kiểu đột biến trên gen *BRCA2*. Chưa tìm thấy mối liên quan giữa kiểu đột biến gen *BRCA1*, *BRCA2* và mô bệnh học ung thư buồng trứng.

#### **4.1.4. Xác định ĐB BRCA1/2 ở người thân các bệnh nhân và lập phả hệ**

Trong số 17 người nhà của 4 bệnh nhân có mang ĐB gen *BRCA1/2* được thua thập mẫu để giải trình tự thì có 6 (35,3%) người mang các ĐB gen giống như ở các bệnh nhân.

ĐB *BRCA1:c.1621C>T* được xác định trên bệnh nhân UTBT KBT2 có mẹ và chị gái bị UT vú đều ở độ tuổi dưới 50, một đặc điểm đặc trưng của hội chứng HBOC. 05 thành viên gia đình bệnh nhân bao gồm con gái bệnh nhân, 2 chị gái, em gái và con gái của 1 chị gái được làm xét nghiệm. Kết quả giải trình tự gen (Hình 3.9) cho thấy có một chị gái (mắc UT vú) và một em gái (chưa phát hiện UT) có mang ĐB. Sơ đồ phả hệ di truyền ĐB *BRCA1:c.1621C>T* của gia đình bệnh nhân KBT2 được lập ra dựa trên những kết quả xét nghiệm ĐB và thông tin thu thập (Sơ đồ 3.3). Qua sơ đồ phả hệ ta có thể thấy được đột biến này có ở người mắc UT vú dưới 50 tuổi, người mắc UTBT và người chưa mắc 2 loại UT này, tuy nhiên ĐB ở bệnh nhân KBT2 ở thể dị hợp nên đã không di truyền cho con gái.

ĐB *BRCA1:c.2760-2763delACAG* được xác định ở bệnh nhân UTBT KBT6 có chị (đã mất) và em gái cũng mắc UTBT. Mẹ của bệnh nhân không mắc UT vú và UTBT có kết quả xét nghiệm mang ĐB này (Hình 3.10). Sơ đồ phả hệ di truyền ĐB này của gia đình được lập ra dựa trên những kết quả xét nghiệm ĐB và thông tin thu thập được (Sơ đồ 3.4). Qua sơ đồ phả hệ thấy được ĐB này có ở người mắc UTBT và người chưa mắc UT.

ĐB *BRCA1:c.4986+4A>T* được phát hiện ở bệnh nhân UTBT KBT4 từng mắc UT vú ở tuổi 39, có 1 em gái mắc UTBT. 07 người thân được lấy máu xét nghiệm xác định ĐB này, và chỉ có 1 em gái bệnh nhân mắc UTBT và con gái của người này mang ĐB gen (Hình 3.11). Sơ đồ phả hệ di truyền ĐB này của gia đình được lập ra dựa trên những kết quả xét nghiệm ĐB và thông tin thu thập được (Sơ đồ 3.5). Qua sơ đồ phả hệ ta có thể thấy được ĐB này có ở người mắc UTBT có tiền sử UT vú dưới 50 tuổi, người chỉ mắc

UTBT và người chưa mắc 2 loại UT này, tuy nhiên ĐB ở bệnh nhân KBT6 trong trạng thái dị hợp nên đã không di truyền cho con gái.

ĐB *BRCA1*:c.4997dupA được phát hiện ở bệnh nhân UTBT KBT7 có 01 chị gái mắc UT vú. Những người thân được xét nghiệm ĐB gen bao gồm hai con gái và hai em gái. Trong đó chỉ có một con gái mang ĐB gen này (Hình 3.12). Sơ đồ phả hệ đã được lập từ những dữ liệu có được (Sơ đồ 3.6). Qua sơ đồ phả hệ ta có thể thấy được ĐB này có ở người mắc UTBT và người chưa mắc UT. Do ĐB ở bệnh nhân ở trạng thái dị hợp chỉ di truyền cho 1 người con gái, người còn lại không mang đột biến.

Các bệnh nhân và người nhà được tư vấn các kết quả xét nghiệm. Người nhà mang ĐB gen chưa mắc UT được đánh giá nguy cơ mắc UTBT và UT vú.

Như vậy, trong các ĐB gen *BRCA1* và *BRCA2* được phát hiện trên các trong nghiên cứu này thì chủ yếu là các ĐB vô nghĩa và dịch khung nhưng đều tạo bộ ba kết thúc sớm, dẫn đến cắt ngắn protein *BRCA1* hoặc *BRCA2*, hoặc làm phân rã mRNA gián tiếp, chỉ có 1 ĐB vị trí cắt (splice site nằm trên intron 16). Qua kiểm định trên các cơ sở dữ liệu di truyền và sử dụng các công cụ tin sinh học để dự đoán khả năng gây bệnh, thì các biến thể đã xác định của gen *BRCA1* và *BRCA2* này đều là những ĐB gây bệnh làm tăng nguy cơ mắc UTBT và UT vú. Phụ thuộc vào loại ĐB, vị trí thuộc vùng cụm UTBT hay vùng cụm UT vú, hay vị trí có chức năng tương tác với các protein khác mức độ tăng nguy cơ mắc UTBT và UT vú có thể thay đổi khác nhau. Trong 08 ĐB tìm thấy có 01 ĐB trên *BRCA2* (c.4022delC) là ĐB mới chưa được công bố trên cơ sở dữ liệu di truyền, được phân tích khả năng là có gây bệnh bằng các phần mềm tin sinh học và thông qua các ĐB khác có sự ảnh hưởng ở cấp độ protein tương đồng với ĐB nghiên cứu. Có 3 ĐB trên gen *BRCA1* (c.1621C>T, c.4997dupA, c.5335delC) đã xuất hiện trong các nghiên cứu khác trên người Việt Nam có khả năng là các ĐB “đặc trưng” (founder mutation) của người Việt Nam. Cần những nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn để xác định chính xác.



Quy trình giải trình tự gen xác định ĐB *BRCA1* và *BRCA2* đã được thiết kế bởi các chuyên gia của Trung tâm Gen-Protein, Đại học Y Hà Nội và được nghiệm thu trong đề tài cấp bộ “*Nghiên cứu xây dựng quy trình xác định đột biến và đa hình thái đơn nucleotid trên một số gen liên quan đến ung thư vú và ung thư buồng trứng*” do GS.TS Nguyễn Việt Tiến chủ trì.

❖ Các xét nghiệm gen liên quan đến UTBT và UT vú di truyền hiện nay có thể tiếp cận dễ dàng được với người Việt Nam. Tuy nhiên do chi phí các xét nghiệm di truyền này còn khá cao và liên quan đến các hiệu ứng tâm lý lo sợ khi phát hiện bệnh, nguy cơ mắc bệnh, nên các nhà di truyền, hay các bác sĩ lâm sàng gặp khó khăn trong việc tư vấn di truyền cho bệnh nhân làm xét nghiệm. Việc sử dụng các công cụ tính toán nguy cơ mang ĐB gen, hay nguy cơ mắc UTBT, UT vú dựa vào các dữ liệu đã có (như tiền sử UT bản thân, tiền sử UT gia đình, kết quả xét nghiệm gen của bản thân hoặc người trong gia đình ...) có thể có hiệu quả trực quan hỗ trợ cho công tác tư vấn di truyền.

❖ Đối với các đối tượng chưa thực hiện xét nghiệm di truyền có thể ước tính nhanh được nguy cơ mang ĐB gen *BRCA1/2* bằng dữ liệu “Tỉ lệ ĐB ở gen *BRCA1/2* (không phải Do thái Ashkenazi” của Trung tâm di truyền Myriad, Hoa Kỳ (Bảng 4.1) dựa trên dữ liệu của 162 914 người, bằng mô hình ước tính nguy cơ mang ĐB *BRCA1/2* của Frank (2002) với các yếu tố tiền sử cá nhân và gia đình.<sup>124</sup>

❖ Đối với các bệnh nhân UT vú và/hoặc UTBT được xét nghiệm xác định là có mang ĐB gen gây bệnh, có thể được tư vấn cùng bác sĩ lâm sàng chọn lựa các liệu pháp điều trị đích với thuốc ức chế PARP, đánh giá nguy cơ mắc các UT khác, và đồng thời tư vấn cho người thân của bệnh nhân đánh giá nguy cơ mang ĐB gen *BRCA1/2* và nguy cơ mắc UTBT và UT vú.

❖ Đối với những đối tượng đã xét nghiệm di truyền phát hiện có mang ĐB *BRCA1* hoặc *BRCA2* nhưng chưa mắc UT, sẽ được tư vấn các nguy cơ UTBT, UT vú và các UT khác theo các cơ sở dữ liệu sẵn có (Bảng 1.4) và các biện pháp sàng lọc, dự phòng theo Hướng dẫn dự phòng cho người mang ĐB *BRCA1/2* của Mạng lưới UT quốc gia Hoa Kỳ (NCCN) (Bảng 4.2).<sup>53,123</sup>

**Bảng 4.2. Hướng dẫn dự phòng cho người mang ĐB BRCA1/2 của NCCN**

Ung thư	Quy trình	Thời điểm và chi tiết
UT vú ở nữ	Tự kiểm tra vú	Từ 18 tuổi
	Hóa phòng ngừa UT vú	Tùy cá nhân (ví dụ: Tamoxifen)
	Khám vú lâm sàng	Từ 25 tuổi, mỗi 6-12 tháng
	MRI vú cản quang	Từ 25 tuổi, mỗi năm
	Nhũ ảnh	Từ 30 tuổi, mỗi năm (Từ 25 tuổi-nếu không thể MRI)*
	Phẫu thuật cắt bỏ vú hai bên dự phòng	Tùy cá nhân
UTBT	Hóa phòng ngừa UTBT	Tùy cá nhân (viên uống tránh thai,...)
	Siêu âm ngã âm đạo và xét nghiệm CA125	Từ 30-35 tuổi, mỗi năm. Hoặc 5-10 năm trước độ tuổi phát hiện ca UTBT sớm nhất trong gia đình.
	Phẫu thuật cắt buồng trứng-vòi tử cung 2 bên dự phòng	Từ 35-40 tuổi với ĐB BRCA1. Từ 40-45 tuổi với ĐB BRCA2.**
UT vú ở nam giới	Tự thăm khám vú	Từ 35 tuổi
	Khám vú lâm sàng	Từ 35 tuổi, hàng năm
	Nhũ ảnh	Từ 50 tuổi, hàng năm. Hoặc 10 năm trước độ tuổi sớm nhất của ca UT vú nam trong gia đình
UT tiền liệt tuyến	Sàng lọc UT	Từ 40 tuổi, mỗi năm với ĐB BRCA2

\* Nguy cơ UT vú tăng khi tiếp xúc nhiều với bức xạ khi dưới 30 tuổi, nên dưới 30 tuổi khuyến cáo chụp MRI thay vì nhũ ảnh.

\*\* Do độ tuổi xuất hiện UTBT ở người mang ĐB BRCA2 thường muộn hơn so với người mang ĐB BRCA1 từ 8-10 năm.

- Các phẫu thuật dự phòng cần được thảo luận chi tiết với bệnh nhân về nguyện vọng sinh con. Phẫu thuật dự phòng cắt UT vú giảm nguy cơ UT vú đến 90%. Phẫu thuật cắt buồng trứng - vòi tử cung hai bên dự phòng giảm nguy cơ UTBT 80-96% và cũng làm giảm nguy cơ UT vú, và trong phẫu thuật tạo cơ hội phát hiện sớm các UT phụ khoa khác.

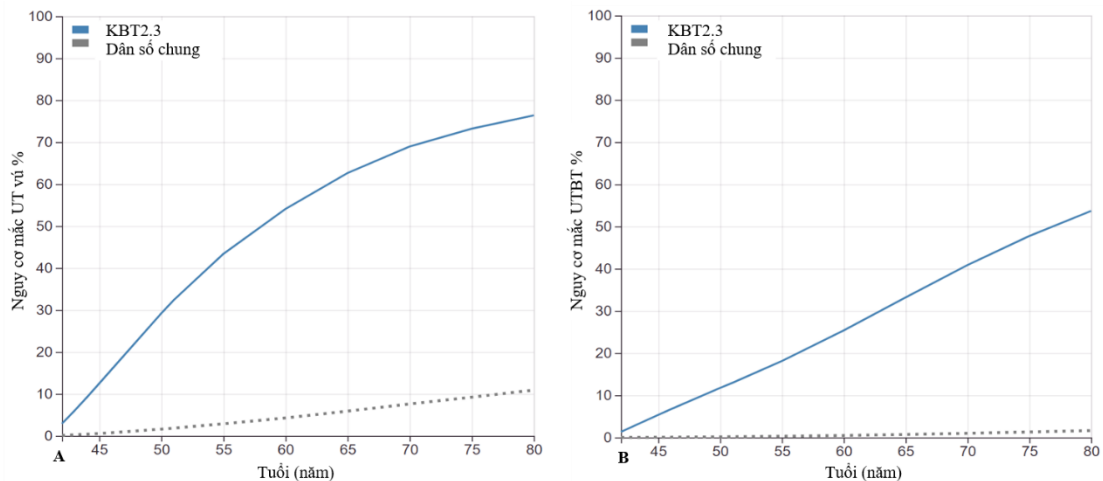
- Cần khuyến cáo bệnh nhân giữ lối sống lành mạnh, hoạt động thể chất tích cực, tránh các tác nhân gây UT từ môi trường, thuốc lá, rượu bia... Cung cấp thông tin về khả năng giảm nguy cơ UT của việc sinh con và nuôi con bằng sữa mẹ, ...

Ngoài ra để có thể ước tính các nguy cơ mắc UT hay mang ĐB gen chi tiết hơn, đồng thời lập các sơ đồ phả hệ di truyền với các dữ liệu về độ tuổi, chiều cao, cân nặng, tiền sử UT bản thân, tiền sử UT gia đình, lối sống cá nhân (thuốc lá, đồ uống có cồn), tiền sử sản khoa, nội tiết, hay kết quả nhũ ảnh, Trung tâm Dịch tễ ung thư di truyền của Đại học Cambridge (Vương quốc Anh) đã dùng *Thuật toán ước tính tỉ lệ mắc bệnh và tỉ lệ mang ĐB gen liên quan UT vú và UTBT- BOADICEA v.5 (Breast and Ovarian Analysis of Disease Incidence and Carrier Estimation Algorithm)* lập giao diện website tiện dụng CanRisk Tool ([www.canrisk.org](http://www.canrisk.org)) để các bác sĩ tư vấn di truyền sử dụng hỗ trợ trong tư vấn cho bệnh nhân.<sup>20</sup> Thí dụ, với trường hợp KBT2.3 (41 tuổi) chưa mắc UT và mang ĐB *BRCA1:c.1621C>T*, là em gái của bệnh nhân UTBT KBT2 có mẹ và 1 chị gái mắc UT vú (chị gái cũng mang ĐB này), CanRisk Tool cho kết quả cụ thể về nguy cơ mắc UT vú và UTBT của KBT2.3 được ước tính theo nhiều mốc tuổi đến 80 tuổi, trong đó có hai mốc là sau 5 năm và sau 10 năm trên nền so sánh với nguy cơ mắc hai UT này của dân số chung (Bảng 4.3).

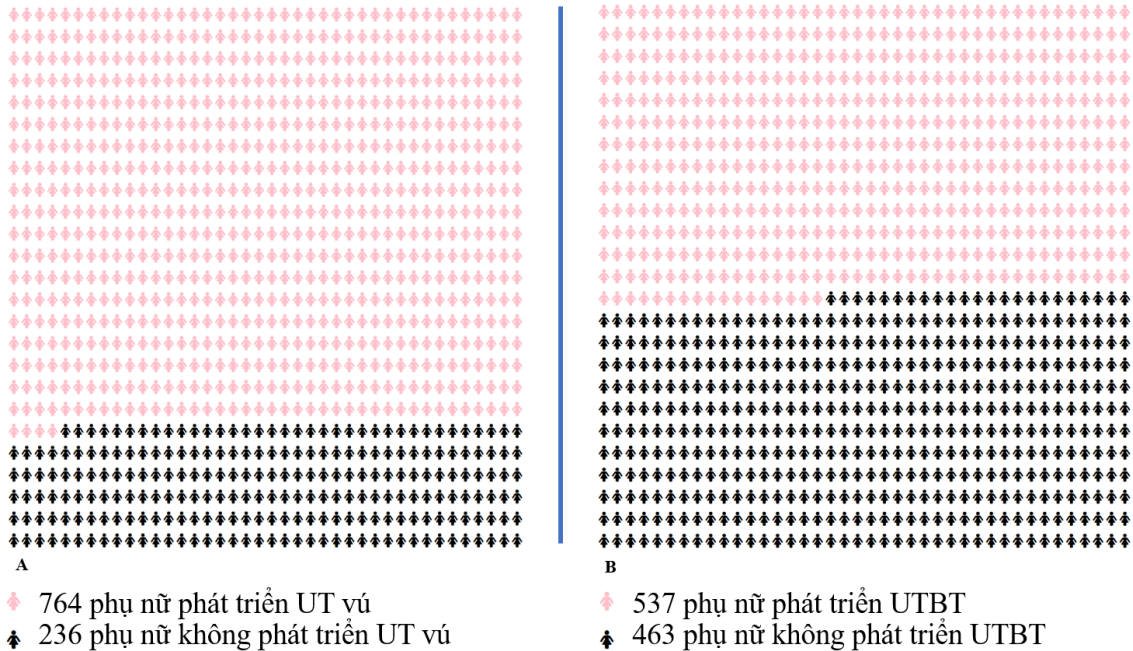
**Bảng 4.3. Ước tính nguy cơ UT vú và UTBT của KBT2.3 bằng CanRisk Tool**

Tuổi	Nguy cơ mắc UT vú (%)		Nguy cơ mắc UTBT (%)	
	KBT2.3	Dân số chung	KBT2.3	Dân số chung
42	2,9	0,1	1,3	0
43	6	0,3	2,7	0
44	9,2	0,4	4	0
45	12,5	0,6	5,3	0,1
46 (5 năm)	15,8	0,7	6,7	0,1
50	29,2	1,6	11,7	0,1
51 (10 năm)	32,4	1,8	12,9	0,2
55	43,4	2,9	18,1	0,3
60	54,1	4,3	25,4	0,5
65	62,6	5,9	33,2	0,7
70	69	7,6	40,9	1
75	73,2	9,2	47,7	1,3
80	76,4	10,9	53,7	1,6

Ngoài ra để mô tả trực quan cho bệnh nhân hiểu rõ được các nguy cơ khi tư vấn CanRisk Tool còn có thể cho các kết quả như Biểu đồ 4.1 và Hình 4.8

**Biểu đồ 4.1. Nguy cơ mắc UT vú (A) và UTBT (B) theo tuổi của KBT2.3**

Biểu đồ 4.1 thể hiện trực quan nguy cơ mắc UT vú và UTBT tăng lên theo độ tuổi đến 80 tuổi và cao hơn rất nhiều so với nguy cơ của dân số chung.



**Hình 4.8. Nguy cơ mắc UT vú (A) và UTBT (B) đến 80 tuổi của KBT2.3**

Hình 4.8 mô tả nguy cơ mắc UT đến 80 tuổi bằng một cách nói khác là trong 1000 phụ nữ với các yếu tố nguy cơ này đến 80 tuổi sẽ có khoảng 537 người sẽ phát triển UTBT và 764 người sẽ phát triển UT vú.

Công cụ Decision Tool dành cho phụ nữ mang ĐB gen *BRCA1/2* của Viện Ung thư quốc gia, Đại học Stanford (Hoa kỳ) ([brcatool.stanford.edu/brca.html](http://brcatool.stanford.edu/brca.html)) hỗ trợ các bác sĩ lâm sàng tư vấn cho các đối tượng mang ĐB gen *BRCA1/2* mà chưa mắc UT vú hay UTBT một cách trực quan và dễ hiểu hơn lợi ích của các biện pháp sàng lọc và dự phòng mắc UT vú và UTBT, so sánh tác dụng các biện pháp ở các thời điểm thực hiện khác nhau.<sup>137</sup> Dữ liệu đầu vào chỉ với ĐB gen *BRCA1* hay *BRCA2* và độ tuổi. Thí dụ, cũng với đối tượng người nhà KBT2.3 (41 tuổi) chưa mắc UT và mang ĐB *BRCA1:c.1621C>T* với công cụ Decision Tool sẽ cung cấp các nguy cơ chi tiết về khả năng mất do UTBT, UT vú, sống sót sau khi mắc UTBT, hoặc UT vú, khả năng không mắc UT nào cho đến tuổi 70 với các tùy biến có hay không thực hiện các biện pháp sàng lọc, biện pháp sàng lọc nào, có hay không thực hiện các phẫu thuật dự phòng và tại thời điểm nào (Bảng 4.4).

**Bảng 4.4. Ước tính các khả năng các kết cục của KBT2.3**

Biện pháp sàng lọc, dự phòng (tuổi)	Sàng lọc	-	NA	NA+	-	-	-	NA+	So với không ĐB
	PT cắt 2 vú	-	-	-	45	-	-	45	
	PT cắt buồng trứng -vòi tử cung 2 bên	-	-	-	-	50	45	45	
Khả năng đến 70 tuổi (trên 100 người)	Mất, nguyên nhân khác	11	11	12	12	11	15	14	14
	Mất do UTBT	17	18	18	18	8	5	5	0
	Mất do UT vú	18	15	10	7	19	13	7	1
	Sống sau UTBT(a)	11	11	12	13	5	3	5	0
	Sống sau UT vú(b)	25	27	31	12	33	24	16	6
	Sống, không mắc UT vú/ UTBT(c)	18	18	17	38	24	40	53	79
Sống đến 70 tuổi (trên 100 người) = (a)+(b)+(c)		54	56	60	63	62	67	<b>74</b>	85

(-) không thực hiện. NA-nhũ ảnh hàng năm. MRI- chụp MRI vú hàng năm.

Khi so sánh số người sống sót đến 70 tuổi trên 100 người với điều kiện độ tuổi và mang ĐB gen *BRCA1* như KBT2.3 ta thấy chỉ số này tăng lên khi áp dụng lần lượt và kết hợp các biện pháp sàng lọc và các phẫu thuật dự phòng; hiệu quả của việc sàng lọc kết hợp nhũ ảnh và MRI cao hơn chỉ dùng nhũ ảnh; phẫu thuật dự phòng cắt buồng trứng và vòi tử cung 2 bên đơn thuần hiệu quả cao hơn phẫu thuật dự phòng cắt hai bên vú đơn thuần; thời điểm thực hiện các phẫu thuật dự phòng sớm sẽ tốt hơn (Bảng 4.4).

Các công cụ hỗ trợ ước tính khả năng mang ĐB, khả năng mắc UT vú, UTBT hữu ích cho việc tư vấn xét nghiệm di truyền, và hướng dẫn sàng lọc dự phòng UT vú, UTBT. Cơ sở dữ liệu của các công cụ được cập nhật liên tục đưa ra kết quả có độ tin cậy càng tốt hơn. Tuy nhiên các công cụ này được

phát triển dựa trên các cơ sở dữ liệu của dân số nước ngoài, áp dụng ước tính lên đối tượng người Việt Nam sẽ cho kết quả tương đối. Nên cần thiết có các nghiên cứu về các ĐB gen *BRCA1/2* liên quan UT vú và UTBT với cỡ mẫu lớn hơn trên dân số Việt Nam, để có cơ sở dữ liệu di truyền quan UT vú và chính xác hơn.

❖ *Đối với người thân của những người mang ĐB gen BRCA1/2* nên được tư vấn di truyền - thông tin về bản chất, phương thức di truyền và tác động của các ĐB gen di truyền để giúp họ đưa ra các quyết định y tế sáng suốt.

- *Cha mẹ của người mang ĐB gây bệnh gen BRCA1/2.* Phần lớn các cá nhân có một biến thể dòng mầm gây bệnh ở *BRCA1* hoặc *BRCA2* đã thừa hưởng nó từ cha, mẹ. Cha, mẹ nếu có mang biến thể đó có thể đã hoặc không được chẩn đoán UT tùy thuộc vào các yếu tố sau: khả năng gây bệnh của biến thể, giới tính (cha hay mẹ), tuổi, có sàng lọc hay phẫu thuật dự phòng giảm nguy cơ, hoặc mất sớm. Xét nghiệm cho cả cha và mẹ của một cá nhân có ĐB *BRCA1/2* để xác định bên nào của gia đình có nguy cơ mắc bệnh. Tiền sử UT trong gia đình thường định hướng xem cha hay mẹ nên xét nghiệm trước. Hiếm khi cả cha và mẹ đều không mang ĐB *BRCA1/2*, khi đó ĐB gọi là *de novo* (mới hình thành). Kể từ khi phát hiện ra *BRCA1* và *BRCA2*, các biến thể *de novo* cũng đã được báo cáo, nhưng tỉ lệ xuất hiện cực kỳ thấp ( $\leq 5\%$ ).

- *Anh chị em ruột của người mang ĐB gây bệnh gen BRCA1/2.* Nguy cơ đối với các anh chị em ruột phụ thuộc vào tình trạng di truyền của cha mẹ của người mang ĐB: nguy cơ anh chị em sẽ thừa hưởng biến thể gây bệnh gen *BRCA1* hoặc *BRCA2* là 50% nếu cha hoặc mẹ có biến thể đó. Tuy nhiên, nguy cơ phát triển UT phụ thuộc nhiều biến số gồm sự xâm nhập của ĐB gây bệnh, giới tính và tuổi tác của cá nhân.

- Con của người mang ĐB *BRCA1/2* có 50% khả năng kế thừa biến thể này. Tuy nhiên, nguy cơ phát triển UT phụ thuộc vào nhiều biến số bao gồm khả năng gây bệnh của ĐB, giới tính và tuổi của con.

- *Các thành viên khác trong gia đình của người mang ĐB BRCA1/2.*

Nguy cơ đối với các thành viên khác trong gia đình phụ thuộc vào tình trạng của cha mẹ của người mang ĐB gen *BRCA1/2*. Nguy cơ chính xác phụ thuộc vào vị trí của họ trong phả hệ.

#### **4.2. Xác định các SNP *XRCC3*, *RAD51* và mối liên quan với UTBT**

Mặc dù hơn 99% trình tự DNA của con người là giống nhau, nhưng chỉ một sự thay đổi nhỏ trong hệ gen cũng có thể tác động lớn đến tính nhạy cảm của mỗi cá thể với bệnh tật, sự đáp ứng với các liệu pháp điều trị cũng như khả năng thích nghi với các yếu tố từ môi trường như: chất độc, vi khuẩn, virus... Điều này làm cho SNP có vai trò quan trọng trong nhiều lĩnh vực y sinh học.

Đặc biệt, trong thập kỷ qua, những tiến bộ đáng kinh ngạc của di truyền học hiện đại, đặc biệt là thành quả nghiên cứu tế bào gốc và bản đồ gene người đã giúp các nhà khoa học dự đoán được phản ứng của cơ thể nhờ phân tích bộ gene của chính người bệnh. Căn cứ vào bản đồ gene của mỗi người, y học cá thể hóa sử dụng những chẩn đoán chi tiết và tinh tế để đưa ra phác đồ điều trị chính xác, phù hợp đặc điểm di truyền của từng người ở cấp độ phân tử. Khoa học đã chứng minh rất nhiều căn bệnh có nguồn gốc từ kiểu gen nên đây là bước tiến quan trọng hướng đến việc điều trị hiệu quả hơn với ít tác dụng phụ.<sup>138</sup>

##### **4.2.1. Đặc điểm chung và lâm sàng nhóm UTBT và nhóm chứng**

Ở những bệnh nhân UTBT, nhóm tuổi từ 40 đến 60 tuổi nhiều nhất chiếm 45,5% và ít nhất là nhóm tuổi <40 tuổi chiếm 24,5%. Sự phân bố về nhóm tuổi này cũng tương đồng với kết quả một số nghiên cứu khác về UTBT ở phụ nữ Việt Nam như trong báo cáo của Phạm Thị Diệu Hà (2013).<sup>93</sup>

Tỉ lệ bệnh nhân UTBT đã mãn kinh chiếm 56,3%, nhiều hơn so với những bệnh nhân chưa mãn kinh hoặc chưa có kinh chiếm 43,7%. Nguyễn Như Hoàng (2016) cũng báo cáo về tỉ lệ mãn kinh cao hơn chưa mãn kinh ở các



bệnh nhân UTBT trong nghiên cứu của mình.<sup>139</sup> Điều này cũng tương đồng với các nhận định trước đây về UTBT, được xem là bệnh lý sau mãn kinh.<sup>140</sup>

Những đặc điểm chung như tuổi trung bình, phân bố các nhóm tuổi, trung bình tuổi có kinh và tình trạng mãn kinh là tương đồng giữa nhóm bệnh và nhóm chứng, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) (Bảng 3.6).

Phân loại theo mô bệnh học UTBT, kết quả UT biểu mô chiếm tỉ lệ cao nhất 81,1% (Biểu đồ 3.2). Tương đồng với với kết quả nghiên cứu của các tác giả Vũ Hồ trên bệnh nhân UTBT tại Trung tâm Ung bướu Thái Nguyên (2010) và Phạm Thị Diệu Hà tại Bệnh viện K trung ương (2013).<sup>92,93</sup> Và nhóm bệnh nhân được chẩn đoán ở giai đoạn tiến triển (III và IV-57,6%) chiếm tỉ lệ cao hơn so với nhóm bệnh nhân phát hiện bệnh sớm (I và II-42,4%) (Biểu đồ 3.3). Kết quả này cũng không khác biệt so với các nghiên cứu của Vũ Hồ và Phạm thị Diệu Hà.<sup>92,93</sup>

#### **4.2.2. Xác định SNP RAD51-rs1801320 và mối liên quan với UTBT**

Trong các đối tượng nghiên cứu của cả hai nhóm thì alen C của SNP RAD51-rs1801320 có chiếm tỉ lệ 19,5%. Theo dữ liệu các báo cáo về tỉ lệ của SNP này trên Trung tâm quốc gia thông tin công nghệ sinh học (NCBI), Hoa kỳ thì alen C có tỉ lệ dao động tùy theo sắc dân từ 4,45% (người Do thái Ashkenazi) đến 56,5% (người gốc Phi).<sup>87</sup> Trong khi kết quả của nghiên cứu Dữ liệu biến thể di truyền Việt Nam trên 214 người Kinh, alen C chiếm 15,0%.<sup>141</sup> Kiểu gen đồng hợp CC có tỉ lệ thấp hơn nhiều so với kiểu gen đồng hợp GG. Khi phân tích tỉ lệ phân bố các kiểu alen và kiểu gen giữa 2 nhóm cho thấy mối liên quan giữa kiểu alen, kiểu gen của SNP này với nguy cơ mắc UTBT khi kiểm định Chi bình phương cho kết quả  $p < 0,05$  (Bảng 3.7).

Đánh giá nguy cơ mắc UTBT của các kiểu alen và kiểu gen thông qua chỉ số OR với khoảng tin cậy 95%, cho thấy alen C có nguy cơ mắc UTBT cao hơn so với alen G khi  $OR_{C/G} = 1,553$  và CI95% không chứa 1. Và kiểu gen

CC có nguy cơ cao hơn hai kiểu gen còn lại khi so sánh CC với kiểu gen GG hay trong các mô hình di truyền lặn (GG+GC với CC) với  $OR_{CC/GG}=6,545$ ,  $CI_{95\%}=(2,710-15,807)$  và  $OR_{CC/(GG+GC)}=6,523$ ,  $CI_{95\%}=(2,715-15,673)$ . Có thể nói những người mang kiểu gen CC có nguy cơ cao hơn những người mang các kiểu gen còn lại khoảng 6,5 lần.

Trong nghiên cứu của Levy-Lahad (2001) trên 257 phụ nữ do thái Ashkenazi mang 03 ĐB phổ biến của gen *BRCA1* (185delAG, 5382insC) và *BRCA2* (6174delT) trong đó có 164 phụ nữ mắc UT vú hoặc/và UTBT và 93 người chưa mắc hai UT trên, thì trong số những người mang ĐB gen *BRCA1* tỉ lệ alen C tương đương giữa hai nhóm bệnh và chứng, trong khi ở những người mang ĐB *BRCA2* nghiên cứu đã chỉ ra mối liên quan giữa *RAD51*-rs1801320 với UTBT và UT vú, cụ thể SNP này làm tăng nguy cơ mắc UTBT và UT vú ở những người mang ĐB *BRCA2* (với  $OR=4$ ,  $CI_{95\%} [1,6-9,8]$ ,  $p=0,003$ ).<sup>98</sup> Nghiên cứu Rebbeck (2011) với quy mô đa trung tâm cũng có cùng nhận định về mối liên quan của đa hình này với UTBT ở người mang ĐB *BRCA2*.<sup>99</sup> Nghiên cứu của Wang (2001) trên những phụ nữ Israeli mắc UT vú và/hoặc UTBT thì chỉ ra rằng SNP *RAD51*-rs1801320 làm tăng nguy cơ mắc UT vú nhưng lại làm giảm nguy cơ mắc UTBT ở những bệnh nhân mang ĐB *BRCA2*.<sup>10</sup> Còn trong nghiên cứu của Romanowicz-Makowska (2012) đã chỉ ra alen C và kiểu gen CC làm tăng nguy cơ UTBT ở phụ nữ Ba Lan với  $OR_{C/G}=6,24$  ( $p<0,0001$ ),  $OR_{CC/GG}=12,97$ ,  $CI_{95\%}=5,73-29,36$ .<sup>100</sup> Các báo cáo của Smolarz năm 2013 trên 210 bệnh nhân UTBT và 210 đối chứng và năm 2019 trên 600 bệnh nhân UTBT và 600 đối chứng người Ba Lan cho kết quả tương tự với  $OR_{C/G}=5,16$ ,  $OR_{CC/GG}=8,16$ , và  $OR_{GC/GG}=0,23$  với các  $CI_{95\%}$  không chứa 1, kết luận kiểu gen CC có nguy cơ mắc UTBT cao nhất và GC có nguy cơ thấp nhất.<sup>84,142</sup>

Trong khi nghiên cứu phân tích gộp 4 nghiên cứu lớn của Auranen (2005) với 1629 ca mắc UTBT và 2805 ca đối chứng lại kết luận là không có mối quan hệ giữa SNP này với UTBT ( $p=0,6$ ).<sup>6</sup> Ngoài ra còn có nhiều nghiên cứu trên thế giới chỉ ra mối liên quan giữa *RAD51*-rs1801320 với nguy cơ mắc các loại UT khác như UT vú, UT thực quản, UT nội mạc tử cung, UT thanh quản, UT đại trực tràng.<sup>143-146</sup>

Phân tích vai trò các kiểu gen SNP *RAD51*-rs1801320 đối với giai đoạn bệnh theo FIGO và type mô bệnh học UTBT trong Bảng 3.8, nhận thấy không có sự liên quan giữa các kiểu gen SNP này với giai đoạn bệnh và type mô bệnh học của UTBT bằng kiểm định Chi bình phương ( $p>0,05$ ) hay trong mô hình hồi quy logistic đa biến khi hiệu chỉnh theo các biến tuổi chẩn đoán bệnh, tuổi có kinh, tình trạng mãn kinh, với các nhóm tham chiếu như nhóm ung thư tế bào biểu mô (tỉ lệ cao nhất) và giai đoạn IV (giai đoạn muộn với hiệu quả điều trị thấp nhất) (các OR với các CI95% đều chứa 1). Kết quả tương đồng với các nghiên cứu của Smolarz năm 2013 và năm 2019.<sup>84,142</sup>

Dựa vào kết quả của nghiên cứu này có thể kết luận SNP *RAD51*-rs1801320 có liên quan đến nguy cơ mắc UTBT, alen C và kiểu gen CC có khả năng làm tăng nguy cơ mắc UTBT hơn các alen và kiểu gen còn lại. SNP *RAD51*-rs1801320 không liên quan đến type mô bệnh học UTBT và giai đoạn phát hiện UTBT.

#### **4.2.3. Xác định SNP *RAD51*-rs1801321 và mối liên quan với UTBT**

Trong 760 đối tượng nghiên cứu của cả hai nhóm thì alen T của SNP *RAD51*-rs1801321 có chiếm tỉ lệ 30,7%. Theo dữ liệu các báo cáo về tỉ lệ của SNP này trên Trung tâm quốc gia thông tin công nghệ sinh học (NCBI), Hoa kỳ thì alen T có tỉ lệ dao động tùy theo sắc dân từ 3,401% (người Nhật) đến 60,2% (người gốc Phi).<sup>88</sup> Trong khi kết quả của nghiên cứu Dữ liệu biến thể di truyền Việt Nam trên 214 người Kinh, alen T chiếm 9,8%.<sup>141</sup> Kiểu gen đồng hợp TT có tỉ lệ thấp hơn nhiều so với kiểu gen đồng hợp GG (Bảng 3.9).

Khi phân tích tỉ lệ phân bố các kiểu alen và kiểu gen giữa hai nhóm nghiên cứu cho thấy có mối liên quan giữa đa hình này với nguy cơ mắc UTBT khi sự phân bố kiểu gen giữa hai nhóm có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p=0,001$ , dù phân bố kiểu alen giữa hai nhóm không khác biệt với  $p=0,656$  (Bảng 3.9).

Đánh giá nguy cơ mắc UTBT của các kiểu alen và kiểu gen thông qua chỉ số OR với khoảng tin cậy 95%, cho thấy alen G có nguy cơ mắc UTBT tương đương với alen T với  $OR_{G/T}=1,051$  và CI95% chứa 1. Trong khi kiểu gen GT có nguy cơ thấp hơn hai kiểu gen đồng hợp TT và GG khi so sánh từng cặp kiểu gen với  $OR_{GG/GT}=1,653$ , và  $OR_{TT/GT}=2,167$  hay trong các mô hình di truyền lặn (GT+GG với TT) và (GT+TT với GG) với các giá trị OR đều lớn hơn 1 và tất cả các khoảng tin cậy 95% đều không chứa 1. Chứng tỏ người mang kiểu gen dị hợp GT có nguy cơ mắc UTBT thấp hơn những người mang các kiểu gen đồng hợp, cụ thể thấp hơn những người mang kiểu gen GG là 65% và chỉ bằng khoảng 1 nửa nguy cơ của những người mang kiểu gen TT.

Nhiều nghiên cứu khác trên thế giới được thực hiện và đã công bố nhằm mục đích làm sáng tỏ vai trò của SNP *RAD51*-rs1801321 trong nguy cơ UTBT, nhưng các kết quả còn chưa thống nhất, phụ thuộc vào thiết kế, phương pháp nghiên cứu, và quần thể được nghiên cứu. Trong nghiên cứu của Smolarz (2013) trên phụ nữ Ba Lan với 210 bệnh nhân UTBT và 210 đối chứng, mẫu nghiên cứu là mô buồng trứng (có và không có UT), kết quả cho thấy không có sự khác biệt trong phân bố các alen ( $p=0,631$ ) cũng như kiểu gen ( $p=0,689$ ) giữa hai nhóm nghiên cứu, và kết luận *RAD51*-rs1801321 không liên quan nguy cơ UTBT.<sup>84</sup> Nghiên cứu của Auranen (2005) phân tích tổng hợp 4 nghiên cứu lớn trên 1644 bệnh nhân UTBT và 2602 đối chứng cho kết quả alen T chiếm tỉ lệ 42% ở cả nhóm bệnh và nhóm chứng, và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong sự phân bố các kiểu gen ở hai nhóm

ngiên cứu ( $p=0,39$ ) nên chưa tìm thấy mối liên quan giữa SNP này với nguy cơ mắc UTBT.<sup>6</sup> Quaye (2009) tổng hợp 3 nghiên cứu bệnh chứng lớn ở Anh, Mỹ và Đan Mạch với cỡ mẫu gồm 1412 bệnh nhân UTBT và 1986 đối chứng, kết luận không có mối liên quan giữa SNP này với nguy cơ UTBT ( $p=0,053$ ).<sup>85</sup> Nghiên cứu của Wang (2001) trên những người mang ĐB *BRCA1/2* cũng chỉ ra đa hình này không liên quan đến nguy cơ UTBT.<sup>10</sup>

Ngoài ra, mối liên quan giữa *RAD51*-rs1801321 với một số bệnh UT khác cũng được nghiên cứu và thu được những kết quả khác nhau. Nghiên cứu của Tulbah (2016) cho thấy *RAD51*-rs1801321 có liên quan đến nguy cơ mắc UT vú ở phụ nữ Ả Rập, alen T có ảnh hưởng bảo vệ khỏi nguy cơ mắc UT vú cao với  $OR_{T/G}=0,126$  ( $CI_{95\%}=0,080-0,199$ ),  $p<0,001$ .<sup>109</sup> Kết quả nghiên cứu Romanowicz-Makowska (2012) chỉ ra rằng không có mối liên quan giữa SNP này với UT đại trực tràng ở người Ba Lan.<sup>147</sup> Tuy nhiên, một nghiên cứu của Petrovic-Sunderic (2018) lại chứng minh được mối liên quan có ý nghĩa giữa *RAD51*-rs1801321 với UT đại trực tràng ở người Serbia.<sup>148</sup> Santos (2019) đã báo cáo về sự kết hợp SNP này với các chất gây UT từ môi trường (rượu, thuốc lá) có liên quan đến sự tiến triển của UT biểu mô miệng và vòm họng.<sup>149</sup> Michalska (2014) cũng nghiên cứu trên người Ba Lan với 630 bệnh nhân UT nội mạc tử cung và 630 đối chứng cho kết luận *RAD51*-rs1801321 không liên quan đến nguy cơ UT nội mạc tử cung vì không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong sự phân bố các alen ( $p=0,359$ ) và các kiểu gen ( $p=0,392$ ) giữa các nhóm nghiên cứu.<sup>150</sup>

Phân tích vai trò các kiểu gen đối với giai đoạn bệnh theo FIGO và type mô bệnh học UTBT (Bảng 3.10), nhận thấy không có sự liên quan giữa các kiểu gen SNP này với giai đoạn bệnh và type mô bệnh học của UTBT bằng kiểm định Chi bình phương ( $p>0,05$ ) và trong mô hình hồi quy logistic đa biến khi hiệu chỉnh theo các biến tuổi chẩn đoán bệnh, tuổi có kinh, tình trạng

mãn kinh, với các nhóm tham chiếu như nhóm ung thư tế bào biểu mô (tỉ lệ cao nhất) và giai đoạn IV (giai đoạn muộn với hiệu quả điều trị thấp nhất) (các OR với các CI95% đều chứa 1). Kết quả tương đồng với nghiên cứu của Smolarz (2013).<sup>84</sup>

Dựa trên kết quả này có thể kết luận *RAD51*-rs1801321 có liên quan đến nguy cơ mắc UTBT, và kiểu gen GT có nguy cơ mắc UTBT thấp hơn các kiểu gen còn lại là GG và TT. SNP *RAD51*-rs1801321 không liên quan đến type mô bệnh học UTBT và giai đoạn phát hiện UTBT.

#### **4.2.4. Xác định SNP *XRCC3*-rs861539 và mối liên quan với UTBT**

Trong 760 đối tượng nghiên cứu của cả hai nhóm thì alen T của SNP *XRCC3*-rs861539 có chiếm tỉ lệ rất thấp chỉ 5,9% (Bảng 3.11). Theo dữ liệu các báo cáo về tỉ lệ của SNP này trên Trung tâm quốc gia thông tin công nghệ sinh học (NCBI), Hoa kỳ thì alen T có tỉ lệ dao động tùy theo sắc dân từ 3,0% (người Nhật) đến 63,4% (người gốc Phi).<sup>91</sup> Trong khi kết quả của nghiên cứu Dữ liệu biến thể di truyền Việt Nam trên 614 người Kinh, alen T chiếm 6,2%.<sup>141</sup> Kiểu gen đồng hợp TT cũng có tỉ lệ thấp hơn nhiều so với kiểu gen đồng hợp CC.

Tỉ lệ phân bố các kiểu alen và kiểu gen giữa 2 nhóm không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) cho thấy SNP này không liên quan với nguy cơ mắc UTBT.

Đánh giá nguy cơ mắc UTBT của các kiểu alen và kiểu gen thông qua chỉ số OR với khoảng tin cậy 95%, cho thấy alen C có nguy cơ mắc UTBT cao hơn so với alen T với  $OR_{CT}=1,241$ , tuy nhiên CI95% lại chứa 1 (0,807-1,908). Khi so sánh lần lượt từng kiểu gen CC và CT với TT đều cho kết quả các kiểu gen CC và CT có nguy cơ mắc UTBT cao hơn kiểu gen TT với các  $OR > 1$ , tuy nhiên các CI95% của các OR quá rộng và chứa giá trị 1, nên chưa đủ ý nghĩa thống kê cũng như ý nghĩa lâm sàng. Tương tự như vậy khi trong

các mô hình di truyền trội (CT+CC với TT) và di truyền lặn (CT+TT với CC) với các OR đều lớn hơn 1 và các CI95% đều chứa hơn 1. Dựa vào các kết quả trên cho thấy *XRCC3*-rs861539 không liên quan đến nguy cơ mắc UTBT.

Trong phân tích gộp 4 nghiên cứu lớn của Auranen (2005) với 1665 ca UTBT và 4241 ca đối chứng không tìm ra mối liên quan giữa SNP này với nguy cơ mắc UTBT ( $p=0,24$ ).<sup>6</sup> Công bố năm 2014 của Monteiro cũng không tìm thấy sự tương quan có ý nghĩa giữa *XRCC3*-rs861539 với UTBT và u lạc nội mạc tử cung trên bệnh nhân người Brasil.<sup>151</sup> Kết quả này cũng tương tự kết quả phân tích tổng hợp dữ liệu của Yan (2014), không có sự tương quan giữa SNP này với nguy cơ UTBT ở người da trắng.<sup>9</sup> Beesly (2007) tổng hợp hai nghiên cứu lớn ở Australia gồm 1466 bệnh nhân UTBT nguồn gốc biểu mô và 1821 đối chứng người da trắng kết luận SNP này không liên quan đến nguy cơ UTBT có nguồn gốc biểu mô.<sup>152</sup> Nghiên cứu của Webb (2005) phân tích bệnh chứng cho thấy *XRCC3*-rs861539 không ảnh hưởng lên nguy cơ UTBT ở phụ nữ tất cả các chủng tộc ( $p=0,3$ ).<sup>153</sup>

Trong khi nghiên cứu của Cheng (2012) trên 310 bệnh nhân UTBT người Trung Quốc cho thấy bệnh nhân mang kiểu gen CC SNP *XRCC3*-rs861539 có nguy cơ tử vong cao hơn so với bệnh nhân mang kiểu gen TT. Kết quả nghiên cứu này cũng cho thấy SNP này có ảnh hưởng lên nguy cơ mắc bệnh và khả năng sống sót của bệnh nhân UTBT.<sup>154</sup> Nghiên cứu của Smolarz (2019) ở phụ nữ Ba Lan với 600 bệnh nhân UTBT và 600 đối chứng cho kết quả SNP *XRCC3*-rs861539 có liên quan đến nguy cơ mắc UTBT với  $OR_{T/C}=0,85$ ,  $CI95\%=0,72-0,99$ ,  $p=0,045$  và  $OR_{TT/CC}=0,70$ ,  $CI95\%=0,50-0,97$ ,  $p=0,041$  và không có liên quan giữa SNP này với phân giai đoạn FIGO và các yếu tố nguy cơ khác như BMI, số lần mang thai, điều trị nội tiết thay thế...<sup>142</sup>

Phân tích vai trò các kiểu gen đối với giai đoạn bệnh theo FIGO và type mô bệnh học UTBT (Bảng 3.12), nhận thấy không có sự liên quan giữa các

kiểu gen SNP này với giai đoạn bệnh và type mô bệnh học của UTBT bằng kiểm định Chi bình phương ( $p > 0,05$ ) và trong mô hình hồi quy logistic đa biến khi hiệu chỉnh theo các biến tuổi chẩn đoán bệnh, tuổi có kinh, tình trạng mãn kinh, với các nhóm tham chiếu như nhóm ung thư tế bào biểu mô (tỉ lệ cao nhất) và giai đoạn IV (giai đoạn muộn với hiệu quả điều trị thấp nhất) (các OR với các CI95% đều chứa 1).

#### **4.2.5 Xác định SNP XRCC3-rs1799794 và mối liên quan với UTBT**

Trong 760 đối tượng nghiên cứu của cả hai nhóm thì alen G của SNP XRCC3-rs1799794 chiếm tỉ lệ 46,3% thấp hơn alen A. Theo dữ liệu các báo cáo về tỉ lệ của SNP này trên Trung tâm quốc gia thông tin công nghệ sinh học (NCBI), Hoa kỳ thì alen G có tỉ lệ dao động tùy theo sắc dân từ 15,9% (người Mexico) đến 59,1% (người gốc Phi).<sup>92</sup> Trong khi kết quả của nghiên cứu Dữ liệu biến thể di truyền Việt Nam trên 210 người Kinh, alen G chiếm 41,0%.<sup>141</sup> Kiểu gen đồng hợp GG có tỉ lệ thấp hơn so với kiểu gen đồng hợp AA và kiểu gen dị hợp AG (Bảng 3.13).

Khi phân tích tỉ lệ phân bố các kiểu alen và kiểu gen giữa 2 nhóm nhận thấy sự phân bố kiểu alen giữa hai nhóm nghiên cứu không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê  $p = 0,837$ , trong khi phân bố kiểu gen có sự khác biệt giữa hai nhóm và kiểm định Chi bình phương cho kết quả  $p = 0,022$  (Bảng 3.13). Cho thấy có mối liên quan giữa đa hình này với nguy cơ mắc UTBT.

Đánh giá nguy cơ mắc UTBT của các kiểu alen và kiểu gen thông qua chỉ số OR với CI95%. Alen G có nguy cơ mắc UTBT cao hơn so với alen A với  $OR_{G/A} = 1,012$ , tuy nhiên CI95% lại chứa 1 (0,835-1,250), cho nên điều này chưa có đủ ý nghĩa thống kê. Khi so sánh lần lượt từng kiểu gen AA và GG với kiểu gen AG đều cho kết quả các kiểu gen AA và GG có nguy cơ mắc UTBT thấp hơn kiểu gen AG với  $OR_{AA/AG} = 0,675$ ,  $CI95\% = 0,483-0,943$  và  $OR_{GG/AG} = 0,663$ ,  $CI95\% = 0,458-0,960$ , nên có thể nói rằng những người mang



kiểu gen AG có nguy cơ mắc UTBT cao hơn những người mang kiểu gen AA hoặc GG. Tương tự như vậy khi trong các mô hình di truyền trội (AG+AA với GG) và (AG+GG với AA) các tổ hợp có kiểu gen AG có nguy cơ mắc UTBT cao hơn các kiểu gen đồng hợp còn lại với các giá trị OR đều lớn hơn 1, tuy các CI95% đều chứa 1. Dựa vào các kết quả trên có thể kết luận *XRCC3*-rs1799794 có liên quan đến nguy cơ mắc UTBT, và kiểu gen AG có nguy cơ mắc UTBT cao hơn so với AA và GG lần lượt là 32,5% và 33,7%.

Nhiều nghiên cứu khác trên thế giới được thực hiện và đã công bố nhằm mục đích làm sáng tỏ vai trò của *XRCC3*-rs1799794 trong nguy cơ mắc UTBT, nhưng kết quả còn gây tranh cãi, phụ thuộc vào thiết kế, phương pháp nghiên cứu, và quần thể người được nghiên cứu. Trong phân tích gộp 4 nghiên cứu lớn của Auranen (2005) với 1658 ca UTBT và 3900 ca đối chứng tìm ra chứng cứ yếu về mối liên quan giữa SNP này với nguy cơ mắc UTBT khi so sánh phân bố 3 kiểu gen giữa hai nhóm không có khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p=0,087$ ), tuy nhiên so sánh đồng hợp AA và GG cho kết quả  $OR_{GG/AA}=0,72$ ,  $CI95\%=0,52-1,00$ ,  $p=0,048$ , và trong mô hình so sánh nhóm kiểu gen GG với nhóm mang alen A (AA và AG) cũng cho kết quả  $OR_{GG/AA+AG}=0,69$ ,  $CI95\%=0,50-0,96$ ,  $p=0,027$ . Cho thấy kiểu gen đồng hợp GG có khả năng bảo vệ trước nguy cơ mắc UTBT.<sup>6</sup> Nghiên cứu tổng hợp của Yuan (2014) với 3119 bệnh nhân UTBT và 6207 đối chứng, tìm thấy mối liên quan có ý nghĩa giữa *XRCC3*-rs1799794 với nguy cơ mắc UTBT khi so sánh đồng hợp GG với AA với  $OR_{GG/AA}=0,70$ ,  $CI95\%=0,54-0,90$ ,  $p=0,005$ , so sánh dị hợp AG với AA với  $OR_{AG/AA}=1,10$ ,  $CI95\%=1,00-1,21$ ,  $p=0,04$  và so sánh GG với nhóm kiểu gen chứa alen A thì  $OR_{GG/AG+AA}=0,67$ ,  $CI95\%=0,52-0,87$ ,  $p=0,002$ .<sup>7</sup> Kết quả này cho thấy kiểu gen GG lại mang ít nguy cơ hơn các kiểu gen khác, trong khi kiểu gen AG lại làm tăng nguy cơ mắc UTBT hơn kiểu gen đồng hợp AA. Quaye (2009) nghiên cứu trên 1461 bệnh nhân UTBT và

2307 đối chứng cũng cho nhận định có mối liên quan giữa SNP này với nguy cơ mắc UTBT, và alen G là yếu tố bảo vệ trước nguy cơ mắc UTBT khi trong các so sánh đồng hợp (AA với GG) và so sánh nhóm kiểu gen chứa alen A (AA+AG) với GG cho kết quả lần lượt với  $OR_{GG/AA}=0,67$ ,  $CI_{95\%}=0,45-0,99$ ,  $p=0,04$  và  $OR_{GG/AA+AG}=0,65$ ,  $CI_{95\%}=0,44-0,96$ ,  $p=0,027$ .<sup>85</sup>

Các nghiên cứu về *XRCC3*-rs1799794 với các loại UT khác cũng cho nhiều nhận định khác nhau. Nghiên cứu của Ali (2016) cho kết quả SNP này có liên quan lớn đến nguy cơ mắc UT vú ở phụ nữ Ả-rập Xê-út, alen G có ảnh hưởng bảo vệ khỏi nguy cơ mắc UT vú.<sup>110</sup> Trong khi nghiên cứu tổng hợp của He (2012) chỉ ra không có mối liên quan giữa SNP này với UT vú.<sup>155</sup> Nghiên cứu của Zhu (2016) kết luận đa hình này có liên quan đến nguy cơ mắc UT bàng quang ở người Trung Quốc.<sup>156</sup> De Mattia (2017) nhận định *XRCC3*-rs1799794 làm tăng nguy cơ mắc UT gan ở những bệnh nhân nhiễm virus viêm gan siêu vi B hoặc C.<sup>157</sup>

Phân tích vai trò các kiểu gen SNP *XRCC3*-rs1799794 đối với giai đoạn bệnh theo FIGO và type mô bệnh học UTBT (Bảng 3.14), nhận thấy không có sự liên quan giữa các kiểu gen với giai đoạn bệnh và type mô bệnh học UTBT bằng kiểm định Chi bình phương ( $p>0,05$ ) hay trong mô hình hồi quy logistic đa biến khi hiệu chỉnh theo các biến tuổi chẩn đoán bệnh, tuổi có kinh, tình trạng mãn kinh, với các nhóm tham chiếu như ung thư tế bào biểu mô (tỉ lệ cao nhất) và giai đoạn IV (giai đoạn muộn với hiệu quả điều trị thấp nhất) (các OR với các  $CI_{95\%}$  đều chứa 1).

#### **4.2.6 Xác định SNP *XRCC3*-rs1799796 và mối liên quan với UTBT**

Trong 760 đối tượng nghiên cứu của cả hai nhóm thì alen G của SNP *XRCC3*-rs1799796 chiếm tỉ lệ 42,8% thấp hơn alen A. Theo dữ liệu các báo cáo về tỉ lệ của SNP này trên Trung tâm quốc gia thông tin công nghệ sinh học (NCBI), Hoa kỳ thì alen G có tỉ lệ dao động tùy theo sắc dân từ 11,42%

(người gốc Phi) đến 61,1% (người gốc Phi trong nghiên cứu khác).<sup>92</sup> Trong khi kết quả của nghiên cứu Dữ liệu biến thể di truyền Việt Nam trên 210 người Kinh, alen G chiếm 37,1%.<sup>141</sup> Kiểu gen đồng hợp GG có tỉ lệ thấp hơn nhiều so với kiểu gen đồng hợp AA và kiểu gen dị hợp AG (Bảng 3.15).

Khi phân tích tỉ lệ phân bố các kiểu alen và kiểu gen ở hai nhóm bệnh nhân UTBT và đối chứng nhận thấy sự phân bố kiểu alen giữa hai nhóm nghiên cứu không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p=0,087$ ), trong khi phân bố kiểu gen có sự khác biệt giữa hai nhóm và kiểm định Chi bình phương cho kết quả  $p=0,024$  (Bảng 3.15). Cho thấy có mối liên quan giữa đa hình *XRCC3*-rs1799796 với nguy cơ mắc UTBT.

Đánh giá nguy cơ mắc UTBT của các kiểu alen và kiểu gen thông qua chỉ số OR với CI95%. Alen G có nguy cơ mắc UTBT thấp hơn so với alen A với  $OR_{G/A}=0,837$ , tuy nhiên CI95% lại chứa 1 (0,683-1,026), cho nên điều này chưa có đủ ý nghĩa thống kê.

Khi so sánh lần lượt từng kiểu gen AA và AG với kiểu gen GG, cho kết quả các kiểu gen AA và AG có nguy cơ mắc UTBT cao hơn kiểu gen GG với  $OR_{AA/GG}=1,530$  và  $OR_{AG/GG}=1,709$ , các CI95% của các OR không chứa 1, nên có thể kết luận những người mang kiểu gen AA hoặc AG có nguy cơ mắc UTBT cao hơn những người mang kiểu gen GG lần lượt là 53% và 70,9%, và nhận định được chứng minh một lần nữa khi khi trong mô hình di truyền trội, nhóm kiểu gen chứa alen A ( $AG+AA$ ) có nguy cơ mắc UTBT cao hơn kiểu gen GG với giá trị  $OR_{AG+AA/GG}=1,631$ ,  $CI95\%=1,134-2,347$ . Có thể cho thấy những người mang các kiểu gen chứa alen A có nguy cơ mắc UTBT cao hơn những người có kiểu gen GG 63%.

Phân tích vai trò các kiểu gen SNP *XRCC3*-rs1799796 đối với giai đoạn bệnh theo FIGO và type mô bệnh học UTBT trong Bảng 3.16, nhận thấy không có sự liên quan giữa các kiểu gen SNP này với giai đoạn bệnh và type

mô bệnh học của UTBT bằng kiểm định Chi bình phương ( $p > 0,05$ ) hay trong mô hình hồi quy logistic đa biến khi hiệu chỉnh theo các biến tuổi chẩn đoán bệnh, tuổi có kinh, tình trạng mãn kinh, với các nhóm tham chiếu như nhóm ung thư tế bào biểu mô (tỉ lệ cao nhất) và giai đoạn IV (giai đoạn muộn với hiệu quả điều trị thấp nhất) (các OR với các CI95% đều chứa 1).

Khi tiến hành một nghiên cứu tổng hợp nhiều nghiên cứu khác với cỡ mẫu 3125 bệnh nhân UTBT và 6265 đối chứng, Yuan (2014) đã quan sát thấy một mối tương quan có ý nghĩa thống kê với nguy cơ UTBT trong mô hình so sánh dị hợp với  $OR_{AG/AA}=0,91$ ,  $CI95\%=0,83-0,99$ ,  $p=0,04$ .<sup>7</sup> Auranen (2005) phân tích 1664 ca UTBT nguồn gốc biểu mô và 3966 đối chứng, cho thấy có sự khác biệt phân bố kiểu gen có ý nghĩa thống kê, và alen G có ảnh hưởng yếu lên sự bảo vệ đối với nguy cơ UTBT ( $p=0,049$ ). Và sau khi chọn lọc mô bệnh học chỉ phân tích đối với 737 ca UTBT biểu mô thể thanh dịch thì có ảnh hưởng lớn hơn với  $p=0,027$ ,  $OR_{AG/AA}=0,79$ ,  $CI95\%=0,66-0,94$  và  $OR_{GG/AA}=0,95$ ,  $CI95\%=0,72-1,2$ .<sup>6</sup> Wayne (2009) nghiên cứu trên 1461 bệnh nhân UTBT và 2299 đối chứng cho kết luận SNP *XRCC3*-rs1799796 không liên quan đến nguy cơ mắc UTBT, tuy  $OR_{GG/AA}=1,12$  và  $OR_{AG/AA}=0,92$ , nhưng các khoảng CI95% đều chứa 1.<sup>85</sup> Báo cáo của Nguyễn Thị Hải Phương (2018) ở người Việt Nam với cỡ mẫu nhỏ hơn 103 bệnh nhân UTBT và 103 đối chứng lại cho kết luận SNP này không có mối liên quan với nguy cơ mắc bệnh.<sup>107</sup>

## HẠN CHẾ

Nghiên cứu của tôi vẫn còn nhiều hạn chế có thể ảnh hưởng đến kết quả nghiên cứu. Cỡ mẫu tương đối nhỏ, vì vậy sức mạnh thống kê còn thấp. Một số thông tin phỏng vấn không thể tránh khỏi sai sót nhớ lại. Chưa đánh giá được hết ảnh hưởng của các yếu tố nguy cơ khác lên UTBT như yếu tố môi trường, tiền sử sản khoa, tiền sử gia đình,... Nhóm bệnh nhân nghiên cứu được chọn tại bệnh viện có thể không đại diện cho dân số nói chung.

## KẾT LUẬN

### 1. Xác định đột biến gen *BRCA1*, *BRCA2* liên quan ung thư buồng trứng:

- Trong 20 bệnh nhân được giải trình tự tìm đột biến, có 8 (40%) bệnh nhân mang đột biến, trong đó có 06 (20%) đột biến gen *BRCA1* và 02 (10%) đột biến gen *BRCA2*.

- Các đột biến được kiểm định trên các cơ sở dữ liệu di truyền và các công cụ tin sinh học dự đoán khả năng gây bệnh, đều có kết quả là đột biến gây bệnh, làm tăng nguy cơ mắc ung thư buồng trứng và ung thư vú.

- Một đột biến mới *BRCA2:c.4022delC* được xác định.

- Có 6/8 (75%) bệnh nhân mang đột biến có mô bệnh học là ung thư biểu mô thanh dịch. Chưa tìm thấy mối liên quan giữa đột biến gen *BRCA1/2* với mô bệnh học.

### 2. Xác định các đa hình đơn nucleotide gen *RAD51*, *XRCC3*, và mối liên quan với nguy cơ mắc ung thư buồng trứng:

➤ Bốn đa hình có liên quan đến nguy cơ mắc ung thư buồng trứng.

#### ❖ *RAD51-rs1801320*:

- Tỷ lệ alen C 19,5%. Tỷ lệ kiểu gen CC:GC:GG= 5,5%:27,9% :66,6%.

- Alen C có nguy cơ ung thư buồng trứng cao hơn alen G 55% và kiểu gen CC có nguy cơ ung thư buồng trứng cao hơn 2 kiểu gen còn lại 6,5 lần với  $OR_{CC/(GG+GC)}=6,523$ ,  $CI_{95\%}=2,715-15,673$ .

#### ❖ *RAD51-rs1801321*:

- Tỷ lệ alen T 19,5%. Tỷ lệ kiểu gen TT:GT:GG=12,9%: 35,5% :51,6%.

- Kiểu gen GT có nguy cơ ung thư buồng trứng thấp hơn kiểu gen GG 65% với  $OR_{GG/GT}=1,653$ ,  $CI_{95\%}=1,208-2,261$ , và bằng một nửa nguy cơ của kiểu gen TT với  $OR_{TT/GT}=2,167$ ,  $CI_{95\%}=1,352-3,473$ .

❖ ***XRCC3-rs1799794:***

- Tỷ lệ alen G 46,3%. Tỷ lệ kiểu gen GG:AG:AA= 21,2%:50,3%:28,6%.
- Kiểu gen AG có nguy cơ ung thư buồng trứng cao hơn kiểu gen AA 32,5% với  $OR_{AA/AG}=0,675$ ,  $CI_{95\%}=0,483-0,943$  và kiểu gen GG 33,7% với  $OR_{GG/AG}=0,663$ ,  $CI_{95\%}=0,458-0,960$ .

❖ ***XRCC3-rs1799796:***

- Tỷ lệ alen G 42,8%. Tỷ lệ kiểu gen GG:AG:AA= 19,6%:46,4%:33,9%.
- Nhóm kiểu gen chứa alen A (AA và AG) có nguy cơ ung thư buồng trứng cao hơn kiểu gen GG 63% với  $OR_{(AG+AA)/GG}=1,631$ ,  $CI_{95\%}=1,134-2,347$ .

➤ Chỉ 01 đa hình XRCC3-rs861539 không liên quan đến nguy cơ mắc ung thư buồng trứng.

❖ ***XRCC3-rs861539:***

- Tỷ lệ alen T 5,9%. Tỷ lệ kiểu gen TT:CT:CC=0,7%: 10,4% :88,9%.

## **KHUYẾN NGHỊ**

1. Cần xem xét việc đưa các xét nghiệm tìm ĐB gen *BRCA1* và gen *BRCA2* vào phác đồ chẩn đoán và điều trị UTBT. Đối với các phụ nữ có các đặc điểm của hội chứng ung thư vú, ung thư buồng trứng di truyền cần phải được xác định đột biến *BRCA1*, *BRCA2*.

2. Xây dựng các cơ sở dữ liệu, dùng các thuật toán để dự đoán nguy cơ mang ĐB gen *BRCA1* và *BRCA2*, nguy cơ mắc UTBT và các UT khác trên cộng đồng người Việt Nam.

3. Xây dựng quy trình tư vấn di truyền, sàng lọc, tầm soát UTBT và các UT khác cho những người mang ĐB gen *BRCA1* và *BRCA2* phù hợp với người Việt Nam.

4. Cần triển khai thêm các nghiên cứu với tiêu chí chọn mẫu rộng hơn nhằm tìm ra được các ĐB gen *BRCA1* và *BRCA2* điển hình cho người Việt Nam, các nghiên cứu về các mối liên quan giữa đa hình đơn nucleotide gen *RAD51*, *XRCC3* và các gen sửa chữa DNA khác với nguy cơ mắc UTBT và các UT khác. Cung cấp các dữ liệu và chứng cứ rõ ràng hơn về mối liên quan giữa các yếu tố di truyền với nguy cơ mắc UTBT.



## CÁC CÔNG TRÌNH LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Lê Nguyễn Trọng Nhân**, Nguyễn Thu Thúy, Vương Vũ Việt Hà, Nguyễn Quý Linh, Trần Vân Khánh, Trần Huy Thịnh, Tạ Thành Văn, Nguyễn Viết Tiến (2020). Mối liên quan giữa đa hình rs1801320 gen *RAD51* và nguy cơ mắc ung thư buồng trứng. *Tạp chí nghiên cứu y học*. Tập 128 (4), trang 1-9.
2. **Lê Nguyễn Trọng Nhân**, Nguyễn Thu Thúy, Đặng Thùy Trang, Nguyễn Quý Linh, Trần Vân Khánh, Trần Huy Thịnh, Tạ Thành Văn, Nguyễn Viết Tiến (2020). Mối liên quan giữa đa hình rs1799796 gen *XRCC3* và nguy cơ mắc ung thư buồng trứng. *Tạp chí y dược học Cần Thơ*. Số 28/2020, trang 16-23.
3. **Lê Nguyễn Trọng Nhân**, Nguyễn Thu Thúy, Đặng Thùy Trang, Vương Vũ Việt Hà, Nguyễn Quý Linh, Trần Vân Khánh, Trần Huy Thịnh, Tạ Thành Văn, Nguyễn Viết Tiến (2020). Mối liên quan giữa đa hình đơn rs861539 gen *XRCC3* và nguy cơ mắc ung thư buồng trứng. *Tạp chí nghiên cứu y học*. Tập 130, số 6, trang 48-56.
4. **Lê Nguyễn Trọng Nhân**, Nguyễn Thu Thúy, Nguyễn Quý Linh, Trần Vân Khánh, Trần Huy Thịnh, Tạ Thành Văn, Nguyễn Viết Tiến (2021). Mối liên quan giữa đa hình rs1801321 gen *RAD51* và nguy cơ mắc ung thư buồng trứng. *Bản B của Tạp chí khoa học và công nghệ Việt Nam*. Tập 63, số 5, trang 1-5.
5. **Lê Nguyễn Trọng Nhân**, Nguyễn Thu Thúy, Nguyễn Quý Linh, Trần Vân Khánh, Trần Huy Thịnh, Tạ Thành Văn, Nguyễn Viết Tiến (2021). Mối liên quan giữa đa hình đơn rs1799794 gen *XRCC3* và nguy cơ mắc ung thư buồng trứng. *Tạp chí nghiên cứu y học*. Tập 137, số 1, trang 181-189.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2021;71(3):209-249.
2. Howlander N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Brest A, Yu M, Ruhl J, Tatalovich Z, Mariotto A, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA (eds). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2017, National Cancer Institute. Bethesda, MD, [https://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2018/](https://seer.cancer.gov/csr/1975_2018/), based on November 2020 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2021.
3. Wooster R, Weber BL. Breast and ovarian cancer. *The New England journal of medicine*. 2003;348(23):2339-2347.
4. Antoniou A, Pharoah PD, Narod S, et al. Average risks of breast and ovarian cancer associated with *BRCA1* or *BRCA2* mutations detected in case Series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. *American journal of human genetics*. 2003;72(5):1117-1130.
5. Shastry BS. SNPs: impact on gene function and phenotype. *Methods in molecular biology (Clifton, NJ)*. 2009;578:3-22.
6. Auranen A, Song H, Waterfall C, et al. Polymorphisms in DNA repair genes and epithelial ovarian cancer risk. *International journal of cancer*. 2005;117(4):611-618.
7. Yuan C, Liu X, Yan S, Wang C, Kong B. Analyzing association of the XRCC3 gene polymorphism with ovarian cancer risk. *BioMed research international*. 2014;2014:648137.
8. Zeng X, Zhang Y, Yang L, et al. Association between RAD51 135 G/C polymorphism and risk of 3 common gynecological cancers: A meta-analysis. *Medicine*. 2018;97(26):e11251.

9. Yan Y, Liang H, Li R, et al. XRCC3 Thr241Met polymorphism and ovarian cancer risk: a meta-analysis. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*. 2014;35(3):2711-2715.
10. Wang WW, Spurdle AB, Kolachana P, et al. A single nucleotide polymorphism in the 5' untranslated region of RAD51 and risk of cancer among *BRCA1/2* mutation carriers. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2001;10(9):955-960.
11. Prat J. Ovarian carcinomas: five distinct diseases with different origins, genetic alterations, and clinicopathological features. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2012;460(3):237-249.
12. Schildkraut JM, Schwingl PJ, Bastos E, Evanoff A, Hughes C. Epithelial ovarian cancer risk among women with polycystic ovary syndrome. *Obstetrics and gynecology*. 1996;88(4 Pt 1):554-559.
13. Fauser BC, Tarlatzis BC, Rebar RW, et al. Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): the Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group. *Fertility and sterility*. 2012;97(1):28-38.e25.
14. Sayasneh A, Tsivos D, Crawford R. Endometriosis and ovarian cancer: a systematic review. *ISRN obstetrics and gynecology*. 2011;2011:140310.
15. Rasmussen CB, Faber MT, Jensen A, et al. Pelvic inflammatory disease and risk of invasive ovarian cancer and ovarian borderline tumors. *Cancer causes & control : CCC*. 2013;24(7):1459-1464.
16. Domchek SM, Rebbeck TR. Prophylactic oophorectomy in women at increased cancer risk. *Current opinion in obstetrics & gynecology*. 2007;19(1):27-30.

17. Rice MS, Murphy MA, Vitonis AF, et al. Tubal ligation, hysterectomy and epithelial ovarian cancer in the New England Case-Control Study. *International journal of cancer*. 2013;133(10):2415-2421.
18. Thompson D, Easton DF. Cancer Incidence in *BRCA1* mutation carriers. *Journal of the National Cancer Institute*. 2002;94(18):1358-1365.
19. Stratton JF, Pharoah P, Smith SK, Easton D, Ponder BA. A systematic review and meta-analysis of family history and risk of ovarian cancer. *British journal of obstetrics and gynaecology*. 1998;105(5):493-499.
20. Antoniou AC, Gayther SA, Stratton JF, Ponder BA, Easton DF. Risk models for familial ovarian and breast cancer. *Genetic epidemiology*. 2000;18(2):173-190.
21. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, et al. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *Journal of the National Cancer Institute*. 2004;96(4):261-268.
22. Adami HO, Lambe M, Persson I, et al. Parity, age at first childbirth, and risk of ovarian cancer. *The Lancet*. 1994;344(8932):1250-1254.
23. Schildkraut JM, Cooper GS, Halabi S, Calingaert B, Hartge P, Whittemore AS. Age at natural menopause and the risk of epithelial ovarian cancer. *Obstetrics and gynecology*. 2001;98(1):85-90.
24. Ness RB, Cramer DW, Goodman MT, et al. Infertility, fertility drugs, and ovarian cancer: a pooled analysis of case-control studies. *American journal of epidemiology*. 2002;155(3):217-224.
25. Ries LA. Ovarian cancer. Survival and treatment differences by age. *Cancer*. 1993;71(2 Suppl):524-529.
26. Walker GR, Schlesselman JJ, Ness RB. Family history of cancer, oral contraceptive use, and ovarian cancer risk. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2002;186(1):8-14.

27. Narod SA, Risch H, Moslehi R, et al. Oral contraceptives and the risk of hereditary ovarian cancer. Hereditary Ovarian Cancer Clinical Study Group. *The New England journal of medicine*. 1998;339(7):424-428.
28. Rodriguez C, Patel AV, Calle EE, Jacob EJ, Thun MJ. Estrogen replacement therapy and ovarian cancer mortality in a large prospective study of US women. *Jama*. 2001;285(11):1460-1465.
29. Lacey JV, Jr., Mink PJ, Lubin JH, et al. Menopausal hormone replacement therapy and risk of ovarian cancer. *Jama*. 2002;288(3):334-341.
30. Cramer DW, Kuper H, Harlow BL, Titus-Ernstoff L. Carotenoids, antioxidants and ovarian cancer risk in pre- and postmenopausal women. *International journal of cancer*. 2001;94(1):128-134.
31. Bosetti C, Negri E, Franceschi S, et al. Diet and ovarian cancer risk: a case-control study in Italy. *International journal of cancer*. 2001;93(6):911-915.
32. Huang X, Wang X, Shang J, et al. Association between dietary fiber intake and risk of ovarian cancer: a meta-analysis of observational studies. *The Journal of international medical research*. 2018;46(10):3995-4005.
33. Guo H, Guo J, Xie W, Yuan L, Sheng X. The role of vitamin D in ovarian cancer: epidemiology, molecular mechanism and prevention. *Journal of ovarian research*. 2018;11(1):71.
34. Olsen CM, Green AC, Whiteman DC, Sadeghi S, Kolahehdooz F, Webb PM. Obesity and the risk of epithelial ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. 2007;43(4):690-709.

35. Schouten LJ, Rivera C, Hunter DJ, et al. Height, body mass index, and ovarian cancer: a pooled analysis of 12 cohort studies. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2008;17(4):902-912.
36. International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Supplement 7. International Agency for Research on Cancer 1987. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 1987.
37. Trabert B, Ness RB, Lo-Ciganic WH, et al. Aspirin, nonaspirin nonsteroidal anti-inflammatory drug, and acetaminophen use and risk of invasive epithelial ovarian cancer: a pooled analysis in the Ovarian Cancer Association Consortium. *Journal of the National Cancer Institute*. 2014;106(2):djt431.
38. Irie H, Banno K, Yanokura M, et al. Metformin: A candidate for the treatment of gynecological tumors based on drug repositioning. *Oncology letters*. 2016;11(2):1287-1293.
39. Timmerman D, Valentin L, Bourne TH, Collins WP, Verrelst H, Vergote I. Terms, definitions and measurements to describe the sonographic features of adnexal tumors: a consensus opinion from the International Ovarian Tumor Analysis (IOTA) Group. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2000;16(5):500-505.
40. Van Calster B, Van Hoorde K, Froyman W, et al. Practical guidance for applying the ADNEX model from the IOTA group to discriminate between different subtypes of adnexal tumors. *Facts, views & vision in ObGyn*. 2015;7(1):32-41.

41. Vũ Bá Quyết (2010), “Nghiên cứu giá trị của CA12.5 trong chẩn đoán giai đoạn và theo dõi điều trị bệnh ung thư biểu mô buồng trứng”, Luận án tiến sĩ. Trường Đại học Y Hà Nội.
42. Ron IG, Inbar M, Gelernter I, et al. Use of CA-125 response to predict survival parameters of patients with advanced ovarian carcinoma. *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica*. 1994;73(8):658-662.
43. Drapkin R, von Horsten HH, Lin Y, et al. Human epididymis protein 4 (HE4) is a secreted glycoprotein that is overexpressed by serous and endometrioid ovarian carcinomas. *Cancer research*. 2005;65(6):2162-2169.
44. Moore RG, McMeekin DS, Brown AK, et al. A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA125 for the prediction of ovarian cancer in patients with a pelvic mass. *Gynecologic oncology*. 2009;112(1):40-46.
45. Jacobs I, Oram D, Fairbanks J, Turner J, Frost C, Grudzinskas JG. A risk of malignancy index incorporating CA 125, ultrasound and menopausal status for the accurate preoperative diagnosis of ovarian cancer. *British journal of obstetrics and gynaecology*. 1990;97(10):922-929.
46. Kawai M, Kano T, Kikkawa F, et al. Seven tumor markers in benign and malignant germ cell tumors of the ovary. *Gynecologic oncology*. 1992;45(3):248-253.
47. Djurdjevic S, Maksimovic M, Pantelic M, Golubovic A, Curcic A. Usefulness of beta hCG as tumor marker in the diagnosis and follow up of patients with ovarian cancer. *Journal of BUON : official journal of the Balkan Union of Oncology*. 2011;16(4):715-721.
48. (UICC) UfICC. *TNM classification of malignant tumours / editors in chief, James D. Brierley, Mary K. Gospodarowicz, Christian Wittekind ; editors, B. O'Sullivan [and 7 others]*. 8th ed: John Wiley & Sons, Ltd; 2017.

49. WHO, WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. 4th ed. World Health Organization Classification of Tumours, ed. M.P.E.S.J. Fred T. Bosman, MD; Sunil R. Lakhani, MD FRCPath; Hiroko Ohgaki, DVM PhD. 2014: International Agency for Research on Cancer (IARC). 12-14.
50. Bộ Y tế, Ung thư buồng trứng, Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị một số bệnh ung bướu. 2020, Nhà xuất bản y học. p. 348-359. In.
51. Clark TG, Stewart ME, Altman DG, Gabra H, Smyth JF. A prognostic model for ovarian cancer. *British journal of cancer*. 2001;85(7):944-952.
52. Ji J, Forsti A, Sundquist J, Lenner P, Hemminki K. Survival in ovarian cancer patients by histology and family history. *Acta oncologica (Stockholm, Sweden)*. 2008;47(6):1133-1139.
53. Petrucelli N, Daly MB, Feldman GL. Hereditary breast and ovarian cancer due to mutations in *BRCA1* and *BRCA2*. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*. 2010;12(5):245-259.
54. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene *BRCA1*. *Science (New York, NY)*. 1994;266(5182):66-71.
55. Clark SL, Rodriguez AM, Snyder RR, Hankins GD, Boehning D. Structure-Function Of The Tumor Suppressor *BRCA1*. *Computational and structural biotechnology journal*. 2012;1(1).
56. Emi M, Matsushima M, Katagiri T, et al. Multiplex mutation screening of the *BRCA1* gene in 1000 Japanese breast cancers. *Japanese journal of cancer research : Gann*. 1998;89(1):12-16.
57. Wooster R, Neuhausen SL, Mangion J, et al. Localization of a breast cancer susceptibility gene, *BRCA2*, to chromosome 13q12-13. *Science (New York, NY)*. 1994;265(5181):2088-2090.



58. Chen J, Silver DP, Walpita D, et al. Stable interaction between the products of the *BRCA1* and *BRCA2* tumor suppressor genes in mitotic and meiotic cells. *Molecular cell*. 1998;2(3):317-328.
59. Guénard F, Durocher F. *BRCA2* (breast cancer 2, early onset). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*. 2011.
60. BRCA Exchange: Facts & Stats (updated 17th July 2021). <https://brcaexchange.org/factsheet>.
61. Petrucelli N, Daly MB, T. P. *BRCA1*- and *BRCA2*-Associated Hereditary Breast and Ovarian Cancer. *GeneReviews® [Internet] University of Washington, Seattle*. 1998 Sep 4 [Updated 2016 Dec 15]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al. 1993-2021. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1247/>.
62. Hall MJ, Reid JE, Burbidge LA, et al. *BRCA1* and *BRCA2* mutations in women of different ethnicities undergoing testing for hereditary breast-ovarian cancer. *Cancer*. 2009;115(10):2222-2233.
63. Sekine M, Nishino K, Enomoto T. Differences in Ovarian and Other Cancers Risks by Population and *BRCA* Mutation Location. *Genes*. 2021;12(7):1050.
64. Ferla R, Calò V, Cascio S, et al. Founder mutations in *BRCA1* and *BRCA2* genes. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*. 2007;18 Suppl 6:vi93-98.
65. Petrij-Bosch A, Peelen T, van Vliet M, et al. *BRCA1* genomic deletions are major founder mutations in Dutch breast cancer patients. *Nature genetics*. 1997;17(3):341-345.
66. Ford D, Easton DF, Bishop DT, Narod SA, Goldgar DE. Risks of cancer in *BRCA1*-mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium. *Lancet (London, England)*. 1994;343(8899):692-695.

67. Ford D, Easton DF, Stratton M, et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the *BRCA1* and *BRCA2* genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *American journal of human genetics*. 1998;62(3):676-689.
68. Chen S, Iversen ES, Friebel T, et al. Characterization of *BRCA1* and *BRCA2* mutations in a large United States sample. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2006;24(6):863-871.
69. Satagopan JM, Offit K, Foulkes W, et al. The lifetime risks of breast cancer in Ashkenazi Jewish carriers of *BRCA1* and *BRCA2* mutations. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2001;10(5):467-473.
70. van den Broek AJ, van 't Veer LJ, Hooning MJ, et al. Impact of Age at Primary Breast Cancer on Contralateral Breast Cancer Risk in *BRCA1/2* Mutation Carriers. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2016;34(5):409-418.
71. Easton DF, Ford D, Bishop DT. Breast and ovarian cancer incidence in *BRCA1*-mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium. *American journal of human genetics*. 1995;56(1):265-271.
72. Mavaddat N, Peock S, Frost D, et al. Cancer risks for *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers: results from prospective analysis of EMBRACE. *Journal of the National Cancer Institute*. 2013;105(11):812-822.
73. Tai YC, Domchek S, Parmigiani G, Chen S. Breast cancer risk among male *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers. *Journal of the National Cancer Institute*. 2007;99(23):1811-1814.

74. Evans DG, Susnerwala I, Dawson J, Woodward E, Maher ER, Lalloo F. Risk of breast cancer in male BRCA2 carriers. *Journal of medical genetics*. 2010;47(10):710-711.
75. Leongamornlert D, Mahmud N, Tymrakiewicz M, et al. Germline BRCA1 mutations increase prostate cancer risk. *British journal of cancer*. 2012;106(10):1697-1701.
76. Kote-Jarai Z, Leongamornlert D, Saunders E, et al. BRCA2 is a moderate penetrance gene contributing to young-onset prostate cancer: implications for genetic testing in prostate cancer patients. *British journal of cancer*. 2011;105(8):1230-1234.
77. Breast Cancer Linkage Consortium. Cancer risks in BRCA2 mutation carriers. *Journal of the National Cancer Institute*. 1999;91(15):1310-1316.
78. van Asperen CJ, Brohet RM, Meijers-Heijboer EJ, et al. Cancer risks in BRCA2 families: estimates for sites other than breast and ovary. *Journal of medical genetics*. 2005;42(9):711-719.
79. Beiner ME, Finch A, Rosen B, et al. The risk of endometrial cancer in women with BRCA1 and BRCA2 mutations. A prospective study. *Gynecologic oncology*. 2007;104(1):7-10.
80. Rebbeck TR, Mitra N, Wan F, et al. Association of type and location of BRCA1 and BRCA2 mutations with risk of breast and ovarian cancer. *Jama*. 2015;313(13):1347-1361.
81. Kitts A, Sherry S. The Single Nucleotide Polymorphism Database (dbSNP) of Nucleotide Sequence Variation. 2002 Oct 9 [Updated 2011 Feb 2]. In: McEntyre J, Ostell J, editors. The NCBI Handbook [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2002. Chapter 5. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21088/>.

82. Fathalla MF. Incessant ovulation--a factor in ovarian neoplasia? *Lancet (London, England)*. 1971;2(7716):163.
83. Sullivan MR, Bernstein KA. RAD-ical New Insights into RAD51 Regulation. *Genes*. 2018;9(12):629.
84. Smolarz B, Makowska M, Samulak D, et al. Association between polymorphisms of the DNA repair gene RAD51 and ovarian cancer. *Polish journal of pathology : official journal of the Polish Society of Pathologists*. 2013;64(4):290-295.
85. Quaye L, Tyrer J, Ramus SJ, et al. Association between common germline genetic variation in 94 candidate genes or regions and risks of invasive epithelial ovarian cancer. *PloS one*. 2009;4(6):e5983.
86. RAD51 recombinase [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI. Accessed May 24, 2019. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5888>.
87. National Center for Biotechnology Information. Reference SNP Cluster Report: rs1801320 [online] Available at <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/rs1801320>> [May 12 2021].
88. National Center for Biotechnology Information. Reference SNP Cluster Report: rs1801321 [online] Available at <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/rs1801321>> [May 12 2021].
89. Grešner P, Jabłońska E, Gromadzińska J. Rad51 paralogs and the risk of unselected breast cancer: A case-control study. *PloS one*. 2020;15(1):e0226976.
90. XRCC3 X-ray repair cross complementing 3 [Homo sapiens] -Gene - NCBI. June 11, 2021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7517>.
91. National Center for Biotechnology Information. Reference SNP Cluster Report: rs861539 [online] Available at <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/rs861539>> [May 12 2021].

92. National Center for Biotechnology Information. Reference SNP Cluster Report: rs1799794 [online] Available at <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/rs1799794>> [May 12 2021].
93. National Center for Biotechnology Information. Reference SNP Cluster Report: rs1799796 [online] Available at <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/rs1799796>> [May 12 2021].
94. Bolton KL, Chenevix-Trench G, Goh C, et al. Association between *BRCA1* and *BRCA2* mutations and survival in women with invasive epithelial ovarian cancer. *Jama*. 2012;307(4):382-390.
95. Alsop K, Fereday S, Meldrum C, et al. BRCA mutation frequency and patterns of treatment response in BRCA mutation-positive women with ovarian cancer: a report from the Australian Ovarian Cancer Study Group. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2012;30(21):2654-2663.
96. Dann RB, DeLoia JA, Timms KM, et al. *BRCA1/2* mutations and expression: response to platinum chemotherapy in patients with advanced stage epithelial ovarian cancer. *Gynecologic oncology*. 2012;125(3):677-682.
97. McLaughlin JR, Rosen B, Moody J, et al. Long-term ovarian cancer survival associated with mutation in *BRCA1* or *BRCA2*. *Journal of the National Cancer Institute*. 2013;105(2):141-148.
98. Levy-Lahad E, Lahad A, Eisenberg S, et al. A single nucleotide polymorphism in the *RAD51* gene modifies cancer risk in *BRCA2* but not *BRCA1* carriers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2001;98(6):3232-3236.
99. Rebbeck TR, Mitra N, Domchek SM, et al. Modification of *BRCA1*-Associated Breast and Ovarian Cancer Risk by *BRCA1*-Interacting Genes. *Cancer research*. 2011;71(17):5792-5805.

100. Romanowicz-Makowska H, Smolarz B, Samulak D, et al. A single nucleotide polymorphism in the 5' untranslated region of RAD51 and ovarian cancer risk in Polish women. *European journal of gynaecological oncology*. 2012;33(4):406-410.
101. Michalska MM, Samulak D, Romanowicz H, Jablonski F, Smolarz B. Association between single nucleotide polymorphisms (SNPs) of XRCC2 and XRCC3 homologous recombination repair genes and ovarian cancer in Polish women. *Experimental and molecular pathology*. 2016;100(2):243-247.
102. Lê Thị Minh Chính, Đái Duy Ban, Hoàng Minh Châu và CS (2004). Kết quả nghiên cứu đột biến gen *BRCA1* và *BRCA2* ở 24 bệnh nhân ung thư vú ở Việt Nam. Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống 2004.
103. Ginsburg OM, Dinh NV, To TV, et al. Family history, BRCA mutations and breast cancer in Vietnamese women. *Clinical genetics*. 2011;80(1):89-92.
104. Hoàng Anh Vũ, Lê Phương Thảo, Phan Thị Xinh, Đoàn Thị Phương Thảo. Phát hiện đột biến gen *BRCA1* trên phụ nữ Việt Nam thuộc nhóm nguy cơ cao bị ung thư vú. Tạp chí Y học Thành Phố Hồ Chí Minh. 2010;4(14):674-681.
105. Xác định đột biến gen *BRCA1* và *BRCA2* ở bệnh nhân nữ ung thư vú tại VN : Y học thực hành, tập 741, số 11, 2010 / Lê Thị Phương, Nguyễn Thu Thúy, Tạ Văn Tờ, Nguyễn Diệu Thúy. - H. : Bộ Y tế. - 107-111.
106. Nguyễn Thị Ngọc Lan. Xác định đột biến gen *BRCA1*, *BRCA2* ở bệnh nhân ung thư buồng trứng có hội chứng ung thư vú-buồng trứng di truyền. Luận văn Thạc sĩ. Hóa sinh. Đại học Y Hà Nội.
107. Nguyễn Hải Phương, Trần Huy Thịnh. Đa hình đơn nucleotide A17893G của gen XRCC3 trên bệnh nhân ung thư buồng trứng. 2018. Tạp chí Nghiên cứu Y học. **115(6)**, pp. 53-60.

108. Nguyễn Thị Thu Lê, Nguyễn Thu Thúy, Trần Vân Khánh, Nguyễn Việt Tiến và Trần Huy Thịnh. Phân tích đa hình đơn nucleotid rs1801320 của gen RAD51 trên bệnh nhân ung thư biểu mô buồng trứng. 2020. Tạp chí Nghiên cứu Y học. **133(9)**, pp. 26-32.
109. Tulbah S, Alabdulkarim H, Alanazi M, et al. Polymorphisms in RAD51 and their relation with breast cancer in Saudi females. *OncoTargets and therapy*. 2016;9:269-277.
110. Ali AM, AbdulKareem H, Al Anazi M, et al. Polymorphisms in DNA Repair Gene XRCC3 and Susceptibility to Breast Cancer in Saudi Females. *BioMed research international*. 2016;2016:8721052.
111. Lu J, Wang LE, Xiong P, Sturgis EM, Spitz MR, Wei Q. 172G>T variant in the 5' untranslated region of DNA repair gene RAD51 reduces risk of squamous cell carcinoma of the head and neck and interacts with a P53 codon 72 variant. *Carcinogenesis*. 2007;28(5):988-994.
112. Findlay GM, Daza RM, Martin B, et al. Accurate classification of *BRCA1* variants with saturation genome editing. *Nature*. 2018;562(7726):217-222.
113. Hogervorst FB, Cornelis RS, Bout M, et al. Rapid detection of *BRCA1* mutations by the protein truncation test. *Nature genetics*. 1995;10(2):208-212.
114. Dong J, Chang-Claude J, Wu Y, et al. A high proportion of mutations in the *BRCA1* gene in German breast/ovarian cancer families with clustering of mutations in the 3' third of the gene. *Human genetics*. 1998;103(2):154-161.
115. Van der Hout AH, van den Ouweland AM, van der Luijt RB, et al. A DGGE system for comprehensive mutation screening of *BRCA1* and *BRCA2*: application in a Dutch cancer clinic setting. *Human mutation*. 2006;27(7):654-666.

116. Konecny M, Milly M, Zavodna K, et al. Comprehensive genetic characterization of hereditary breast/ovarian cancer families from Slovakia. *Breast cancer research and treatment*. 2011;126(1):119-130.
117. National Center for Biotechnology Information. ClinVar; [VCV000231083.9], <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000231083.9> (accessed Feb. 24, 2022).
118. De Leon Matsuda ML, Liede A, Kwan E, et al. *BRCA1* and *BRCA2* mutations among breast cancer patients from the Philippines. *International journal of cancer*. 2002;98(4):596-603.
119. Zhao Q, Yang J, Li L, Cao D, Yu M, Shen K. Germline and somatic mutations in homologous recombination genes among Chinese ovarian cancer patients detected using next-generation sequencing. *Journal of gynecologic oncology*. 2017;28(4):e39.
120. Vu HA, Phu ND, Khuong LT, et al. Recurrent *BRCA1* Mutation, but no *BRCA2* Mutation, in Vietnamese Patients with Ovarian Carcinoma Detected with Next Generation Sequencing. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*. 2020;21(8):2331-2335.
121. Myriad\_Genetic\_Laboratories. The Prevalence of Deleterious Mutations in *BRCA1* and *BRCA2*. *Mutation Prevalence Tables* 2010; <https://s3.amazonaws.com/myriad-library/brac/brca-prevalence-tables.pdf>.
122. Powell CB, Kenley E, Chen LM, et al. Risk-reducing salpingo-oophorectomy in *BRCA* mutation carriers: role of serial sectioning in the detection of occult malignancy. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2005;23(1):127-132.



123. Daly MB, Pal T, Berry MP, et al. Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast, Ovarian, and Pancreatic, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN*. 2021;19(1):77-102.
124. Frank TS, Deffenbaugh AM, Reid JE, et al. Clinical characteristics of individuals with germline mutations in *BRCA1* and *BRCA2*: analysis of 10,000 individuals. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2002;20(6):1480-1490.
125. Teixeira N, van der Hout A, Oosterwijk JC, et al. The association between cancer family history and ovarian cancer risk in *BRCA1/2* mutation carriers: can it be explained by the mutation position? *European journal of human genetics : EJHG*. 2018;26(6):848-857.
126. Cline MS, Liao RG, Parsons MT, et al. BRCA Challenge: BRCA Exchange as a global resource for variants in *BRCA1* and *BRCA2*. *PLoS genetics*. 2018;14(12):e1007752.
127. Schwarz JM, Cooper DN, Schuelke M, Seelow D. MutationTaster2: mutation prediction for the deep-sequencing age. *Nature Methods*. 2014;11(4):361-362.
128. Vallée MP, Di Sera TL, Nix DA, et al. Adding In Silico Assessment of Potential Splice Aberration to the Integrated Evaluation of BRCA Gene Unclassified Variants. *Human mutation*. 2016;37(7):627-639.
129. Wappenschmidt B, Becker AA, Hauke J, et al. Analysis of 30 putative *BRCA1* splicing mutations in hereditary breast and ovarian cancer families identifies exonic splice site mutations that escape in silico prediction. *PloS one*. 2012;7(12):e50800.

130. Van Thuan T, Van Chu N, Khoa PH, et al. A Novel *BRCA1* Gene Mutation Detected With Breast Cancer in a Vietnamese Family by Targeted Next-Generation Sequencing: A Case Report. *Breast cancer : basic and clinical research*. 2020;14:1178223420901555.
131. Arai M, Yokoyama S, Watanabe C, et al. Genetic and clinical characteristics in Japanese hereditary breast and ovarian cancer: first report after establishment of HBOC registration system in Japan. *Journal of human genetics*. 2018;63(4):447-457.
132. Risch HA, McLaughlin JR, Cole DE, et al. Population *BRCA1* and *BRCA2* mutation frequencies and cancer penetrances: a kin-cohort study in Ontario, Canada. *Journal of the National Cancer Institute*. 2006;98(23):1694-1706.
133. Risch HA, McLaughlin JR, Cole DE, et al. Prevalence and penetrance of germline *BRCA1* and *BRCA2* mutations in a population series of 649 women with ovarian cancer. *American journal of human genetics*. 2001;68(3):700-710.
134. Werness BA, Ramus SJ, DiCioccio RA, et al. Histopathology, FIGO stage, and *BRCA* mutation status of ovarian cancers from the Gilda Radner Familial Ovarian Cancer Registry. *International journal of gynecological pathology : official journal of the International Society of Gynecological Pathologists*. 2004;23(1):29-34.
135. Hodgson A, Turashvili G. Pathology of Hereditary Breast and Ovarian Cancer. *Frontiers in Oncology*. 2020;10(2026).
136. Hanley GE, McAlpine JN, Miller D, et al. A population-based analysis of germline *BRCA1* and *BRCA2* testing among ovarian cancer patients in an era of histotype-specific approaches to ovarian cancer prevention. *BMC cancer*. 2018;18(1):254.

137. Kurian AW, Munoz DF, Rust P, et al. Online tool to guide decisions for *BRCA1/2* mutation carriers. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2012;30(5):497-506.
138. Howe R, Miron-Shatz T, Hanoch Y, Omer ZB, O'Donoghue C, Ozanne EM. Personalized Medicine Through SNP Testing for Breast Cancer Risk: Clinical Implementation. *Journal of genetic counseling*. 2015;24(5):744-751.
139. Nguyễn Như Hoàng NVQH. So sánh giá trị dự báo ung thư buồng trứng của 4 phiên bản chỉ số nguy cơ ác tính buồng trứng (RMI). . *Tạp chí Y học Việt Nam*. 2016;444(2):6.
140. Chornokur G, Amankwah EK, Schildkraut JM, Phelan CM. Global ovarian cancer health disparities. *Gynecologic oncology*. 2013;129(1):258-264.
141. Le VS, Tran KT, Bui HTP, et al. A Vietnamese human genetic variation database. *Human mutation*. 2019;40(10):1664-1675.
142. Smolarz B, Michalska MM, Samulak D, Romanowicz H, Wojcik L. Polymorphism of DNA Repair Genes via Homologous Recombination (HR) in Ovarian Cancer. *Pathology oncology research : POR*. 2019;25(4):1607-1614.
143. Wang W, Li JL, He XF, et al. Association between the RAD51 135 G>C polymorphism and risk of cancer: a meta-analysis of 19,068 cases and 22,630 controls. *PloS one*. 2013;8(9):e75153.
144. Li L, Zhang X, Zhang ZT. Genetic Polymorphisms in the RAD51 Gene with a Risk of Head and Neck Cancer and Esophageal Cancer: A Meta-Analysis. *International journal of genomics*. 2019;2019:2789035.

145. Romanowicz-Makowska H, Smolarz B, Gajecka M, et al. Polymorphism of the DNA repair genes RAD51 & XRCC2 in smoking- & drinking-related laryngeal cancer in a Polish population. *Archives of medical science : AMS*. 2012;8(6):1065-1075.
146. Krupa R, Sliwinski T, Wisniewska-Jarosinska M, et al. Polymorphisms in RAD51, XRCC2 and XRCC3 genes of the homologous recombination repair in colorectal cancer--a case control study. *Molecular biology reports*. 2011;38(4):2849-2854.
147. Romanowicz-Makowska H, Samulak D, Michalska M, et al. RAD51 gene polymorphisms and sporadic colorectal cancer risk in Poland. *Polish journal of pathology : official journal of the Polish Society of Pathologists*. 2012;63(3):193-198.
148. Petrovic-Sunderic J, Dragicevic S, Krnjajic M, Ristanovic M, Nikolic A, Krivokapic Z. Polymorphism RAD51 172G > T in Serbian patients with colorectal cancer. *Journal of BUON : official journal of the Balkan Union of Oncology*. 2018;23(4):936-940.
149. Santos EM, Santos HBP, de Matos FR, et al. Clinicopathological significance of SNPs in RAD51 and XRCC3 in oral and oropharyngeal carcinomas. *Oral diseases*. 2019;25(1):54-63.
150. Michalska MM, Samulak D, Romanowicz H, Smolarz B. Association of polymorphisms in the 5' untranslated region of RAD51 gene with risk of endometrial cancer in the Polish population. *Archives of gynecology and obstetrics*. 2014;290(5):985-991.
151. Monteiro MS, Vilas Boas DB, Gigliotti CB, Salvadori DM. Association among XRCC1, XRCC3, and BLHX gene polymorphisms and chromosome instability in lymphocytes from patients with endometriosis and ovarian cancer. *Genetics and molecular research : GMR*. 2014;13(1):636-648.

152. Beesley J, Jordan SJ, Spurdle AB, et al. Association between single-nucleotide polymorphisms in hormone metabolism and DNA repair genes and epithelial ovarian cancer: results from two Australian studies and an additional validation set. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2007;16(12):2557-2565.
153. Webb PM, Hopper JL, Newman B, et al. Double-strand break repair gene polymorphisms and risk of breast or ovarian cancer. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2005;14(2):319-323.
154. Cheng CX, Xue M, Li K, Li WS. Predictive value of XRCC1 and XRCC3 gene polymorphisms for risk of ovarian cancer death after chemotherapy. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*. 2012;13(6):2541-2545.
155. He XF, Wei W, Su J, et al. Association between the XRCC3 polymorphisms and breast cancer risk: meta-analysis based on case-control studies. *Molecular biology reports*. 2012;39(5):5125-5134.
156. Zhu G, Su H, Lu L, et al. Association of nineteen polymorphisms from seven DNA repair genes and the risk for bladder cancer in Gansu province of China. *Oncotarget*. 2016;7(21):31372-31383.
157. De Mattia E, Cecchin E, Polesel J, et al. Genetic biomarkers for hepatocellular cancer risk in a caucasian population. *World journal of gastroenterology*. 2017;23(36):6674-6684.

**PHỤ LỤC 1**  
**BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU ĐỘT BIẾN GEN *BRCA1/2***

**I. MÃ BỆNH NHÂN - KBT.....**

**II. THÔNG TIN CHUNG**

- Họ và tên: ..... Năm sinh .....
- Địa chỉ:.....
- Điện thoại: ..... Điện thoại người thân (nếu có): .....
- Tuổi có kinh: ..... Tình trạng kinh nguyệt: .....

**III. TIỀN SỬ BẢN THÂN**

- ❖ Ung thư buồng trứng:
  - Thời điểm chẩn đoán: ..... Giai đoạn: .....
  - Mô bệnh học: .....
  - Điều trị: .....
- ❖ Ung thư vú (nếu có): .....
- ❖ Khác: .....

**IV. TIỀN SỬ GIA ĐÌNH**

- ❖ Ung thư buồng trứng: .....  
.....  
.....
- ❖ Ung thư vú: .....  
.....  
.....
- ❖ Ung thư khác: .....

**V. NGÀY LẤY MẪU: ..... Tại: .....**

**VI. KẾT QUẢ:**

- Ngày thực hiện: .....
- Tách chiết DNA: Nồng độ: ..... Mật độ: .....
- Đột biến gen *BRCA1*: .....
- Đột biến gen *BRCA2*: .....

**PHỤ LỤC 2**  
**BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU SNP GEN *RAD51*, *XRCC3***

**I. MÃ BỆNH NHÂN – BT** ..... / **MÃ NHÓM CHỨNG– DC**.....

**II. THÔNG TIN CHUNG**

- Họ và tên: ..... Năm sinh .....
- Địa chỉ:.....
- Điện thoại: ..... Điện thoại người thân (nếu có): .....
- Tuổi có kinh: ..... Tình trạng kinh nguyệt: .....

**III. TIỀN SỬ BẢN THÂN (DÀNH CHO NHÓM BỆNH NHÂN)**

❖ Ung thư buồng trứng:

- Thời điểm chẩn đoán: ..... Giai đoạn: .....
- Mô bệnh học: .....
- Điều trị:.....

❖ Khác: .....

**IV. NGÀY LẤY MẪU:** ..... **Tại:** .....

**V. KẾT QUẢ:**

- Ngày thực hiện: .....
- Tách chiết DNA: Nồng độ: ..... Mật độ: .....

Gen	<i>RAD51</i>		<i>XRCC3</i>		
SNP	rs1801320	rs1801321	rs86539	rs1799794	rs1799796
Kiểu gen					

**PHỤ LỤC 3**  
**QUY TRÌNH TÁCH DNA TỪ MÁU TOÀN PHẦN VỚI**  
**KIT PROMEGA**

*Bước 1- Phá vỡ hồng cầu*

- Cho 300 µl máu toàn phần đã chống đông vào ống Eppendorf 1,5 ml.
- Cho vào 900µl dung dịch Cell Lysis, vortex 30 giây, ủ 10 phút nhiệt độ phòng.
- Ly tâm 14000 vòng/1 phút/22°C, loại bỏ dịch nổi.
- Lặp lại quá trình này đến khi tủa trắng (không thêm 300µl máu)

*Bước 2- Phá vỡ chất nhân và tủa protein*

- Thêm 300µl dung dịch Nuclei Lysis. Vortex 15 giây, ủ 37°C/1 giờ. Nếu sau 1 giờ chưa tan hết cho thêm 100µl dung dịch Nuclei Lysis rồi ủ tiếp 37°C/1 giờ.
- Thêm 1,5µl dung dịch Rnase, ủ ở 37°C/15 phút.
- Thêm 100µl dung dịch Protein Precipitation. Nếu đã thêm 100µl dung dịch Nuclei Lysis ở trên, cho 130 µl dung dịch Protein Precipitation. Vortex 10 – 20 giây, ly tâm 14000 vòng/3 phút/22°C.

*Bước 3: Tủa và hòa tan DNA*

- Chuyển dịch nổi sang ống mới có 300µl Isopropanol, lắc và quan sát kết tủa DNA.
- Ly tâm 14000 vòng/phút trong 1 phút 22°C, loại bỏ dịch nổi.
- Thêm 300µl Ethanol 70%, lắc 5 – 6 lần. Ly tâm 14000 vòng/1 phút/22°C.
- Bỏ dịch nổi, để khô ở 56°C trong 20 phút cho bay hơi cồn.
- Thêm 50 µl dung dịch DNA Rehydration, ủ ở 37°C/1 giờ và để qua đêm ở nhiệt độ phòng để hòa tan DNA.



## **PHỤ LỤC 4**

### **ĐIỆN DI SẢN PHẨM PCR VÀ SẢN PHẨM RFLP**

#### ***I. Quy trình điện di sản phẩm PCR***

\* Chuẩn bị gel agarose 2%: hòa tan 0,5g bột agarose trong 25ml TBE 1X. Cho hỗn hợp đồng nhất vào khuôn gel có sẵn lược tạo giếng. Để gel đông đặc hoàn toàn trong 40-60 phút. Cho bản gel vào bể điện di đã có sẵn dung dịch TBE 1X

\* Tra 3 $\mu$ l Marker 100bp và 3 $\mu$ l mỗi sản phẩm PCR vào các giếng gel.

\* Thực hiện điện di: 110V/ 2.0A trong 30 phút

\* Nhuộm bản gel: Ngâm bản gel vào dung dịch Ethidium Bromide 5 mg/ml 1 phút. Sau đó, rửa bản gel bằng nước loại bỏ Ethidium Bromide dư.

\* Soi bản gel dưới đèn UV. Quan sát các băng DNA xuất hiện trên bản gel và thực hiện chụp lưu giữ kết quả.

#### ***II. Quy trình điện di sản phẩm RFLP***

\* Chuẩn bị gel agarose 2-3%: hòa tan 0,5g -0,75g bột agarose trong 25ml TBE 1X (bằng lò vi sóng). Cho hỗn hợp đồng nhất vào khuôn gel có sẵn lược tạo giếng. Để gel đông đặc hoàn toàn trong 40-60 phút. Cho bản gel vào bể điện di đã có sẵn dung dịch TBE 1X.

\* Tra 5 $\mu$ l Marker 100bp, 15 $\mu$ l mỗi sản phẩm RFLP lần lượt vào các giếng.

\* Thực hiện điện di:

- Tiến hành điện di 60V/ 2.0A 60 phút, sau đó điện di tiếp 90V/ 2.0A 80 phút (đối với SNP rs1801320, rs1801321).

- *Hoặc* tiến hành điện di 100V/2.0A 60 phút (đối với SNP rs861539, rs1799794, rs1799796)

\* Nhuộm bản gel: Ngâm bản gel vào dung dịch Ethidium Bromide 5mg/ml trong 1 phút. Sau đó, rửa bản gel bằng nước, loại bỏ Ethidium Bromide dư.

\* Soi bản gel dưới đèn UV. Quan sát các băng DNA xuất hiện trên bản gel và chụp lưu giữ kết quả. Phân tích kết quả điện di và ghi nhận kiểu gen.

**PHỤ LỤC 5 - KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM ĐỘT BIẾN GEN *BRCA1/2***

<b>STT</b>	<b>Mã</b>	<b>HBOC</b>	<b>Đột biến <i>BRCA1/2</i></b>
01	KBT1	UTBT & UT vú	<i>BRCA2</i> :c.5453C>A
02	KBT2	UTBT, Mẹ và chị UT vú	<i>BRCA1</i> :c.1621C>T
03	KBT2.1	Chị gái KBT2	Không mang đột biến
04	KBT2.2	Chị gái KBT2, mắc UT vú	<i>BRCA1</i> :c.1621C>T
05	KBT2.3	Em gái KBT2	<i>BRCA1</i> :c.1621C>T
06	KBT2.4	Con gái KBT2.1	Không mang đột biến
07	KBT2.5	Con gái KBT2	Không mang đột biến
08	KBT3	UTBT, Dì mắc UTBT	<i>BRCA1</i> :c.5335delC
09	KBT4	UTBT&UT vú, em gái UTBT	<i>BRCA1</i> :c.4986+4A>T
10	KBT4.1	Em gái KBT4, mắc UTBT	<i>BRCA1</i> :c.4986+4A>T
11	KBT4.2	Em gái KBT4	Không mang đột biến
12	KBT4.3	Con gái KBT4.2	Không mang đột biến
13	KBT4.4	Con gái của chị gái KBT4	Không mang đột biến
14	KBT4.5	Con gái KBT4.4	Không mang đột biến
15	KBT4.6	Con gái KBT4.4	Không mang đột biến
16	KBT4.7	Con gái KBT4.1	<i>BRCA1</i> :c.4986+4A>T
17	KBT5	UTBT & UT vú	Không mang đột biến
18	KBT6	UTBT, Chị, em gái UTBT	<i>BRCA1</i> :c.2760-2763delACAG
19	KBT6.1	Mẹ của KBT6	<i>BRCA1</i> :c.2760-2763delACAG
20	KBT7	UTBT, Chị mắc UT vú	<i>BRCA1</i> :c.4997dupA
21	KBT7.1	Em gái KBT7	Không mang đột biến
22	KBT7.2	Em gái KBT7	Không mang đột biến
23	KBT7.3	Con gái KBT7	Không mang đột biến
24	KBT7.4	Con gái KBT7	<i>BRCA1</i> :c.4997dupA
25	KBT8	UTBT, Mẹ mắc UTBT	<i>BRCA1</i> :c.1016delA
26	KBT9	UTBT& UT vú	Không mang đột biến
27	KBT10	UTBT, Mẹ mắc UTBT	Không mang đột biến
28	KBT11	UTBT, Mẹ mắc UTBT	Không mang đột biến
29	KBT12	UTBT, Chị mắc UT vú	Không mang đột biến
30	KBT13	UTBT & UT vú, chị UT vú	Không mang đột biến
31	KBT14	UTBT, Chị mắc UT vú	Không mang đột biến
32	KBT15	UTBT & UT vú	<i>BRCA2</i> :c.4022delC
33	KBT16	UTBT & UT vú	Không mang đột biến
34	KBT17	UTBT, Cô mắc UTBT	Không mang đột biến
35	KBT18	UTBT & UT vú	Không mang đột biến
36	KBT19	UTBT& UT vú	Không mang đột biến
37	KBT20	UTBT & UT vú	Không mang đột biến

**PHỤ LỤC 6-KẾT QUẢ KIỂU GEN CÁC SNP *RAD51*, *XRCC3* NHÓM CHÚNG**

Mã	<i>RAD51</i>		<i>XRCC3</i>		
	rs180	rs180	rs861	rs179	rs179
	1320	1321	539	9794	9796
DC001	GG	GG	CC	GG	GG
DC002	GG	GG	CC	AA	GG
DC003	GG	GG	CC	AA	GG
DC004	GG	GG	CC	AA	GG
DC005	GG	GT	CC	GG	AA
DC006	GG	GG	CC	AA	GG
DC007	GG	GG	CC	AG	GG
DC008	GG	GG	CC	GG	AA
DC009	GG	GT	CC	GG	AA
DC010	GG	GG	CC	AA	GG
DC011	GC	GG	CC	AG	AG
DC012	GG	GG	CC	AG	AA
DC013	GG	GG	CC	AG	AG
DC014	GG	GT	CT	GG	AA
DC015	GG	GT	CC	AG	AG
DC016	GC	GT	CC	AG	AG
DC017	GC	GT	CC	AA	AG
DC018	GG	GT	CC	AG	AG
DC019	GC	GG	CC	AG	AG
DC020	GG	GT	CC	AA	GG
DC021	GG	GG	CT	AG	AG
DC022	GG	GG	CC	AA	GG
DC023	GG	GG	CC	AA	GG
DC024	GG	GG	CC	AG	AG
DC025	GG	GG	CC	AA	GG
DC026	GG	GG	CC	AG	AA
DC027	GG	GG	CC	AG	AG
DC028	GG	GG	CT	AG	AG
DC029	GG	GT	CC	AG	AA
DC030	GG	GG	CT	AG	GG
DC031	GC	GG	CC	AG	AA

Mã	<i>RAD51</i>		<i>XRCC3</i>		
	rs180	rs180	rs861	rs179	rs179
	1320	1321	539	9794	9796
DC032	GG	GT	CC	AG	AG
DC033	GG	GT	CC	AG	AG
DC034	GG	GT	CC	AA	GG
DC035	GG	GT	CC	AG	AA
DC036	GG	TT	CT	AG	AA
DC037	GG	TT	CT	AA	AG
DC038	GG	GG	CC	AA	AA
DC039	GG	GG	CT	AG	AA
DC040	GG	GG	CC	AG	AA
DC041	GC	GG	CC	AA	GG
DC042	GG	GG	CC	AG	AA
DC043	GG	TT	CC	AA	GG
DC044	GG	GG	CT	AG	AA
DC045	GG	GG	CC	AA	AA
DC046	GC	GG	CT	AA	GG
DC047	GC	GG	CC	AG	AA
DC048	GC	GG	CC	AA	AG
DC049	GC	GG	CC	AG	AA
DC050	GC	GT	CC	GG	AA
DC051	GG	GT	CC	AA	AG
DC052	GG	GG	CC	AG	AA
DC053	GG	TT	CC	AG	AG
DC054	GG	TT	CT	AG	AA
DC055	GG	GG	CC	GG	AA
DC056	GC	GT	CC	GG	AA
DC057	GG	GT	CT	AA	AA
DC058	GG	TT	CC	AA	GG
DC059	GG	GG	CC	AA	GG
DC060	GG	GG	CC	AG	AG
DC061	GG	GG	CC	AG	AG
DC062	GG	GG	CC	GG	AA

Mã	RAD51		XRCC3		
	rs180	rs180	rs861	rs179	rs179
	1320	1321	539	9794	9796
DC063	GC	GG	CC	AA	AG
DC064	GG	GG	CT	AA	AA
DC065	GG	GT	CC	AG	AG
DC066	GG	GG	CC	GG	AA
DC067	GG	GG	CC	AG	AG
DC068	GG	GG	CC	AA	GG
DC069	GG	TT	CC	AG	AG
DC070	GG	GG	CC	AG	AA
DC071	GG	GG	CC	AA	GG
DC072	GG	GG	CC	GG	AA
DC073	GC	GG	CT	AG	AG
DC074	GC	GG	CC	AG	AG
DC075	GC	GG	CC	AA	GG
DC076	GC	GG	CC	AG	AG
DC077	GC	GT	CC	AG	AA
DC078	GC	GT	CC	GG	AA
DC079	GC	GG	CC	GG	AA
DC080	GC	GT	CC	AG	AG
DC081	GC	GG	CC	AG	AG
DC082	GC	GG	CC	AG	AA
DC083	GG	GG	CC	GG	GG
DC084	GG	GG	CC	AG	GG
DC085	GG	GT	CT	AG	AA
DC086	GG	GT	CC	AG	AG
DC087	GG	TT	CC	GG	AA
DC088	GG	TT	CC	GG	AA
DC089	GG	GT	CC	AG	AA
DC090	GC	GT	CC	AG	AG
DC091	GG	GG	CC	AA	GG
DC092	GG	GG	CC	AG	AG
DC093	GC	GG	CC	AA	GG
DC094	GG	GG	CC	AG	AG

Mã	RAD51		XRCC3		
	rs180	rs180	rs861	rs179	rs179
	1320	1321	539	9794	9796
DC095	GC	GG	CT	AG	AG
DC096	GG	GG	CC	AG	AG
DC097	GG	GG	CC	GG	GG
DC098	GG	GG	CC	AA	AG
DC099	GG	GG	CC	AG	AG
DC100	GG	GG	CC	GG	AA
DC101	GG	GG	CC	AG	AA
DC102	GC	GG	CC	AA	GG
DC103	CC	GG	CC	GG	AG
DC104	GG	GT	CT	AA	AG
DC105	GG	GG	CC	AG	AG
DC106	GG	GG	CC	GG	AA
DC107	CC	GG	CC	AA	GG
DC108	GG	GG	CT	AG	AA
DC109	GG	GG	CT	AG	AA
DC110	GG	GG	CC	AA	AG
DC111	GC	GG	CC	GG	AA
DC112	GC	TT	CC	AG	GG
DC113	GC	TT	CC	AA	AG
DC114	GG	GG	CC	AG	AG
DC115	GC	GG	CC	AA	GG
DC116	GC	GG	CC	GG	AA
DC117	GG	GG	CT	AG	AG
DC118	GG	TT	CC	AA	GG
DC119	GG	GG	CC	AA	GG
DC120	GC	GG	CC	GG	AA
DC121	GG	GG	CC	AA	AG
DC122	GC	GG	CC	AG	AG
DC123	GG	GT	CC	AA	AA
DC124	GG	GG	CC	AG	AG
DC125	GG	GG	CC	GG	AA
DC126	GG	TT	CC	AG	AG

Mã	RAD51		XRCC3		
	rs180	rs180	rs861	rs179	rs179
	1320	1321	539	9794	9796
DC127	GG	GG	CC	AG	AG
DC128	GG	GG	CC	AA	AG
DC129	GG	GG	CC	AG	AG
DC130	GG	GT	CT	AG	AA
DC131	GG	GT	CC	AG	AG
DC132	GG	GT	CC	AG	AG
DC133	GG	GT	CC	AA	AG
DC134	GG	GT	CC	AA	AA
DC135	GG	GT	CC	AA	AG
DC136	GC	GT	CT	AA	AA
DC137	GG	GT	CC	GG	AA
DC138	GG	TT	CC	AG	AG
DC139	GG	GG	CC	GG	AA
DC140	GG	TT	CC	GG	AA
DC141	GG	GT	CC	AG	AG
DC142	GG	TT	CT	AG	AA
DC143	GG	GG	CC	AA	GG
DC144	GC	GG	CC	AG	AG
DC145	GG	GG	TT	AA	GG
DC146	GC	GT	CC	AA	GG
DC147	GC	GT	CC	AA	GG
DC148	GG	GT	CC	AA	GG
DC149	GG	GT	CT	GG	AG
DC150	GG	TT	CC	AG	AA
DC151	GC	GG	CC	AG	AG
DC152	GG	GT	CC	AG	AG
DC153	GC	GG	CT	GG	AA
DC154	GG	GG	CC	AG	AA
DC155	GG	GT	CC	GG	AG
DC156	GG	TT	CC	AA	AA
DC157	GC	GG	CC	GG	AA
DC158	GG	GT	CC	GG	AA

Mã	RAD51		XRCC3		
	rs180	rs180	rs861	rs179	rs179
	1320	1321	539	9794	9796
DC159	GC	GG	CC	GG	AG
DC160	GC	GG	CC	GG	AG
DC161	GG	GT	CC	GG	AG
DC162	GG	GT	CC	GG	GG
DC163	GG	GT	CT	GG	AA
DC164	GG	GT	CC	GG	AG
DC165	GC	GT	CC	GG	AG
DC166	GC	GG	CC	AG	AG
DC167	GC	GT	CC	AA	GG
DC168	GG	GT	CC	AA	GG
DC169	GC	GT	CC	GG	AA
DC170	GG	GT	CC	AA	AG
DC171	GG	TT	CC	AA	AG
DC172	GC	TT	CT	AA	AG
DC173	GG	TT	CC	AG	AG
DC174	GG	GT	CC	AA	GG
DC175	GG	GT	CC	GG	AA
DC176	GC	GT	CC	GG	AA
DC177	GG	GT	CC	AG	AA
DC178	GC	GT	CC	GG	AA
DC179	GG	GT	CC	AG	AA
DC180	GG	GT	CC	AG	AG
DC181	GG	GT	CC	AG	AA
DC182	GG	GT	CT	AG	AA
DC183	GC	GT	CC	AG	AG
DC184	GC	GT	CC	AG	AA
DC185	GC	GG	CC	GG	AA
DC186	GC	GG	CC	AA	AG
DC187	GG	GT	CC	AG	AG
DC188	GG	GT	CC	AG	GG
DC189	GG	GT	CC	GG	GG
DC190	GG	GT	CC	AA	AA

Mã	RAD51		XRCC3		
	rs180	rs180	rs861	rs179	rs179
	1320	1321	539	9794	9796
DC191	GG	GT	CT	AG	GG
DC192	GG	GT	TT	AG	GG
DC193	GG	GT	CC	AA	AG
DC194	GG	GT	CC	GG	AG
DC195	GG	GT	CC	AA	GG
DC196	GG	TT	CC	AG	AG
DC197	GC	TT	CC	AG	AA
DC198	GG	GT	CC	AA	AA
DC199	GC	GT	CC	AG	AG
DC200	GC	GG	CC	AG	GG
DC201	GG	GG	CC	GG	AA
DC202	GG	GG	CC	GG	AA
DC203	GG	GG	CC	GG	AA
DC204	GG	GG	CC	AA	GG
DC205	GG	GG	CC	AA	GG
DC206	GG	GG	CC	AG	AG
DC207	GC	GG	CC	AG	AG
DC208	GG	GG	CC	AG	GG
DC209	GG	GT	CC	AG	AG
DC210	GG	GT	CC	AA	AG
DC211	GG	GT	CC	GG	AA
DC212	GG	GT	CC	AG	AA
DC213	GG	GT	CC	AG	AG
DC214	GC	GT	CC	GG	AA
DC215	GG	GT	CC	AG	AG
DC216	GG	GT	CC	AG	AG
DC217	GC	TT	CC	AG	AG
DC218	GG	TT	CC	AA	AA
DC219	GG	GG	CC	AG	AA
DC220	GG	GG	CC	AA	GG
DC221	GG	GG	CC	AG	AG
DC222	GG	GG	CC	AG	AG

Mã	RAD51		XRCC3		
	rs180	rs180	rs861	rs179	rs179
	1320	1321	539	9794	9796
DC223	GC	GG	CC	AG	AG
DC224	GC	GG	CC	AG	AG
DC225	GG	GG	CT	AG	AG
DC226	GC	GG	CC	AG	AA
DC227	GC	GG	CC	AA	AG
DC228	GC	GT	CC	AG	AG
DC229	GG	GT	CC	AA	AA
DC230	GG	GT	CT	AA	AA
DC231	GG	GT	CT	AA	AG
DC232	GG	GT	CC	GG	GG
DC233	GG	GT	CC	AG	AG
DC234	GC	GT	CC	AA	AG
DC235	GC	GT	CC	AG	GG
DC236	GG	TT	CC	AG	AG
DC237	GG	TT	CC	AG	AG
DC238	GG	GG	CT	AA	AG
DC239	GG	GG	CC	GG	AG
DC240	GG	GG	CC	AG	AG
DC241	GC	GG	CC	AA	AA
DC242	GG	GG	CC	AG	AG
DC243	GG	GG	CC	AG	AG
DC244	GG	GG	CC	AA	AA
DC245	GG	GG	CC	AA	AG
DC246	GG	GG	CC	GG	AA
DC247	GG	GT	CC	AA	GG
DC248	GG	GT	CC	AG	AG
DC249	GC	GT	CT	AG	AG
DC250	GG	GT	CC	AA	AA
DC251	GG	GT	CC	GG	AA
DC252	GG	GT	CC	AA	AG
DC253	CC	GT	CC	AG	GG
DC254	GC	GT	CC	GG	AA

Mã	RAD51		XRCC3		
	rs180	rs180	rs861	rs179	rs179
	1320	1321	539	9794	9796
DC255	GG	TT	CT	AA	AG
DC256	GG	TT	CC	AA	GG
DC257	GC	GG	CC	AG	AA
DC258	GG	GG	CC	GG	AA
DC259	GC	GG	CC	AG	AG
DC260	GC	GG	CC	GG	AA
DC261	GC	GG	CC	GG	AA
DC262	GG	GG	CC	AG	AG
DC263	GG	GG	CC	AG	AG
DC264	GC	GG	CC	AG	AG
DC265	GC	GG	CC	GG	AA
DC266	GC	GT	CT	GG	AA
DC267	GG	GT	CC	AA	GG
DC268	GC	GT	CC	AG	AG
DC269	GG	GT	CC	AA	AA
DC270	GG	GT	CC	GG	AA
DC271	GG	GT	CC	GG	AG
DC272	GC	GT	CC	GG	AA
DC273	GG	GT	CT	AA	AG
DC274	GG	TT	CC	AA	GG
DC275	GG	TT	CC	GG	AG
DC276	GG	GG	CC	AG	AG
DC277	GG	GG	CC	AA	GG
DC278	GG	GG	CC	GG	AA
DC279	GC	GG	CC	AA	AG
DC280	GG	GG	CC	GG	AA
DC281	GC	GG	CC	AA	AG
DC282	GC	GG	CC	AG	AG
DC283	GC	GG	CC	GG	GG
DC284	GG	GG	CC	AA	AG
DC285	GC	GT	CT	AG	AG
DC286	GG	GT	CC	GG	AA

Mã	RAD51		XRCC3		
	rs180	rs180	rs861	rs179	rs179
	1320	1321	539	9794	9796
DC287	GC	GT	CC	AG	AA
DC288	GG	GT	CC	GG	AA
DC289	GG	GT	CC	AG	AA
DC290	GC	GT	CC	AA	AA
DC291	GG	GT	CC	AA	AG
DC292	GG	GT	CC	AG	AG
DC293	GG	TT	CC	AG	AG
DC294	GG	TT	CC	GG	AA
DC295	GG	GG	CC	AA	AA
DC296	GG	GG	CC	AA	AG
DC297	GG	GG	CC	GG	GG
DC298	GG	GG	CC	AG	AA
DC299	GG	GG	CC	AA	GG
DC300	GG	GG	CC	AG	AG
DC301	GG	GT	CC	GG	AA
DC302	GG	GT	CT	AA	AG
DC303	GC	GT	CC	AG	AA
DC304	GG	GT	CC	AA	AG
DC305	GG	GG	CC	AA	GG
DC306	GG	GT	CC	AA	AG
DC307	GG	GT	CC	AG	AG
DC308	GG	GG	CC	AA	AG
DC309	GG	TT	CC	GG	AA
DC310	GG	GT	CC	AG	GG
DC311	GG	GT	CC	AG	AA
DC312	GG	GT	CC	AG	AG
DC313	GG	GT	CC	AG	AG
DC314	GC	GT	CC	AG	GG
DC315	GG	GT	CC	AG	AG
DC316	CC	GT	CC	GG	GG
DC317	GC	GT	CC	AG	AA
DC318	GG	GT	CC	AG	AG

Mã	RAD51		XRCC3		
	rs180	rs180	rs861	rs179	rs179
	1320	1321	539	9794	9796
DC319	GC	GT	CC	AG	GG
DC320	GG	GT	CC	AA	AG
DC321	GG	GT	CC	GG	GG
DC322	GC	GT	CC	AG	GG
DC323	GG	GT	CT	GG	AG
DC324	CC	GT	CC	AG	AA
DC325	GC	GT	CC	GG	GG
DC326	GG	GG	CC	AA	AG
DC327	GC	GT	CC	AG	AG
DC328	GG	GT	CC	AA	GG
DC329	GG	GT	CC	GG	AA
DC330	GC	GT	CC	AG	AG
DC331	GG	GT	CC	AA	GG
DC332	GG	GG	CC	AG	AG
DC333	CC	GG	CC	AG	AA
DC334	GG	GG	CC	AG	AA
DC335	GG	TT	CC	AA	AG
DC336	GC	GG	CT	AG	AG
DC337	GG	GG	CC	AA	GG
DC338	GG	GG	CC	AG	GG
DC339	GG	GG	CC	AA	GG
DC340	GG	TT	CC	GG	AA
DC341	GG	TT	CC	AA	AG
DC342	GC	GG	CC	AG	GG
DC343	GG	GT	CC	AA	AG
DC344	GC	GT	CC	AA	GG
DC345	GG	GT	CC	GG	AG
DC346	GC	GG	CC	AA	GG
DC347	GG	GG	CT	AG	AA
DC348	GG	GG	CC	AG	AA
DC349	GC	GG	CC	AG	AG

Mã	RAD51		XRCC3		
	rs180	rs180	rs861	rs179	rs179
	1320	1321	539	9794	9796
DC350	GG	GG	CC	GG	GG
DC351	GC	GT	CC	AG	AG
DC352	GG	GT	CC	AA	GG
DC353	GC	GT	CC	GG	AA
DC354	GG	GG	CC	AG	AG
DC355	GG	GG	CT	AG	AG
DC356	GG	GG	CC	GG	AG
DC357	GG	GG	CC	GG	GG
DC358	GG	GT	CC	AG	GG
DC359	GC	GT	CC	AG	AA
DC360	GC	GT	CC	AA	AG
DC361	GG	GT	CC	AA	AG
DC362	GG	GT	CC	AA	AG
DC363	GC	GT	CC	GG	GG
DC364	GG	GT	CC	AG	GG
DC365	GC	GT	CC	AA	AA
DC366	GG	TT	CC	AG	AG
DC367	GG	TT	CC	AA	GG
DC368	GC	GG	CC	AA	AG
DC369	GG	GG	CC	GG	GG
DC370	GG	GG	CC	GG	AG
DC371	GC	GG	CT	AG	AA
DC372	GG	GG	CC	AG	AG
DC373	GG	GG	CC	AA	GG
DC374	GC	GG	CC	AG	AG
DC375	GG	GG	CC	AG	GG
DC376	GC	GG	CC	AG	AG
DC377	GG	GT	CC	AA	AA
DC378	GG	GT	CC	AG	AG
DC379	GC	GT	TT	AG	GG
DC380	GG	GT	CC	GG	AG



**PHỤ LỤC 7-KẾT QUẢ KIỂU GEN CÁC SNP *RAD51*, *XRCC3* NHÓM UTBT**

Mã	<i>RAD51</i>		<i>XRCC3</i>		
	rs180 1320	rs180 1321	rs86 1539	rs179 9794	rs179 9796
BT001	CC	GG	CC	GG	AA
BT002	GC	GG	CC	AA	GG
BT003	GG	GT	CC	AG	AG
BT004	GG	GG	CC	GG	AA
BT005	GG	GG	CC	AA	AG
BT006	GC	GG	CC	AG	AG
BT007	GG	GG	CC	AA	GG
BT008	GG	GG	CC	AG	AG
BT009	CC	GG	CC	GG	AA
BT010	GG	GG	CC	AG	AG
BT011	CC	GG	CC	AG	AG
BT012	GG	GT	CC	AA	GG
BT013	GG	GT	CC	AG	AA
BT014	GG	GT	CC	AG	AG
BT015	GG	GT	CC	AG	AG
BT016	GG	GT	CC	AG	AG
BT017	GG	TT	CC	AA	GG
BT018	GG	TT	CC	AA	AG
BT019	GG	TT	CC	GG	AA
BT020	GC	GG	CC	GG	AA
BT021	GG	GG	CC	AG	AG
BT022	GC	GG	CC	AA	GG
BT023	GG	GG	CC	AA	GG
BT024	GC	GG	CC	AG	AG
BT025	GG	GG	CC	AG	AG
BT026	CC	GG	CC	AA	GG
BT027	GC	GG	CC	AG	AG
BT028	CC	GG	CC	GG	AA
BT029	GG	GG	CC	AG	AG
BT030	CC	GT	CC	GG	AA
BT031	GG	GT	CC	GG	AA

Mã	<i>RAD51</i>		<i>XRCC3</i>		
	rs180 1320	rs180 1321	rs86 1539	rs179 9794	rs179 9796
BT032	CC	GT	CT	AA	AG
BT033	GC	GT	CC	GG	AA
BT034	GC	GT	CC	GG	AA
BT035	GG	TT	CC	AG	AG
BT036	GC	TT	CC	AA	GG
BT037	GC	TT	CC	AG	AG
BT038	GC	GG	CC	AG	AA
BT039	GC	GG	CC	AA	AG
BT040	CC	GG	CC	GG	AA
BT041	GG	GG	CC	GG	AA
BT042	GG	TT	CC	AA	GG
BT043	CC	GG	CC	AG	AG
BT044	CC	GG	CT	AA	AA
BT045	GC	GG	CC	AA	GG
BT046	GG	GG	CT	AA	AG
BT047	GG	GG	CC	AA	GG
BT048	GC	GG	CC	AG	AA
BT049	GC	GG	CC	AG	AA
BT050	CC	GT	CC	AG	AG
BT051	CC	GT	CC	AA	GG
BT052	GG	GG	CC	AG	AA
BT053	GG	GG	CC	AG	AG
BT054	GC	GT	CC	GG	AA
BT055	GG	GG	CT	AA	AG
BT056	GC	GG	CC	AG	AG
BT057	GC	GG	CC	AG	AG
BT058	GG	GT	CC	AA	AA
BT059	GG	GT	CC	AA	AG
BT060	GC	TT	CC	AG	AG
BT061	GG	GG	CC	AG	AA
BT062	GG	GG	CT	AG	AA

Mã	RAD51		XRCC3		
	rs180 1320	rs180 1321	rs86 1539	rs179 9794	rs179 9796
BT063	GG	GG	CC	GG	AA
BT064	GG	GG	CC	AG	AG
BT065	CC	TT	CC	AG	AA
BT066	GC	TT	CC	AA	AG
BT067	GG	GT	CC	GG	AA
BT068	CC	GG	CC	GG	AA
BT069	GC	GG	CC	GG	AA
BT070	CC	GG	CC	AG	AG
BT071	CC	GG	CC	AA	GG
BT072	GG	GG	CC	AA	GG
BT073	GG	GG	CC	AA	AG
BT074	CC	GG	CC	AG	AA
BT075	GC	GG	CC	AA	GG
BT076	GG	GT	CC	AG	AA
BT077	CC	GG	CC	AA	GG
BT078	GC	GG	CC	GG	AA
BT079	GC	GT	CC	AG	AA
BT080	GG	GT	CC	AG	AG
BT081	CC	GT	CC	AG	AA
BT082	CC	GT	CC	AG	AA
BT083	GG	GT	CC	AG	AG
BT084	GC	TT	CC	AG	AA
BT085	GC	TT	CC	AG	AG
BT086	GG	TT	CT	AG	AA
BT087	GG	GT	CT	AA	AA
BT088	CC	GG	CC	AG	AA
BT089	CC	GG	CC	AG	AG
BT090	GG	GG	CC	GG	AA
BT091	CC	GG	CC	AG	AG
BT092	GG	GG	CC	GG	AA
BT093	GG	GG	CC	AG	AG
BT094	GG	GT	CC	AG	AG

Mã	RAD51		XRCC3		
	rs180 1320	rs180 1321	rs86 1539	rs179 9794	rs179 9796
BT095	GG	GT	CC	AA	GG
BT096	GC	GG	CC	AG	AG
BT097	GC	GG	CT	AA	AG
BT098	GG	TT	CC	AA	GG
BT099	GG	GG	CC	GG	AA
BT100	CC	GG	CC	AG	AG
BT101	GC	GG	CC	AA	GG
BT102	GG	TT	CC	AA	AG
BT103	GG	GG	CC	GG	AG
BT104	CC	TT	CT	AG	AA
BT105	GC	GT	CC	AG	AG
BT106	GG	GG	CC	AA	GG
BT107	GG	GG	CC	AG	GG
BT108	CC	TT	CC	AG	AG
BT109	GC	GT	CC	AG	AG
BT110	GG	TT	CC	AA	GG
BT111	GC	GG	CC	AG	AG
BT112	GC	GG	CC	AA	GG
BT113	CC	GG	CC	AG	AG
BT114	CC	TT	CC	AG	AA
BT115	GC	TT	CC	AG	AA
BT116	GG	TT	CC	AG	AG
BT117	GG	GG	CC	AG	AG
BT118	GG	GG	CC	AG	AG
BT119	GG	GG	CC	AG	AG
BT120	GG	GG	CC	AA	AG
BT121	GG	GG	CC	GG	AA
BT122	GG	GG	CC	AG	AG
BT123	GG	GG	CC	GG	AA
BT124	GC	GG	CC	GG	AA
BT125	GG	GG	CC	GG	AA
BT126	GC	GG	CT	AA	AG

Mã	RAD51		XRCC3		
	rs180 1320	rs180 1321	rs86 1539	rs179 9794	rs179 9796
BT127	GG	GG	CC	GG	GG
BT128	GC	GG	CC	AG	AG
BT129	CC	GG	CC	AG	AG
BT130	CC	GG	CT	AG	AA
BT131	CC	GG	CC	AA	AG
BT132	GG	GG	CC	GG	AA
BT133	GC	GG	CC	GG	AA
BT134	GC	GG	CC	AG	AG
BT135	GC	GT	CC	GG	AA
BT136	GG	GT	CC	AA	AG
BT137	GG	TT	CT	AG	AA
BT138	GC	GG	CT	AA	AG
BT139	GC	GG	CC	AA	GG
BT140	GC	GT	CC	AG	AG
BT141	GG	GG	CC	AG	AG
BT142	GG	GG	CC	GG	AA
BT143	GG	GG	CC	AA	AG
BT144	GC	GT	CC	AA	GG
BT145	GC	GT	CC	AA	AG
BT146	GG	GG	CC	AA	GG
BT147	GG	TT	CC	AG	AG
BT148	GG	GT	CC	AG	AG
BT149	GC	GT	CC	AG	AG
BT150	GG	TT	CC	AG	AG
BT151	GG	GG	CC	AG	AA
BT152	GG	GG	CC	AG	AG
BT153	GC	GG	CT	AA	GG
BT154	GG	GG	CC	AA	GG
BT155	GG	TT	CC	AA	AG
BT156	GC	GG	CC	AA	AG
BT157	GC	GG	CC	AA	AG
BT158	GC	GG	CC	AG	AG

Mã	RAD51		XRCC3		
	rs180 1320	rs180 1321	rs86 1539	rs179 9794	rs179 9796
BT159	GG	GG	CC	AG	AG
BT160	GG	TT	CT	AG	AA
BT161	GG	GG	CC	AG	AA
BT162	GG	GG	CC	AG	GG
BT163	GC	GG	CC	AG	AA
BT164	GG	GG	CT	AG	AA
BT165	GC	GG	CC	AG	AG
BT166	GC	TT	CC	AG	AA
BT167	GG	TT	CC	AG	AG
BT168	GG	GT	CC	AG	AG
BT169	GG	GT	CC	AG	AG
BT170	GG	GT	CC	AG	AG
BT171	GG	GT	CC	AG	AA
BT172	GC	GG	CC	GG	AA
BT173	GC	GT	CC	AG	AG
BT174	GG	GT	CC	GG	AA
BT175	GG	GT	CT	AG	AA
BT176	GG	GG	CT	AA	GG
BT177	GG	GT	CC	AG	AA
BT178	CC	GG	CC	AG	AG
BT179	GC	GG	CC	GG	AA
BT180	GG	GT	CC	GG	AA
BT181	GG	GT	CC	AG	AG
BT182	GC	GG	CC	AA	AG
BT183	GG	GG	CC	GG	AG
BT184	GC	GG	CC	GG	AA
BT185	GC	GG	CC	AG	AG
BT186	GG	GG	CC	GG	AA
BT187	GG	TT	CC	AA	GG
BT188	GG	GG	CC	GG	AA
BT189	GG	GT	CC	AG	AG
BT190	GG	GT	CC	AG	AA

Mã	RAD51		XRCC3		
	rs180 1320	rs180 1321	rs86 1539	rs179 9794	rs179 9796
BT191	GG	GT	CC	GG	GG
BT192	GC	GG	CT	AG	AG
BT193	GC	GG	CC	AA	AG
BT194	GG	TT	CC	GG	AA
BT195	GG	GT	CC	AG	AG
BT196	GG	GT	CC	GG	AA
BT197	GC	GG	CC	AA	AG
BT198	GC	GG	CC	AG	AG
BT199	GG	GT	CC	AG	GG
BT200	GG	GG	CC	AA	AG
BT201	GC	GT	CC	AA	AG
BT202	GG	GT	CT	AG	AA
BT203	GC	TT	CC	AG	AG
BT204	GC	GG	CC	AA	GG
BT205	GC	GG	CC	AA	AA
BT206	GG	TT	CC	AG	AA
BT207	GC	GG	CC	AG	AG
BT208	GG	GT	CC	AG	AG
BT209	GG	GG	CC	AG	AG
BT210	CC	GG	CC	AA	AG
BT211	GC	GG	CC	AG	AG
BT212	GG	GT	CC	AG	AG
BT213	GG	GT	CC	AG	GG
BT214	GG	GT	CC	GG	AA
BT215	GG	GT	CC	AA	GG
BT216	GG	GT	CC	AG	AG
BT217	GG	GG	CC	AG	AG
BT218	GG	TT	CC	AG	AG
BT219	GG	GG	CC	AA	AG
BT220	GG	GG	CC	AG	AA
BT221	GC	GG	CC	AA	GG
BT222	GG	GG	CC	AA	GG

Mã	RAD51		XRCC3		
	rs180 1320	rs180 1321	rs86 1539	rs179 9794	rs179 9796
BT223	GG	GG	CC	AG	AG
BT224	GG	GT	CT	AG	AG
BT225	GG	TT	CC	AG	AG
BT226	GC	TT	CC	AG	AG
BT227	GG	GG	CC	AG	AA
BT228	GC	GG	CC	AG	AG
BT229	GG	GG	CT	AG	AA
BT230	GC	GG	CT	AG	AG
BT231	GG	TT	CC	AG	AG
BT232	GG	GT	CC	GG	AA
BT233	GG	GG	CT	GG	AA
BT234	GG	GG	CC	AG	AG
BT235	GG	GG	TT	AA	AG
BT236	GG	GG	CC	AG	AG
BT237	GG	GG	CC	AG	AG
BT238	GG	GG	CC	AG	AG
BT239	GG	TT	CC	AG	AG
BT240	GG	GG	CC	GG	AA
BT241	GG	GG	CC	AG	AG
BT242	GG	TT	CC	AG	AG
BT243	GG	GG	CC	AG	AG
BT244	GG	GG	CC	AA	GG
BT245	GG	GG	CC	GG	AA
BT246	GG	GG	CC	AA	GG
BT247	GG	GG	CC	GG	AA
BT248	GG	GG	CC	AA	AG
BT249	GG	TT	CC	GG	AA
BT250	GG	GG	CT	AG	AA
BT251	GG	GT	CC	AG	AG
BT252	GG	GG	CC	AG	AG
BT253	GG	GG	CC	AA	GG
BT254	GG	TT	CC	AG	AG

Mã	RAD51		XRCC3		
	rs180 1320	rs180 1321	rs86 1539	rs179 9794	rs179 9796
BT255	GG	GT	CC	AG	AA
BT256	GG	GG	CC	AG	AG
BT257	GG	GG	CC	AG	AG
BT258	GG	GG	CC	AG	AG
BT259	GG	GT	CC	AG	AG
BT260	GG	GT	CC	AG	AG
BT261	GG	GT	CC	AG	AA
BT262	GG	GG	CC	AG	AG
BT263	GG	GG	CC	AG	AG
BT264	GG	GG	CC	AG	AG
BT265	GG	GG	CC	GG	AA
BT266	GG	GT	CC	AG	AA
BT267	GG	GT	CT	AG	AG
BT268	GG	GT	CC	AG	AA
BT269	GG	TT	CC	AA	GG
BT270	GC	GG	CC	GG	AA
BT271	GG	GT	CC	AG	AG
BT272	GG	GT	CC	AG	AA
BT273	GG	GT	CC	AG	AG
BT274	GG	GT	CC	GG	AA
BT275	GG	GT	CC	AG	AG
BT276	GG	GT	CC	AG	AG
BT277	GG	GT	CC	AG	AG
BT278	GG	GG	CC	AG	AG
BT279	GG	GT	CC	AG	AA
BT280	GG	GG	CC	AA	GG
BT281	GG	GT	CC	AG	AG
BT282	GG	GT	CC	AA	GG
BT283	GG	GG	CC	AG	AG
BT284	GG	TT	CC	AG	AG
BT285	GG	GT	CC	AA	AG
BT286	GG	GG	CC	AA	GG

Mã	RAD51		XRCC3		
	rs180 1320	rs180 1321	rs86 1539	rs179 9794	rs179 9796
BT287	GG	TT	CC	AA	AG
BT288	GC	GG	CC	AA	AG
BT289	GC	GG	CC	AA	GG
BT290	GC	TT	CC	AA	GG
BT291	GC	TT	CC	AG	GG
BT292	GG	GG	CC	AG	AG
BT293	GC	TT	CC	AG	GG
BT294	GC	GT	CC	AG	AG
BT295	GG	GT	CC	AG	AG
BT296	GC	TT	CC	AG	AA
BT297	GG	GG	CC	AG	AG
BT298	GC	GG	CC	AA	GG
BT299	GG	GT	CC	AA	AG
BT300	GG	GT	CC	AG	AG
BT301	GG	GT	CC	GG	AA
BT302	GG	GT	CC	AG	AG
BT303	GG	GT	CC	AA	GG
BT304	GG	GT	CC	AG	AG
BT305	GG	TT	CT	AG	AA
BT306	GG	TT	CC	GG	AA
BT307	GG	TT	CC	GG	AA
BT308	GG	GG	CC	AG	AA
BT309	GC	GG	CC	GG	AA
BT310	GC	GG	CC	AG	AG
BT311	GG	GG	CC	GG	AA
BT312	GC	GG	CC	AG	AA
BT313	GG	GG	CC	AG	AA
BT314	GG	GG	CC	GG	AA
BT315	GG	GG	CC	AG	AA
BT316	GG	GG	CC	AG	AG
BT317	GG	GG	CC	AG	AG
BT318	GG	GT	CC	AG	AA

Mã	RAD51		XRCC3		
	rs180 1320	rs180 1321	rs86 1539	rs179 9794	rs179 9796
BT319	GG	GT	CT	AG	AA
BT320	GG	GT	CC	AG	AG
BT321	GC	GT	CC	GG	AA
BT322	GG	GT	CC	AG	AG
BT323	GC	TT	CC	AA	AG
BT324	GC	TT	CC	AG	AG
BT325	GC	TT	CC	AA	AG
BT326	GC	GG	CC	AG	AG
BT327	GG	GG	CC	AG	AG
BT328	GG	GG	CC	AG	AA
BT329	GG	GG	CC	GG	AG
BT330	GG	GG	CC	AG	AA
BT331	GG	GG	CT	GG	AA
BT332	GG	GG	CC	AG	AG
BT333	GG	GG	CC	AG	AA
BT334	GC	GG	CC	AA	AG
BT335	GG	GG	CC	AG	AG
BT336	GG	GT	CC	AA	AA
BT337	GG	GT	CC	AG	AA
BT338	GG	GT	CC	GG	AG
BT339	GG	GT	CC	GG	AG
BT340	GG	GT	CC	AG	AA
BT341	GG	TT	CC	GG	AG
BT342	GC	TT	CC	GG	AA
BT343	GG	TT	CC	AA	AA
BT344	GC	GG	CC	GG	AG
BT345	GG	GG	CC	AG	GG
BT346	GG	GT	CC	AG	AG
BT347	GG	GG	CC	GG	GG
BT348	GC	GG	CC	GG	AG
BT349	GC	GG	CC	AG	AA

Mã	RAD51		XRCC3		
	rs180 1320	rs180 1321	rs86 1539	rs179 9794	rs179 9796
BT350	GG	GG	CC	AG	AG
BT351	GG	GG	CC	AG	AG
BT352	GG	GG	CC	AG	AG
BT353	GG	GG	CC	AA	GG
BT354	GC	GG	CC	AG	AG
BT355	GG	GT	CT	AG	AA
BT356	CC	GT	TT	AA	AG
BT357	GG	GT	CT	AA	AA
BT358	GC	GT	CC	AA	GG
BT359	GG	GT	CC	AG	AG
BT360	GC	TT	CC	AG	AG
BT361	GG	GG	CC	AG	AG
BT362	GG	GT	CC	AG	AG
BT363	GG	TT	CT	AG	AA
BT364	GG	GG	CT	AA	GG
BT365	GC	GG	CC	AG	AA
BT366	GG	GT	CC	AG	AG
BT367	GG	GG	CC	AA	GG
BT368	GC	GG	CT	AA	AG
BT369	GG	GG	CT	AA	AG
BT370	GG	GG	CC	AG	AG
BT371	GG	GG	CC	AG	AA
BT372	CC	GG	CC	GG	AA
BT373	CC	GG	CC	GG	AA
BT374	GC	GG	CC	AA	GG
BT375	GG	GT	CC	AA	AG
BT376	GG	GT	CC	GG	AA
BT377	GC	GT	CC	AG	AA
BT378	GG	GT	CC	AA	GG
BT379	GG	GT	CC	GG	AA
BT380	GG	TT	CT	AG	AA