

ĐẶT VẤN ĐỀ

Trên thế giới, ung thư đại trực tràng (UTĐTT) là bệnh ung thư phổ biến đứng thứ 3 ở nam, thứ 2 ở nữ, và là nguyên nhân gây tử vong cao thứ 4 trong các bệnh ung thư [1]. Mỗi năm, ước tính có khoảng 1.361.000 bệnh nhân mới mắc và 694.000 bệnh nhân tử vong do bệnh UTĐTT. Bệnh UTĐTT phần lớn xảy ra ở các nước phát triển, chiếm 60% các trường hợp [1],[2],[3],[4].

Ở Việt Nam, theo số liệu công bố của tổ chức ghi nhận ung thư toàn cầu (Globocan 2012 – IARC), mỗi năm có khoảng 8.768 bệnh nhân mới mắc và 4.131 bệnh nhân tử vong vì căn bệnh này. Tỷ lệ mắc và tử vong do UTĐTT đứng vị trí thứ 4 ở nam, sau ung thư gan, phổi, và dạ dày; đứng vị trí thứ 6 ở nữ sau ung thư gan, phổi, vú, dạ dày và ung thư cổ tử cung [2],[5],[6].

Tiên lượng của UTĐTT ngày càng tốt hơn nhờ những tiến bộ trong lĩnh vực chẩn đoán và điều trị. Đối với giai đoạn sớm, phẫu thuật là phương pháp chính giúp điều trị triệt căn bệnh UTĐTT. Các phương pháp điều trị hỗ trợ cho giai đoạn sớm bao gồm hoá trị và xạ trị giúp cải thiện thời gian sống thêm ở nhóm nguy cơ cao. Tuy nhiên, trên thực tế có khoảng 60% bệnh nhân được chẩn đoán ở giai đoạn muộn, khi đó, các phương pháp điều trị thường nhằm cải thiện chất lượng cuộc sống cho bệnh nhân và kéo dài thời gian sống thêm. Điều trị toàn thân bao gồm hoá trị và điều trị đích là phương pháp chủ đạo trong điều trị UTĐTT giai đoạn muộn, tái phát, di căn. Các thuốc điều trị đích đã được áp dụng như cetuximab, panitumumab đối với bệnh nhân không có đột biến gen KRAS, các thuốc nhắm đích thụ thể của yếu tố tăng sinh mạch như bevacizumab, aflibercept và regorafenib cũng đã được áp dụng cho điều trị UTĐTT giai đoạn muộn [7],[8],[9],[10],[11],[12].

Khoảng 80% UTĐTT có biểu hiện quá mức protein EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor), yếu tố giữ vai trò quan trọng trong việc kiểm soát tăng sinh tế bào. Mặc dù vậy, trên thực tế lâm sàng, có trường hợp bệnh nhân UTĐTT có biểu hiện quá mức EGFR nhưng không đáp ứng với kháng thể chống EGFR (cetuximab, panitumumab). Trên thế giới và ở Việt Nam đã có một số nghiên cứu về các đột biến gen KRAS (Kirsten rat sarcoma 2 viral oncologon homolog) và dự báo tình trạng kháng thuốc có liên quan đến đột biến tại exon 2 ở vị trí codon 12 và 13 [7],[11],[13],[14],[15].

Đối với UTĐTT, trên thế giới, theo các nghiên cứu khác nhau của Wembin Li và CS, Feng Q và CS, kết quả cho thấy tình trạng đột biến gen KRAS hay gặp ở nam giới nhiều hơn nữ giới, đại tràng phải nhiều hơn đại tràng trái [16],[17]. Tại Việt Nam, hiện nay vẫn còn ít tác giả quan tâm tới tình trạng đột biến gen KRAS, cũng như mối liên quan của nó với các đặc điểm bệnh học UTĐTT. Do đó, chúng tôi tiến hành đề tài: “**Nghiên cứu một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và tình trạng đột biến gen KRAS trong ung thư đại trực tràng tại Bệnh viện K**” nhằm 2 mục tiêu:

1. Nghiên cứu một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng ung thư đại trực tràng.

2. Đánh giá tình trạng đột biến gen KRAS và mối liên quan với một số đặc điểm bệnh học ung thư đại trực tràng.

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN

1.1. DỊCH TỄ UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNG

1.1.1. Tình hình mắc bệnh ung thư đại trực tràng

Trên thế giới, UTĐTT là bệnh ung thư phổ biến thứ 3 ở nam, thứ 2 ở nữ, và là nguyên nhân gây chết cao thứ 4 trong các bệnh ung thư [1]. Mỗi năm ước tính có 1.361.000 bệnh nhân mới mắc và có 694.000 người chết do căn bệnh UTĐTT. Bệnh UTĐTT phần lớn xảy ra ở các nước phát triển chiếm 60% các trường hợp [1],[2],[3].

Ở Việt Nam, theo số liệu công bố của tổ chức ghi nhận ung thư toàn cầu (Globocan 2012 - IARC), mỗi năm có khoảng 8.768 bệnh nhân mắc mới, 4.131 bệnh nhân tử vong do căn bệnh UTĐTT. Tỷ lệ mắc và tử vong do UTĐTT đứng vị trí thứ 4 ở nam, sau ung thư gan, phổi, và dạ dày; đứng vị trí thứ 6 ở nữ sau ung thư gan, phổi, vú, dạ dày và ung thư cổ tử cung [2],[6].

1.1.2. Nguyên nhân và các yếu tố nguy cơ của ung thư đại trực tràng

Cho đến nay, các nhà khoa học thấy thấy có 3 vấn đề: Dinh dưỡng, các thương tổn tiền ung thư và yếu tố di truyền có liên quan chặt chẽ đến sinh bệnh học UTĐTT [5],[6],[7].

- *Yếu tố dinh dưỡng*

UTĐTT liên quan chặt với chế độ ăn nhiều thịt, mỡ động vật, thực phẩm có nhiều mỡ, thịt động vật làm tăng lượng axit mật, làm thay đổi và thúc đẩy sự phát triển của các vi khuẩn trong ruột nhất là những vi khuẩn yếm khí như Clostridia. Các vi khuẩn này có thể biến đổi các axit mật thành các chất chuyển hoá có khả năng tác động tới sự sinh sản của các tế bào biểu mô ruột [18].

Chế độ ăn ít chất xơ, chế độ ăn thiếu các vitamin, A, B, C, E, thiếu canxi làm tăng nguy cơ ung thư.

Uống nhiều rượu, nghiện thuốc lá là những nguyên nhân thuận lợi gây ung thư [19],[20],[21],[22].

- ***Các thương tổn tiền ung thư***

❖ ***Viêm đại trực tràng chảy máu và bệnh Crohn***

Đây là những bệnh lý của đại trực tràng có liên quan đến sinh bệnh ung thư. Nhiều nghiên cứu cho thấy ở những bệnh nhân viêm đại trực tràng chảy máu, nguy cơ tiến triển tới ung thư là 20-25% sau thời gian khoảng trên 10 năm [23],[24],[25].

❖ ***Polyp đại tràng***

Polyp đại trực tràng là những thương tổn tiền ung thư. Có nhiều loại polyp: Polyp tuyến, polyp tăng sản và polyp loạn sản phôi.

Nguy cơ ung thư hoá của polyp tùy theo kích thước và loại mô học. Loại polyp tăng sản ít ác tính hoá hơn trong khi polyp nhung mao có nguy cơ ung thư hoá 25-40%. Những polyp có kích thước > 2cm có nguy cơ ung thư cao [26],[27].

- ***Yếu tố di truyền***

Yếu tố di truyền đóng vai trò quan trọng trong sinh bệnh UTĐTT, với gen sinh UT và các hội chứng di truyền bao gồm: Bệnh đa polyp đại trực tràng gia đình (Familial Adenomatous Polyposis: FAP) và hội chứng UTĐTT di truyền không có polyp (Hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma: HNPCC) [26],[27],[28],[29],[30]. Các hội chứng di truyền trong UTĐTT:

+ Hội chứng UTĐTT di truyền không polyp (hội chứng Lynch): Về tiền sử gia đình có nhiều thế hệ mắc UTĐTT. Có thể phối hợp những ung thư khác như ung thư dạ dày, ruột non, thận, buồng trứng [28],[27],[31].

+ Bệnh đa polyp đại trực tràng mang tính gia đình gồm hàng trăm, hàng ngàn polyp, các polyp thường nhỏ đường kính khoảng 1cm, có cuống, gặp ở lứa tuổi trước 30, tỉ lệ ung thư hoá cao [27],[28],[30].

+ Hội chứng Peutz Jeghers: Bệnh di truyền gen trội nhiễm sắc thể thường. Bệnh nhân có rất nhiều polyp trong toàn bộ ống tiêu hoá, đặc biệt là ruột non kèm theo các vết sắc tố ở da, niêm mạc miệng [32],[33].

+ Juvenile polyposis: Như hội chứng Peutz Jeghers, nhưng xảy ra ở thanh thiếu niên, polyp chủ yếu ở đại tràng, nguy cơ cao chuyển thành ung thư [34].

+ Cowden syndrome: Nhiều polyp ở toàn bộ đường tiêu hóa, nhưng không có nguy cơ chuyển thành ung thư [30],[32].

+ Hội chứng Gardner: Gồm đa polyp kèm theo các u bó sợi (desmoid tumor).

+ Hội chứng Turcot: Gồm đa polyp ở đại trực tràng và u thần kinh trung ương. Bệnh di truyền gen lặn trên nhiễm sắc thể thường [4].

+ Hội chứng Muir-Torre: Kèm theo polyp đại tràng còn có các khối u trên da [35],[36].

1.2. CHẨN ĐOÁN UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNG

1.2.1. Triệu chứng lâm sàng

- *Đau bụng*: Là một trong những triệu chứng sớm, hoàn cảnh xuất hiện cơn đau không theo một quy luật nào về cường độ, thời gian và không liên quan đến bữa ăn. Ung thư đại tràng phải thường đau âm ỉ, khu trú ở bên phải, khi đến muộn thường có triệu chứng bán tắc ruột. Ung thư đại tràng trái thường theo kiểu thâm nhiễm, xơ vòng khi phát triển làm cho đại tràng chít hẹp nên đau bụng thường quặn từng cơn có khi đau dữ dội, ung thư ở trực tràng hay có đau âm ỉ lan xuống hạ vị.

- *Rối loạn tiêu hoá*: Thường gặp táo bón hoặc ỉa lỏng hoặc xen kẽ giữa táo bón và ỉa lỏng. Táo bón thường gặp ở đại tràng trái nhiều hơn do ung thư

thường nhanh chóng làm hẹp lòng ruột cản trở lưu thông của phân, gây ứ đọng phân làm tăng quá trình thối rữa và lên men sinh nhiều hơi làm bụng chướng. Tăng bài tiết chất nhầy ở ruột làm ỉa lỏng đôi khi có máu, ỉa lỏng hay gặp khi có u ở đại tràng phải do tính chất giải phẫu của đại tràng phải tiếp cận ruột non phân ở đây còn lỏng. U ở trực tràng thường gây thay đổi thói quen đại tiện, gây hội chứng giả ly với mót rặn và đau sau hậu môn khi đi ngoài, phân có thể khuôn nhỏ, kiểu bút chì hay phân dẹt.

- *Đi ngoài ra máu:* Máu trong phân là do chảy máu từ khối ung thư, chảy máu ở đại tràng phải phân có màu đỏ sẫm, chảy máu ở đại tràng trái phân có màu đỏ hơn, máu thường lẫn một chút nhầy của niêm mạc ruột. Đôi với ung thư trực tràng đi ngoài ra máu là triệu chứng hay gặp nhất, triệu chứng chảy máu trực tràng rất đa dạng với phân toàn máu hoặc lẫn nhầy máu mũi, có thể xuất hiện từng đợt hoặc kéo dài làm bệnh nhân thiếu máu [20].

- *Triệu chứng toàn thân:* Thường BN thấy mệt mỏi, cảm giác chán ăn, sút cân. Nếu bệnh ở giai đoạn tiến triển có thể có dấu hiệu da xanh, thiếu máu hay sốt, di căn xa lên hạch thượng đòn trái.

- *Khám bụng:* Thường chỉ tìm thấy dấu hiệu khi ung thư đã ở giai đoạn tiến triển như di căn gan, cổ trướng hay dấu hiệu tắc ruột khi u gây chít hẹp hoàn toàn lòng trực tràng.

- *Thăm trực tràng:* Là khám lâm sàng quan trọng nhất để đánh giá tình trạng khối u trực tràng thấp. Các tiêu chuẩn cần được ghi nhận khi thăm trực tràng là: Cực dưới u cách rìa hậu môn bao nhiêu cm, kích thước u so với chu vi lòng trực tràng (chiếm 1/2 chu vi, 2/3 chu vi...), độ di động của u, tính chất u (loét sùi, dễ chảy máu, tổ chức mủn hoại tử), tương lực của cơ thắt hậu môn. Ung thư trực tràng trung bình và cao thường khó sờ thấy khối u.

1.2.2. Cận lâm sàng

1.2.2.1. Nội soi

Lịch sử phát triển của nội soi

- Năm 1898: Quenu thực hiện nội soi trực tràng ở Đức.
- Năm 1919: Raoul Bensaude công bố giá trị của soi trực tràng trong điều trị.
- Năm 1946: Ống soi cứng ra đời.
- Năm 1953: Desormaux (Pháp) cải tiến ống soi dài thêm tới 25cm với ánh sáng lạnh.
- Năm 1957: Mutsugana (Nhật) sử dụng ống soi mềm để thăm khám ĐTT.
- Năm 1966: Overholt thực hiện soi đại tràng ống mềm vật kính ở Mỹ.
- Từ những năm 80, máy soi mềm có gắn camera, được gọi là máy nội soi truyền hình điện tử (Video - Endoscopy - Electronic: VEE) ra đời thay thế ống soi mềm vật kính đã lạc hậu, nó cho phép đánh giá tổn thương rõ ràng, khách quan hơn, có thể nhiều người cùng đánh giá, lưu lại được hình ảnh.

Cho tới nay nội soi đóng một vai trò quan trọng trong sàng lọc cũng như chẩn đoán ung thư đại trực tràng, góp phần làm giảm tỉ lệ mắc, tỉ lệ tử vong trong ung thư đại trực tràng, những tiến bộ về máy soi, bộ phận phụ soi, kỹ thuật soi đã giúp cho chẩn đoán ung thư ngày càng hoàn thiện. Trong lĩnh vực điều trị, nội soi cho phép thực hiện được một số can thiệp như cắt polyp.

Các kỹ thuật nội soi

❖ *Nội soi trực tràng ống cứng*

Nội soi trực tràng ống cứng là phương pháp tương đối đơn giản nhưng rất quan trọng trong chẩn đoán ung thư tràng, sử dụng một ống soi cứng dài 15 cm, 25 cm và 30 cm cho phép phát hiện rõ các tổn thương của trực tràng và một phần đại tràng sigma đặc biệt các tổn thương ở vị trí nối giữa trực tràng cao và đại tràng sigma. Qua soi tiến hành sinh thiết được tổn thương để

chẩn đoán mô bệnh học, hướng dẫn vị trí sinh thiết đúng vùng nghi ngờ, thực hiện thủ thuật cắt đốt polyp, đặt đầu dò siêu âm nội trực tràng. Kỹ thuật nội soi ống cứng đơn giản, rẻ tiền, dễ thực hiện, có giá trị chẩn đoán cao.

❖ *Soi khung đại tràng ống mềm*

Hiện nay có 2 loại máy soi trực tiếp và soi có màn hình qua đầu dò có gắn camera, cả 2 loại máy soi có cùng đặc tính về kính, kích thước máy, cách vận hành. Tuy nhiên máy soi có camera ưu việt hơn, thuận tiện cho thầy thuốc, cho phép chẩn đoán được chính xác hơn, khách quan hơn vì máy có độ phân giải hình ảnh cao hơn, có khả năng phóng đại rõ hơn, cho phép nhiều người cùng tham gia đánh giá tổn thương, có khả năng lưu trữ và chụp lại ảnh. Đặc biệt gần đây hệ thống nội soi NBI (Narrow Band Imaging) đã mang lại hình ảnh rõ nét về cấu trúc mạch máu bề mặt tổn thương, phát hiện những tổn thương nhỏ mà nội soi thông thường khó phát hiện ra. Hệ thống này cho phép nhuộm màu tổn thương bằng ánh sáng xanh mà không cần dùng thuốc nhuộm, thuận lợi và rút ngắn thời gian làm thủ thuật.

Soi đại tràng ống mềm có thể quan sát tổn thương trên bề mặt niêm mạc, đồng thời có thể sinh thiết chẩn đoán, hoặc điều trị cắt polyp trong khi soi, ngoài ra nó có thể soi sâu hơn so với ống soi đại tràng sigma, ống soi đại tràng có thể soi tới manh tràng.

Tai biến: Chảy máu, thủng đại tràng là 2 tai biến hay gặp nhất.

Độ nhạy của soi đại tràng phụ thuộc vào kinh nghiệm của người soi, tỉ lệ phát hiện khối u cao hơn nếu thời gian soi trung bình trên 6 phút, tỉ lệ bỏ sót tổn thương phụ thuộc vào kích thước khối u, nếu khối u > 10 mm, tỉ lệ sót tổn thương 2%; nếu khối u 5-10 mm, tỉ lệ sót tổn thương 13%; nếu khối u < 5 mm tỉ lệ sót tổn thương 25%. Hình ảnh tổn thương qua nội soi đại trực tràng:

- Niêm mạc bình thường: Trơn nhẵn, màu hồng bóng.
- Niêm mạc bạc màu, niêm mạc xung huyết.

- Niêm mạc xuất huyết lâm tẩm.
- Chất nhày phủ trên nền niêm mạc bình thường hoặc có biến đổi.
- Vết trợt niêm mạc, loét niêm mạc kèm chảy máu hoặc không chảy máu.
- Khối u nhiều dạng, kích thước, màu sắc, có thể kèm theo loét, xuất huyết.
- Polyp nhẵn, cùng màu với niêm mạc bình thường, kích thước khác nhau, có cuống hoặc không cuống, đơn hoặc đa polyp.
- Trĩ nội, trĩ ngoại, sa niêm mạc trực tràng, rò hậu môn, nứt hậu môn.
- Hình ảnh UTĐTT qua nội soi là thể sùi, loét, thâm nhiễm cứng. Các tổn thương này có thể xen lẫn nhau.
 - + Thể sùi: Khối u sùi vào lòng trực tràng, nhiều múi.
 - + Thể loét: Tổn thương là ổ loét đáy sâu hoại tử ở giữa, bờ gồ cao.
 - + Thể thâm nhiễm: Ít gặp, tổn thương thâm nhiễm cứng quanh chu vi, mất nhu động, thường gây chít hẹp lòng đại trực tràng [37],[38].

❖ *Nội soi capsule (capsule endoscopy)*

Đây là phương pháp thu nhận hình ảnh từ video camera nhỏ gắn vào 2 đầu của viên thuốc, được bệnh nhân nuốt vào, khi viên thuốc di chuyển theo nhu động ruột, nó sẽ cho ta hình ảnh của niêm mạc đại trực tràng. Phương pháp này có ưu điểm ít xâm nhập hơn so với soi đại tràng, nhưng đòi hỏi phải chuẩn bị kỹ hơn, thời gian soi nhiều hơn 45 phút (30 - 75 phút), nhược điểm không sinh thiết được tổn thương.

Một nghiên cứu trên 328 bệnh nhân nghi ngờ có bệnh ở đại tràng cho thấy độ nhạy và độ đặc hiệu đối với $u \geq 6$ mm là 64% và 84%. Nghiên cứu này cho thấy độ nhạy của phương pháp này thấp, khó áp dụng cho việc sàng lọc [39],[40].

❖ *Siêu âm nội soi (Endoscopic ultrasound)*

Đây là phương pháp chẩn đoán rất có giá trị trong ung thư trực tràng, tuy nhiên trong ung thư đại tràng nó ít được ứng dụng.

Nguyên lý cơ bản của phương pháp này là tiêu hình hóa (thu nhỏ), chế tạo ra loại đầu dò thu nhỏ để có thể áp gần được các cơ quan thăm dò. Mặt khác, độ phân giải của siêu âm tăng tần số. Với tần số từ 5-7MHz, siêu âm nội trực tràng có khả năng phân tách rõ các lớp giải phẫu của trực tràng. Hình ảnh của ung thư trực tràng qua siêu âm nội soi thường là một khối u hoặc một đám giảm âm, đôi khi đồng âm, phá vỡ cấu trúc bình thường của thành trực tràng hoặc xâm lấn tùy theo giai đoạn. Ngày nay phương pháp này được ứng dụng rộng rãi ở nước ta cho phép đánh giá mức độ xâm lấn u, tổ chức xung quanh cho độ nhạy, độ đặc hiệu cao. Đánh giá được tình trạng hạch quanh trực tràng có đường kính trên 5 mm với độ nhạy 92%, độ đặc hiệu 87,2% và độ chính xác 98,5%. Đặc biệt siêu âm nội soi còn được ứng dụng trong sinh thiết kim dưới hướng dẫn của siêu âm, cho các khối u dưới niêm mạc, hoặc ngoài ĐTT [41].

1.2.2.2. Chẩn đoán hình ảnh

Chụp X quang bụng không chuẩn bị

Được chỉ định trong cấp cứu để chẩn đoán tắc ruột hoặc thủng u. Hình ảnh tắc ruột sẽ thể hiện qua các hình mức nước, mức hơi, hoặc khi có thủng ruột thì trên phim sẽ mờ toàn bộ ổ bụng, có hình ảnh liềm hơi dưới hoành.

Chụp khung đại tràng đối quang kép (Double-contrast barium enema)

Chụp khung đại tràng đối quang kép (Double-contrast barium enema) là một trong những phương pháp quan trọng để chẩn đoán ung thư đại tràng. Do ung thư đại tràng được chẩn đoán chủ yếu bằng lâm sàng và nội soi nên phương pháp chụp X quang ít được ứng dụng, chỉ được thực hiện trong một số trường hợp ung thư thể thâm nhiễm gây chít hẹp, phương pháp chẩn đoán nội soi thất bại. Phương pháp chụp đối quang kép sẽ cho hình ảnh tốt hơn, cho phép phát hiện được những ung thư sớm và những polyp nhỏ.

Chụp cắt lớp vi tính (Computer Tomography - CT)

Tất cả các bệnh nhân khi được chẩn đoán ung thư đại trực tràng đều được đánh giá trước mổ bằng chụp cắt lớp vi tính bụng và tiểu khung. Đây là những phương pháp hiện đại, cho phép có thể xác định khối u, mức xâm lấn của u, tình trạng di căn hạch vùng, di căn xa, các tạng ở trong ổ bụng, nguy cơ xảy ra các tai biến như thủng, tắc ruột.

CT scan có giá trị phát hiện di căn xa nhạy hơn so với di căn hạch tại vùng, hoặc mức độ xâm lấn của u qua các lớp của thành đại tràng. Độ nhạy trong phát hiện hạch vùng có giá trị cao hơn trong ung thư trực tràng so với đại tràng; CT cũng có giá trị trong chẩn đoán di căn phúc mạc, nếu tổn thương <0,5 cm độ nhạy 11%, tổn thương 0,5-5 cm, độ nhạy 37% [41].

Chụp cộng hưởng từ (Magnetic resonance imaging-MRI)

Chụp cộng hưởng từ (MRI) là phương pháp hiện đại cho kết quả tốt hơn chụp cắt lớp vi tính, đặc biệt trong việc đánh giá tình trạng di căn gan, giúp cho việc lựa chọn phương pháp điều trị thích hợp. Ngoài ra, MRI rất có giá trị trong chẩn đoán di căn hạch vùng trong ung thư trực tràng, qua đó giúp cho việc xác định phác đồ điều trị [41].

PET/CT (Positron Emission Tomography – Computed Tomography)

Phương pháp chẩn đoán hình ảnh, thăm dò chức năng cơ quan ở trạng thái chuyển hóa, do vậy nó có độ nhạy cao hơn so với các phương pháp chẩn đoán hình ảnh khác.

PET/CT Scan được ứng dụng trong chẩn đoán UTĐTT trong một số trường hợp như các tổn thương tại chỗ ẩn, bệnh nhân chỉ có chỉ số CEA tăng cao mà các phương pháp chẩn đoán hình ảnh khác không đạt kết quả, các tổn thương trong di căn phúc mạc. So sánh giá trị PET Scan với CT Scanner trong một nghiên cứu trên 105 bệnh nhân, cho thấy PET Scan có độ nhạy cao hơn (87% so với 66%); độ đặc hiệu cao hơn (68% so với 59%) [42].

Tuy nhiên, PET Scan là một phương pháp mới, nên giá thành còn rất cao, chỉ được chỉ định trong một số trường hợp đặc biệt gặp khó khăn trong chẩn đoán và nghi ngờ có tổn thương các vị trí khác trong cơ thể [42].

Chụp cắt lớp niêm mạc đại tràng (Computed tomographic colongraphy-CTC)

Đây là kỹ thuật sử dụng máy tính để dựng hình ảnh không gian 2-3 chiều niêm mạc đại tràng với các chất tăng cường hỗ trợ.

Chuẩn bị bệnh nhân: Yêu cầu làm sạch ruột kỹ càng như trong nội soi khung đại tràng, tuy nhiên bệnh nhân không phải dùng thuốc an thần, phải đặt đường truyền tĩnh mạch để sử dụng các thuốc giãn cơ khi cần, không khí hoặc dioxide carbon được bơm vào lòng đại tràng qua đường hậu môn.

Tuy nhiên, CTC chỉ là kỹ thuật dựng hình ảnh, cho nên khi có nghi ngờ cần sinh thiết, hoặc can thiệp cắt polyp, đòi hỏi phải chỉ định nội soi khung đại tràng, cần thiết phải giữ bệnh nhân lại tránh chuẩn bị làm sạch ruột lần 2.

Một nghiên cứu trên 2600 bệnh nhân, được sàng lọc cho kết quả, độ nhạy của CTC đạt 90% đối với các khối u trên > 10 mm, độ đặc hiệu đạt 86% tương tự như trong nội soi đại tràng. Ưu điểm của CTC là phương pháp chẩn đoán không can thiệp an toàn, có thể quan sát toàn bộ đại tràng, phát hiện các u tuyến lớn, ngoài ra nó có thể phát hiện các tổn thương ngoài đại tràng. Nhược điểm của CTC là khi có những tổn thương bất thường cần phải sinh thiết chẩn đoán, bỏ sót tổn thương nhỏ, các u tuyến phẳng và giá thành cao hơn [43],[44].

1.2.2.3. Xét nghiệm sinh hóa – huyết học

Xét nghiệm CEA:

CEA (Carcino–embryonic antigen) là kháng nguyên ung thư biểu mô phôi, một trong những chất chỉ điểm khối u chính của UTĐTT.

Những nghiên cứu xét nghiệm CEA trong huyết thanh người cho thấy nồng độ CEA huyết thanh 5ng/ml là giới hạn cao nhất ở người bình thường.

Hiện nay xét nghiệm CEA huyết thanh đã mang lại nhiều lợi ích trong chẩn đoán và điều trị UTĐTT, theo dõi tái phát, di căn sau điều trị.

1.2.2.4. Mô bệnh học ung thư đại trực tràng

Đại thể

Hình thể u bao gồm: Thể sùi (có cuống hoặc không có cuống), thể loét, thể loét sùi và thể thâm nhiễm. Thể loét sùi chiếm khoảng 2/3 các trường hợp. Thể thâm nhiễm ít gặp, thường gây chít hẹp lòng đại tràng. Mặc dù ung thư đại tràng có nhiều thể nhưng các tổn thương ung thư thường có những đặc tính:

- + Tổ chức u mủn, bờ
- + Đáy cứng.
- + Bờ không đều.
- + Dễ chảy máu khi tiếp xúc, đụng chạm.

Hầu hết các ung thư đại tràng đều bắt đầu phát triển dưới dạng một tổn thương dạng polyp. Những tổn thương này có thể phát triển vào trong lòng ruột hoặc vào bản thân thành ruột. Khối u phát triển vào trong lòng ruột gây tắc ruột hoặc hoại tử, loét và thủng.

- ❖ **Thể sùi:** Khối u lồi vào trong lòng đại tràng. Mặt u không đều, có thể chia thành thùy, múi. Màu sắc loang lổ, trắng lẫn đỏ tím. Mật độ mủn bờ, dễ rụng vỡ chảy máu.
- ❖ **Thể loét:** Khối u là một ổ loét tròn hoặc bầu dục, mặt u lõm sâu vào thành đại tràng, màu đỏ thẫm hoặc có giả mạc hoại tử, thành ổ loét dốc, nhẵn. Bờ ổ loét phát triển gồ lên, có thể sần sùi, mật độ đáy thường mủn, ranh giới u rõ ràng, toàn bộ khối u quan sát giống hình một “núi lửa”. Khối u thể loét gặp ở đại tràng trái nhiều hơn, u chủ yếu phát triển sâu vào các lớp thành ruột và theo chu vi ruột, xâm lấn các cơ quan khác, có tỉ lệ di căn hạch bạch huyết kèm theo cao hơn.

- ❖ **Khối u thể thâm nhiễm hay thể chai:** Tổn thương lan toả, không rõ ranh giới, mặt tổn thương hơi lõm, có những nốt sần nhỏ, lớp niêm mạc bạc màu, mất bóng. Khi mổ thường thấy thành đại tràng chắc, cứng đỏ, thanh mạc sần. Khối u dạng này thường phát triển nhanh theo chiều dọc, chiều dày lẫn theo chu vi, nhiều khi u phát triển làm ruột cứng tròn như một đoạn ống.
- ❖ **U thể chít hẹp, nghẹt:** Thường ở đại tràng trái, nhất là đại tràng sigma, u nhỏ, mặt u thường giống thể loét, phát triển toàn chu vi làm nghẹt khẩu kính đại tràng, gây tắc ruột. Đoạn ruột hai phía u phình ra tạo tổn thương như vành khăn (napkin - ring) bó chặt, u thường gây di căn hạch sớm.
- ❖ **U thể dưới niêm:** U đội niêm mạc đại trực tràng phồng lên, niêm mạc phía trên bình thường. Vi thể thường là sarcoma cơ trơn hoặc u lympho ác tính, hay gặp ở manh tràng hoặc trực tràng.

Vi thể

Phân loại của WHO 2002 [45]

- Ung thư biểu mô tuyến
 - + Ung thư biểu mô tuyến thanh dịch
 - + Ung thư biểu mô chế nhầy
 - + Ung thư biểu mô tế bào nhẵn
 - + Ung thư biểu mô thể tửy
 - + Ung thư biểu mô thể vi nhú
- Ung thư biểu mô vảy
- Ung thư biểu mô tuyến vảy
- Ung thư biểu mô tế bào gai
- Ung thư biểu mô không biệt hóa.

Đặc điểm vi thể các loại ung thư theo typ mô học

Các tế bào ung thư là các tế bào bị biến dạng, sẫm màu hơn, kích thước thay đổi. Nhân tế bào tăng sắc, nhiều phân bào và có những phân bào bất thường. Nhiều hạt nhân, hạt không đều. Thay đổi hình thái, số lượng của nhiễm sắc thể. Bào tương ưa bazơ. Các tế bào ung thư xâm lấn màng đáy, mô đệm, xâm lấn vào thành đại tràng, lan tràn xâm lấn vào hạch bạch huyết, đôi khi vào mạch máu, thần kinh.

❖ ***Ung thư biểu mô tuyến (adenocarcinoma)***: Là thể mô bệnh học chủ yếu của ung thư đại trực tràng, chiếm khoảng 90 - 95% các thể bệnh [5],[45].

Ung thư biểu mô tuyến được tạo thành bởi các tế bào biểu mô dạng trụ hoặc dạng cột với sự sắp xếp thành ống tuyến ở các mức độ khác nhau tùy thuộc vào độ biệt hoá tế bào, nếu tế bào tạo thành cấu trúc ống tuyến từ mức cao đến mức thấp, thì tế bào biệt hóa cao hoặc trung bình, ngược lại nếu các tế bào không sắp xếp tạo thành ống tuyến thì tế bào biệt hóa kém hoặc không biệt hóa.

❖ ***Ung thư biểu mô nhày (mucinous carcinoma)***: Nhiều khối u có hoạt động chế nhày, chất nhày có thể ở trong tế bào hoặc bài tiết ra ngoài tế bào, khi chất nhày được tích lũy đủ lớn nó sẽ xuyên qua thành tế bào ra ngoài, làm cho kích thước khối u ngày càng to, nếu chất nhày chiếm >50% kích thước u, thì được phân loại là ung thư biểu mô chế nhày, ung thư biểu mô nhày chiếm 11%-17% tổng số ung thư đại trực tràng, khối u thường ở đại tràng sigma, hoặc trực tràng, có xu hướng phát hiện muộn, đáp ứng kém với điều trị hóa chất.

❖ ***Ung thư biểu mô tế bào nhẫn (signet ring cell carcinoma)***: Một số ung thư biểu mô không tạo ống tuyến, có hoạt động chế nhày, nhưng chất nhày chủ yếu đọng lại trong tế bào, đẩy nhân tế bào lệch về một phía tạo nên hình nhẫn. Khi khối u có $\geq 50\%$ tế bào như vậy thì được

xếp loại ung thư biểu mô tế bào nhân, chiếm 1-2% tổng số UTĐTT, đây là loại ác tính cao, khi phát hiện thường ở giai đoạn muộn.

- ❖ ***Ung thư biểu mô thể tủy (medullary carcinoma)***: Đây là loại mới nhất được đưa vào nhóm UTĐTT dạng biểu mô theo phân loại của WHO, là dạng đặc biệt không tạo ống tuyến, tế bào ưa eosin hình đa diện, đứng với nhau thành dải, dày đặc thâm nhập nhiều tế bào lympho, nó rất khó phân biệt với loại ung thư biểu mô không biệt hóa, ung thư biểu mô thể tủy có liên quan hội chứng MSI và hội chứng UTĐTT di truyền không đa polyp.
- ❖ ***Ung thư biểu mô tuyến răng cưa (serrated adenocarcinoma)***: Đây là một biến thể hiếm gặp, trong đó các mô ung thư được cấu trúc giống với các polyp răng cưa không cuống với các tuyến cấu trúc hình răng cưa có tế bào gồm cả phần chế nhày, phần mặt sàng, vùng xóp.
- ❖ ***Ung thư biểu mô tuyến thể mặt sàng (cribriform comedo-type adenocarcinoma)***: Thể này hiếm gặp là các cấu trúc tuyến lan rộng với những vùng trung tâm bị hoại tử và các nhân ngoại vi. Thể này có đặc điểm tương đồng với thể mặt sàng của ung thư vú.
- ❖ ***Ung thư biểu mô tuyến thể vi nhú (micropapillary adenocarcinoma)***: Thể hiếm gặp này cấu trúc gồm các nhóm tế bào nằm xen kẽ trong mô liên kết bắt chước hình phân nhánh mạch máu, thể này cũng hay gặp ở ung thư vú và ung thư bàng quang. Nhuộm hóa mô miễn dịch dương tính với MUC1.
- ❖ ***Ung thư biểu mô tuyến vảy (adenosquamous carcinoma)***: U có tế bào biệt hóa dạng vảy, được xếp loại ung thư biểu mô tuyến vảy.
- ❖ ***Ung thư biểu mô thể tế bào gai (spindle cell carcinoma)***: Thể này bao gồm các tế bào ung thư biểu mô có hai cực giống các tế bào của biểu mô liên kết, nhuộm hóa mô miễn dịch các marker CK dương tính.

❖ ***Ung thư biểu mô thể không biệt hóa (undifferentiated carcinoma):***

Một số thể biểu mô khác nhưng không có những đặc điểm mô học cũng như hóa mô miễn dịch điển hình cho các thể ở trên được xếp vào nhóm không biệt hóa [45],[46].

Độ biệt hóa tế bào

Phân loại độ biệt hoá tế bào của WHO 2010

Hiện nay, các nhà giải phẫu bệnh áp dụng phân loại độ biệt hóa tế bào theo các tiêu chuẩn của WHO 2010. Đối với thể giải phẫu bệnh là UTBT tuyến, độ mô học được phân ra:

- + Biệt hóa cao: > 95% tế bào biệt hoá.
- + Biệt hóa vừa: 50% - 95% tế bào biệt hoá.
- + Kém biệt hóa: 0 - 49% tế bào biệt hoá.

1.2.3. Chẩn đoán giai đoạn ung thư đại trực tràng

Chẩn đoán giai đoạn theo phân loại của TNM trong ung thư đại trực tràng AJCC 2010 [47]:

* *T: U nguyên phát.*

T_{is}: Ung thư tại chỗ, chưa phá vỡ màng đáy, khu trú ở niêm mạc

T₁: U xâm lấn lớp dưới niêm

T₂: U xâm lấn lớp cơ

T₃: Khối u xâm lấn qua lớp cơ tới sát thanh mạc

T_{4a}: U thâm nhiễm bề mặt thanh mạc

T_{4b}: U xâm lấn vào tổ chức xung quanh đại tràng

* *N: Hạch vùng.*

N₀: Chưa di căn hạch vùng

N₁: Di căn 1-3 hạch vùng

N_{1a}: Di căn 1 hạch vùng

N_{1b}: Di căn 2-3 hạch vùng

N_{1c}: Di căn nhân vệ tinh dưới thanh mạc, mạc treo ruột

N_2 : Di căn 4 hạch vùng trở lên

N_{2a} : Di căn 4-6 hạch vùng

N_{2b} : Di căn 7 hạch vùng trở lên

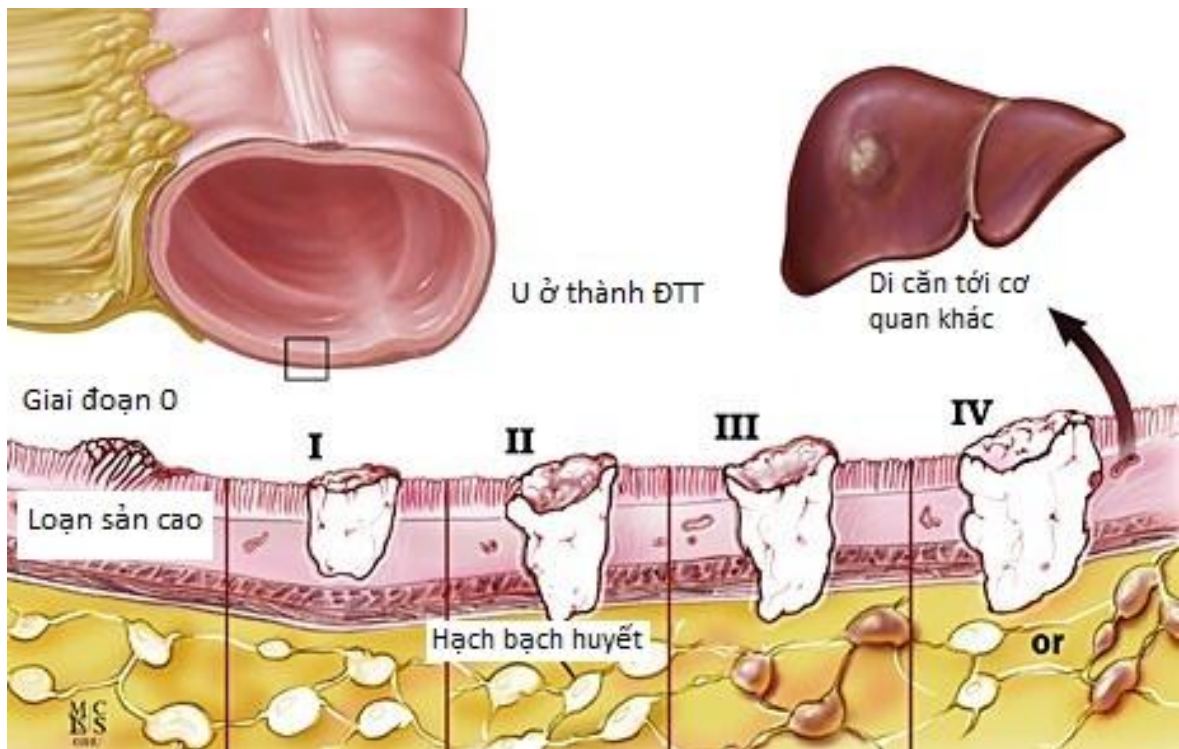
* M : Di căn xa.

M_0 : Chưa di căn

M_1 : Có di căn xa.

M_{1a} : Có di căn một cơ quan, vị trí, hạch xa.

M_{1b} : Có di căn nhiều cơ quan, phúc mạc.



Hình 1.1. Phân loại giai đoạn ung thư đại trực tràng [45]

1.3. ĐIỀU TRỊ UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNG

Lịch sử điều trị UTĐTT có từ hơn một thế kỷ nay, trải qua một chặng đường dài như vậy nên nhiều tiến bộ trong lĩnh vực UT học đã được áp dụng vào điều trị UTĐTT. Ngày nay, điều trị UTĐTT là điều trị đa mô thức: phẫu thuật, xạ trị, hóa chất, sinh học... trong đó phẫu thuật có vai trò quan trọng.

1.3.1. Điều trị phẫu thuật ung thư đại tràng

1.3.1.1. Nguyên tắc phẫu thuật ung thư đại trực tràng

Phẫu thuật là phương pháp điều trị chủ yếu UTĐTT bao gồm phẫu thuật triệt căn cho những ung thư mô được, phẫu thuật tạm thời như làm hậu môn nhân tạo hoặc nối tắt cho những ung thư muộn, để chống tắc ruột, và trong một số trường hợp đặc biệt như ung thư tái phát tại chỗ, mô cắt tổ chức tái phát, ung thư có di căn đơn độc, mô cắt khối di căn. Phẫu thuật với mục đích dự phòng ung thư, áp dụng cho những thương tổn tiền ung thư như polyp.

Nguyên tắc chính trong phẫu thuật UTĐTT triệt căn là phẫu thuật rộng rãi đạt mục đích lấy bỏ triệt để khối ung thư, kể cả các khối di căn. Cắt bỏ triệt để khối ung thư phẫu thuật phải đảm bảo cắt đoạn đại tràng có u với khoảng cách an toàn trên, dưới u 5cm và các tổ chức bị xâm lấn, di căn. Cắt bỏ mạc treo chứa các mạch máu nuôi dưỡng đoạn ruột chứa u và các hệ thống, hạch bạch huyết tương ứng một cách rộng rãi. Lập lại lưu thông tiêu hoá, giảm thiểu các hậu quả tâm sinh lý cho người bệnh [21],[48].

1.3.1.2. Những phương pháp phẫu thuật cơ bản điều trị ung thư đại trực tràng

❖ *Phẫu thuật ung thư đại tràng*

- Phẫu thuật cắt đoạn đại tràng phải
- Phẫu thuật cắt đoạn đại tràng phải mở rộng
- Phẫu thuật cắt đoạn đại tràng ngang
- Phẫu thuật cắt đoạn đại tràng trái
- Phẫu thuật cắt đoạn đại tràng sigma-trực tràng
- Phẫu thuật cắt gần toàn bộ và toàn bộ đại tràng
- Phẫu thuật cắt toàn bộ đại tràng mở rộng
- Phẫu thuật tắc ruột
- Phẫu thuật cắt u tái phát tại chỗ

❖ *Phẫu thuật ung thư trực tràng*

- Phẫu thuật Miles (1908)
- Phẫu thuật Hartmann (1921)
- Phẫu thuật Babcock – Bacon (1932-1945)
- Phẫu thuật Park – Malafosse (1972-1987)
- Những phẫu thuật cắt u tại chỗ

Các phương pháp này có thể phẫu thuật nội soi hoặc mổ mở, hay mổ nội soi hỗ trợ, có thể sử dụng dụng cụ khâu nối máy và đảm bảo các yêu cầu của phẫu thuật triệt để ung thư [21],[48].

1.3.2. Xạ trị trong ung thư đại trực tràng

1.3.2.1. Chỉ định

Xạ trị được chỉ định trong các trường hợp ung thư trực tràng, giai đoạn T3 hoặc T4 và/hoặc di căn hạch [49],[50].

Xạ trị tiền phẫu được chỉ định cho các trường hợp u lớn, ít di động để làm giảm thể tích khối u và tăng mức độ di động, tạo thuận lợi cho phẫu thuật và làm tăng tỉ lệ bảo tồn cơ tròn trong ung thư trực tràng trung bình hoặc thấp. Theo dõi lâu dài của Tổ chức điều trị ung thư Châu Âu (EORTC) thấy rằng xạ trị trước mổ làm giảm tỉ lệ tái phát tại chỗ một cách có ý nghĩa [49],[50].

Xạ trị hậu phẫu được chỉ định cho các trường hợp khối u đã vượt qua thanh mạc và/hoặc di căn hạch trong ung thư trực tràng [49],[51].

1.3.2.2. Nguyên tắc xạ trị

- Trường chiếu xạ bao gồm: Khối u, với 2-5 cm rìa khối u, mặt trước xương cùng và hạch chậu trong.
- Xạ trị nhiều trường chiếu: Có thể sử dụng 3-4 trường chiếu
- Đối với các trường hợp đã được phẫu thuật cắt bỏ trực tràng qua đường bụng-tàng sinh môn (phẫu thuật Miles), trường chiếu phải bao gồm tầng sinh môn.

- Liệu xạ
 - + 45-50 Gy trong 25-28 buổi, chiếu cho toàn khung chậu
 - + Các trường hợp cắt bỏ được, xạ trị hậu phẫu 45 Gy, nâng liều vào diện u 6-10 Gy. Khối u nhỏ có thể xạ trị liều tối thiểu 45 Gy.
- Đối với các trường hợp không cắt bỏ được: Xạ trị liều cao trên 54 Gy.
- Hoá trị 5-FU đồng thời với xạ trị [48],[49],[51],[52].

1.3.3. Điều trị nội khoa ung thư đại trực tràng

1.3.3.1. Điều trị hoá chất hỗ trợ trong ung thư đại trực tràng

Hoá trị có vai trò trong điều trị hỗ trợ UTĐTT giai đoạn II nhóm nguy cơ cao và UT đã có di căn hạch cải thiện từ 2-8% tỉ lệ sống thêm toàn bộ 5 năm tùy theo giai đoạn bệnh. Một số phác đồ điều trị UTĐTT:

Phác đồ 2LV5FU: cho tới nay phác đồ 2LV5FU được coi là một phác đồ chủ yếu trong điều trị hỗ trợ UTĐTT [53],[54],[55],[56],[57], [73],[74].

❖ Fluoropyrimidine uống

Capecitabine:

So với phác đồ 5-FU/LV (Mayo clinic), kết quả thời gian sống thêm 3 năm không bệnh và toàn bộ so sánh giữa 2 nhóm lần lượt là (64% so với 61%, $p = 0,05$); (81% so với 78%, $p = 0,07$) [58]. Tuy nhiên tác dụng phụ của capecitabine nhẹ hơn so với 5-FU/LV, nhưng hội chứng tay chân của capecitabine nặng nề, thận trọng khi sử dụng capecitabine cho người già [52], [59].

❖ Phác đồ có oxaliplatin

Thử nghiệm MOSAIC (FOLFOX 4), thử nghiệm NSABP C-07 (FLOX) đều cho thấy vai trò của oxaliplatin trong điều trị hỗ trợ giúp cải thiện thời gian sống thêm không bệnh ở nhóm BN giai đoạn II, III đã được phẫu thuật triệt căn [60].

Hiện nay người ta vẫn ưu tiên lựa chọn phác đồ FOLFOX hơn FLOX, hơn thế nữa ở Mỹ nhiều nhà nội khoa ung thư còn sử dụng phác đồ FOLFOX

6 và 7 biến đổi để thay cho phác đồ FOLFOX 4 do tính tiện lợi, dễ sử dụng, ít độc tính hơn [61].

XELOX (CAPOX): phác đồ gồm oxaliplatin và capecitabine

Phác đồ XELOX được xem là một lựa chọn thay thế cho phác đồ FOLFOX, do dễ sử dụng nhưng độc tính nặng nề hơn [62].

1.3.3.2. Hóa trị trong ung thư đại trực tràng tái phát di căn

❖ Phác đồ hóa trị hai thuốc

Các phác đồ 2 thuốc có oxaliplatin hoặc irinotecan đã được chứng minh rõ ràng về hiệu quả trong cả điều trị bổ trợ và điều trị di căn [63],[64], [65].

Irinotecan cải thiện tỉ lệ đáp ứng, thời gian sống thêm bệnh không tiến triển và thời gian sống thêm toàn bộ so với các phác đồ không có irinotecan, và FDA đã phê duyệt FOLFIRI cùng với FOLFOX là phác đồ điều trị bước 1 trong UTĐTT di căn [65],[66].

❖ Phác đồ hóa trị 2 thuốc hoặc phác đồ hóa trị 3 thuốc

Thử nghiệm lâm sàng The Gruppo Oncologico Nord Ovest so sánh FOLFIRI và FOLFORINOX trong điều trị bước 1 cho UTĐTT di căn, Falcone A và CS ghi nhận FOLFORINOX cải thiện tỉ lệ đáp ứng 66% so với 41%, tăng tỉ lệ mổ được lên 15% so với 6% và cải thiện thời gian sống thêm bệnh không tiến triển (9,8 tháng so với 6,9 tháng) và thời gian sống thêm toàn bộ lên 22,6 so với 16,7 tháng ($p=0,032$), kết quả này được ủng hộ đặc biệt ở nhóm có đột biến BRAF [67]. Hai phác đồ có độc tính khác biệt không có ý nghĩa thống kê [63],[66]. Như vậy, phác đồ 3 thuốc cho hiệu quả tốt hơn phác đồ 2 thuốc truyền thống [66].

1.3.3.3. Vai trò của thuốc điều trị trúng đích trong ung thư đại trực tràng

❖ ***Bevacizumab***: là một kháng thể đơn dòng người gắn vào thụ thể yếu tố phát triển nội mô mạch máu (VEGF), qua đó nó ngăn chặn sự hình thành các mạch máu mới, do vậy bevacizumab ngăn cản sự phát triển của khối u. Bevacizumab đã được chứng minh có giá trị khi thêm vào các phác đồ 5-FU, LV, và irinotecan hoặc oxaliplatin trong UTĐTT giai đoạn muộn, cho kết quả cải thiện tỉ lệ đáp ứng cũng như thời gian sống thêm qua thử nghiệm NSABP C-08 [9],[12].

❖ ***Liệu pháp điều trị ức chế EGFR***

Trong những năm gần đây với sự thành công trong nghiên cứu của chuyên ngành sinh học phân tử đối với bệnh lý ung thư đã mở ra những phương pháp điều trị mang lại nhiều hy vọng cho người bệnh ung thư nói chung và UTĐTT nói riêng. Sự phát hiện ra EGFR và các con đường tín hiệu tế bào đã giúp cho các nhà khoa học làm sáng tỏ các cơ chế phát sinh và phát triển của tế bào ung thư. Những thành tựu khoa học này đã thúc đẩy quá trình tìm ra các loại thuốc chống ung thư mới. Có hai loại thuốc cetuximab (Erbix) và panitumumab (Vectibix) được cơ quan quản lý dược phẩm và thực phẩm Mỹ chấp nhận để điều trị cho người bệnh UTĐTT vào năm 2009 [39],[68].

Cetuximab là một kháng thể đơn dòng có thành phần một phần ở người và một phần ở chuột, nó gắn vào thụ thể yếu tố phát triển biểu mô (EGFR), qua đó ngăn chặn sự truyền thông tin vào trong tế bào cho sự sao chép của nhân tế bào, vì vậy tế bào không gián phân, và chết theo chương trình. Cetuximab (Erbix) được sử dụng lần đầu năm 2004 và được FDA chấp thuận 2009 [39]. Cetuximab được chứng minh có hiệu quả trong điều trị UTĐTT giai đoạn di căn, có gen KRAS wild-type [68].

Panitumumab là một kháng thể đơn dòng có nguồn gốc hoàn toàn từ người, đặc hiệu cho phần ngoài màng của thụ thể EGFR, được phê duyệt bởi

Cơ quan dược phẩm Châu Âu (EMA) tháng 12 năm 2007, Cơ quan y tế Canada năm 2008 và FDA năm 2009, chỉ định cho UTĐTT giai đoạn tiến triển, di căn không có đột biến gen KRAS [7].

Lợi ích của cetuximab hoặc panitumumab kết hợp với hoá trị giúp cải thiện tỉ lệ đáp ứng, thời gian sống thêm bệnh không tiến triển thời gian sống thêm toàn bộ. Đặc biệt đối với những bệnh nhân có gen KRAS wild type cho tỉ lệ đáp ứng cao hơn nhóm bệnh nhân có gen KRAS (17% so với 0%).

Sự không đáp ứng với các thuốc ức chế EGFR của những người bệnh UTĐTT có gen KRAS đột biến đã đặt ra cho thấy những vấn đề cần phải được nghiên cứu làm rõ [69].

Hiệu quả đáp ứng thuốc

Khi gen KRAS bị đột biến sẽ tạo ra những protein Ras mới có khả năng chống lại hoạt tính GTPase của GAPs. Protein Ras đột biến có thể gắn kết với GAP nhưng không thể thủy phân GTP đã tạo ra cho protein Ras đột biến duy trì được tình trạng hoạt hóa trong một thời gian dài. Protein Ras đột biến kích hoạt vĩnh viễn các con đường tín hiệu nằm xuôi dòng nó bất kể có sự hoạt hóa của thụ thể EGFR nào hay không. Đây chính là cơ sở giải thích cho việc liệu pháp trúng đích EGFR bị thất bại khi gen KRAS có đột biến bởi lúc này protein Ras không còn phụ thuộc vào sự hoạt hóa từ EGFR [7],[70].

1.4. GEN KRAS VÀ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC PHÂN TỬ UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNG

1.4.1. Đặc điểm sinh học phân tử

1.4.1.1. Gen sinh ung thư và gen ức chế sinh ung thư

Trong những năm gần đây những nghiên cứu về gen và ung thư đã có tiến bộ lớn mở ra một hướng chẩn đoán và điều trị mới đầy hứa hẹn.

Quá trình sinh bệnh ung thư liên quan chặt chẽ đến tổn thương 2 nhóm gen: Gen sinh ung thư (oncogens) và gen ức chế sinh ung thư (suppressor).

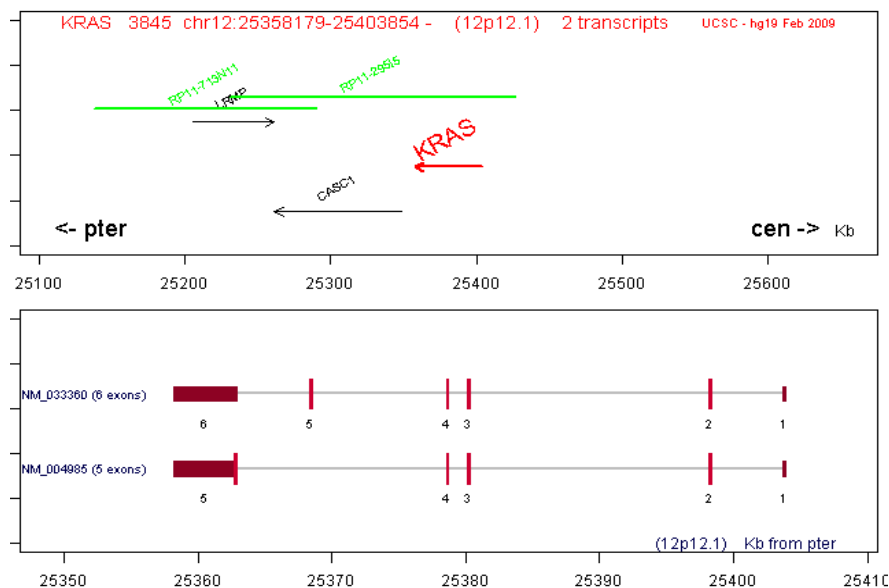
Hai loại gen này bình thường trong tế bào đóng vai trò quan trọng trong kiểm soát quá trình sinh sản tế bào, sự biệt hoá tế bào và quá trình chết theo chương trình của tế bào (apoptosis), nhằm giúp cho sự ổn định sinh học của cơ thể.

❖ **Gen sinh ung thư (oncogens)**

Gen RAS

Gia đình gen ras gồm 3 loại KRAS, N-RAS, H-RAS. RAS là một loại gen sinh ung thư nằm ở nhiễm sắc thể 12, 6, 1, nó mã hoá cho một loại protein G, có chức năng điều hòa đường truyền tín hiệu phân bào. Nhưng khi nó bị đột biến, nó mất khả năng kiểm soát sự phân bào, dẫn đến tế bào phân chia liên tục vô độ dẫn đến ung thư. Nhiều nghiên cứu cho thấy khoảng 50% các u tuyến kích thước hơn 1cm và những ung thư biểu mô sớm có đột biến gen ras khi xét nghiệm.

KRAS (Kirsten rat sarcoma 2 viral oncogen homolog) là một gen nằm trên nhánh ngắn của nhiễm sắc thể 12, với kích thước 46.148 cặp base, bắt đầu từ vị trí base thứ 25.357.723 đến vị trí base thứ 25.403.870. Gen KRAS cấu tạo gồm 6 exon, trong đó exon 2, 3, 4 chứa thông tin di truyền quy định đặc điểm của tế bào [71].



Hình 1.2. Mô hình cấu trúc gen KRAS [71]

Các đột biến gen liên quan đến tình trạng kháng thuốc nằm ở các codon 12, 13 trên exon 2. Dạng đột biến hay gặp nhất là đột biến thay thế G>A và đột biến chuyển cặp G>T. Đột biến gen KRAS hay gặp hơn ở những bệnh nhân có khối u đại trực tràng. Xuất hiện của đột biến tại codon 12, 13 trên exon 2 gây ra sự kháng với các thuốc điều trị trúng đích EGFR như panitumumab và cetuximab. Vì vậy các thuốc panitumumab và cetuximab chỉ được chỉ định khi gen KRAS không mang đột biến [68],[72],[73],[74].

❖ ***Gen ức chế sinh ung thư (suppressor):***

Gen APC (Adenomatous polyposis coli)

Đây là gen đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển sớm của ung thư đại trực tràng. Người ta tìm thấy có đột biến 80% gen APC ở các khối ung thư đại trực tràng. Gen APC là một gen ức chế sinh ung thư nằm trên nhánh dài của nhiễm sắc thể số 5 (5q21). Gen APC mã hoá một loại protein có chức năng làm kết dính giữa các tế bào, đột biến gen APC, gặp trong bệnh đa polyp đại trực tràng tính chất gia đình, trong các u tuyến và UTĐTT không di truyền.

Ngày nay, xét nghiệm di truyền tìm gen APC đột biến được chỉ định cho các thành viên trong gia đình của bệnh nhân đa polyp đại trực tràng mang tính chất gia đình để chẩn đoán sớm bệnh [70].

Gen P53

Gen P53 là gen ức chế sinh ung thư nằm ở nhánh ngắn của nhiễm sắc thể 17. Khi gen P53 hoạt động bình thường nó giữ sự phát triển tế bào trong giới hạn bao gồm hãm chu kỳ tế bào, tạo điều kiện cho việc sửa chữa DNA, chết theo chương trình, sự già của tế bào, sự biệt hóa tế bào...do vậy người ta coi gen P53 như một bảo vệ cho bộ gen phát triển bình thường. Các nghiên cứu cho thấy hầu hết UTĐTT giai đoạn di căn có đột biến gen P53, tỉ lệ đột biến gen P53 chiếm 70-75%. Sự bất hoạt của gen P53 là một yếu tố tiên lượng xấu của bệnh [75],[76],[77].

Gen DCC (deleted in colorectal cancer)

Gen DCC là một loại gen ức chế sinh ung thư nằm ở nhánh dài của nhiễm sắc thể 18, gặp phổ biến ở 73% ung thư đại trực tràng, 47% các u tuyến lớn ung thư hóa. Một số nghiên cứu cho thấy UTĐTT có tổn thương đột biến gen DCC có liên quan bệnh ở giai đoạn muộn, tiến triển, di căn xa tiên lượng xấu. Một nghiên cứu khác chỉ ra gen DCC có vai trò tiên lượng, các UTĐTT giai đoạn sớm giai đoạn II, nếu có mất gen DCC thì sẽ có hiệu quả nếu bệnh nhân được điều trị hóa chất hỗ trợ [78],[79],[80].

Gen SMAD4 và SMAD2

Đây là gen ức chế sinh ung thư nằm trên nhánh dài của nhiễm sắc thể 18. SMAD4 được tìm thấy 10-15% ung thư đại trực tràng, trong khi SMAD2 tìm thấy <5% ung thư đại trực tràng. Người ta đã thấy vai trò của 2 gen này trong UTĐTT khi nó bị bất hoạt [81],[82].

Gen sửa chữa ghép cặp ADN (mismatch repair gens - MMR)

Gen sửa chữa ghép cặp (MMR) có trách nhiệm sửa chữa các cặp nucleotide sai xảy ra trong quá trình sao chép ADN. Một số gen sửa chữa ghép cặp: hMSH₂ (human mutS homolog 2), hMLH₁ (human mutL homolog 1), hPMS1 và hPMS2 (human postmeiotic segregation 1 và 2), hMSH6 (human mutS homolog 6), hMLH3, đây là gen tương tác với gen MLH1 [30],[79],[80],[83].

Sự đột biến một trong các gen sửa chữa ghép cặp (MMR) xảy ra ở phần lớn anh em họ hàng những bệnh nhân UTĐTT di truyền không phải đa polyp (HNPCC), tuy nhiên nó cũng xảy ra ở 15% các trường hợp UTĐTT không di truyền [84].

Các tế bào có các gen sửa chữa ghép cặp bị đột biến trong bộ gen, sẽ liên tục được sao chép hàng chục đến hàng trăm lần, nó sẽ tạo ra một bộ gen mới được gọi là microsatellite instability (MSI), có 2 loại MSI: MSI thấp (MSI-L) và MSI cao (MSI-H). Phần lớn các bệnh nhân UTĐTT di

truyền không phải đa polyp có MSI cao, ngược lại UTĐTT không di truyền có MSI thấp.

1.4.1.2. Thụ thể phát triển biểu mô (EGFR)

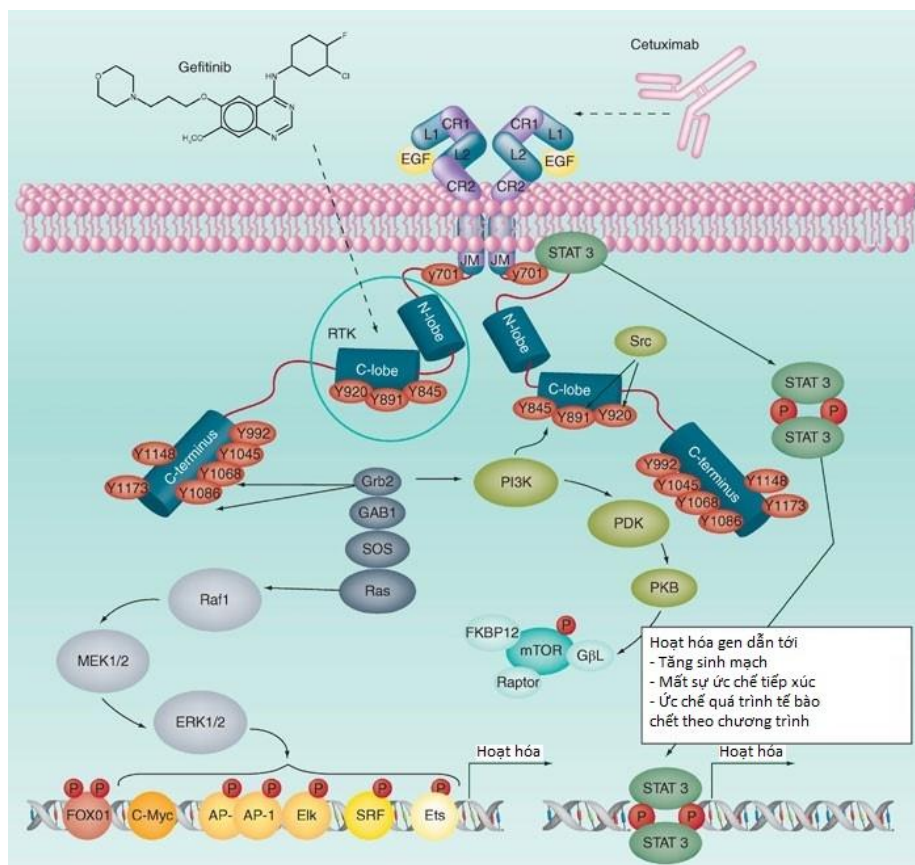
Yếu tố phát triển biểu mô EGF (epidermal growth factor) có ái lực cao với thụ thể yếu tố phát triển biểu mô (EGFR) trên bề mặt tế bào. Yếu tố này có khả năng kích hoạt tyrosine kinase nội bào của thụ thể. Tiếp theo các tyrosine kinase sẽ khởi động dòng thác tín hiệu để tác động lên nhiều quá trình hóa sinh trong tế bào như: Tăng nồng độ Ca^{++} nội bào, tăng cường quá trình đường phân và sinh tổng hợp protein, tăng cường quá trình biểu hiện một số gen kể cả gen mã hóa EGFR, thúc đẩy quá trình tái bản DNA và quá trình phân chia tế bào [84],[85].

Thụ thể yếu tố phát triển biểu mô là nhóm thụ thể mang hoạt tính tyrosine kinase được phát hiện vào năm 1978 bởi Carpenter và cộng sự. EGFR là một phân tử glycoprotein bề mặt màng, trọng lượng phân tử 170 kDa gồm một vùng gắn kết với các phối tử nằm ngoài màng tế bào, một vùng xuyên màng đặc hiệu và một vùng trong bào tương có vai trò kích thích sự tăng sinh, biệt hóa của tế bào. Khi các tín hiệu phân bào được tiếp nhận ở phần ngoài màng của EGFR, tín hiệu này được truyền vào phần bên trong màng tế bào của thụ thể. Khi phần bên trong tế bào này được hoạt hóa sẽ khởi động một dòng thác tín hiệu lan tỏa khắp tế bào gây kích hoạt: Con đường PI3K/AKT, sự tăng sinh mạch máu, di căn và ức chế quá trình chết theo chương trình (apoptosis), tín hiệu Ras/mitogen-activated protein kinase, và các con đường dẫn truyền tín hiệu phiên mã [72],[84],[85],[86].

1.4.1.3. Con đường tín hiệu xuôi dòng KRAS và BRAF

Gen KRAS (Kirsten rat sarcoma 2 viral oncogen homolog) và BRAF (Murine sarcoma viral (v-raf) oncogen homolog B1) mã hóa cho các protein KRAS và B-raf đóng vai trò truyền tín hiệu nội bào xuôi dòng từ EGFR (hình

1.3). Các protein này có hoạt tính serine/threonine với chức năng truyền tín hiệu nội bào xuôi dòng từ các thụ thể bề mặt tế bào tới các mục tiêu nội bào thông qua các dòng thác tín hiệu (bao gồm con đường RAS-MAPK). Trong tế bào protein Ras được giữ cân bằng thông qua sự hình thành hai phức hợp tương ứng với các trạng thái hoạt hóa và ức chế của protein Ras: Phức hợp Ras-GTP (protein Ras được hoạt hóa) và phức hợp Ras-GDP (protein Ras bị bất hoạt). Protein Ras được hoạt hóa nhờ yếu tố chuyển nucleotide guanine (guanine nucleotide exchange factors – GEFs). Việc truyền tín hiệu của protein Ras bị ức chế khi phức hợp Ras-GTP bị thủy phân thành phức hợp thành Ras-GDP nhờ một loại protein có chức năng hoạt hóa GTPase (GAPs). Trong điều kiện sinh lý bình thường, nồng độ Ras-GTP trong cơ thể được kiểm soát chặt chẽ nhờ sự hoạt động nhịp nhàng của 2 yếu tố GEFs và GAPs [68],[70],[72],[73],[87].

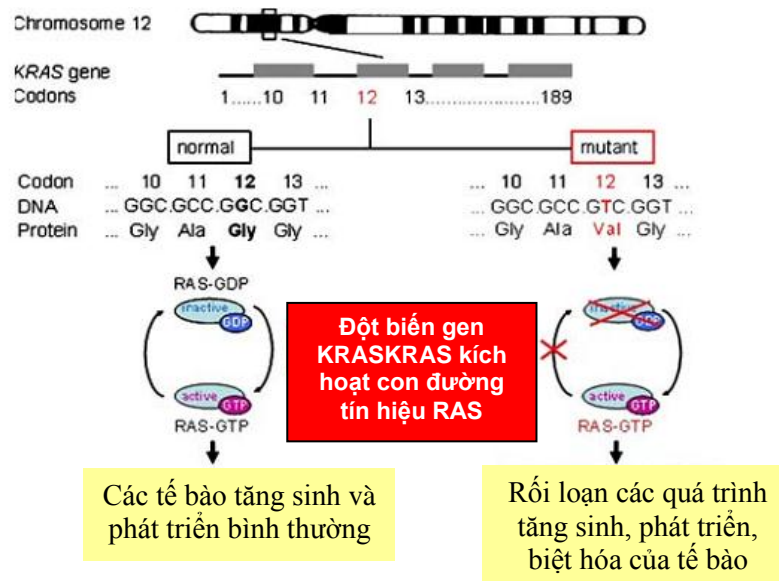


Hình 1.3. Các con đường truyền tín hiệu nội bào khởi nguồn từ EGFR [73]

ĐƯỜNG TÍN HIỆU KRAS và BRAF

Theo thống kê, tỉ lệ đột biến gen KRAS gặp ở khoảng 37% các trường hợp ung thư đại tràng. Cho đến nay có hơn 3000 đột biến điểm gen đã được báo cáo, trong đó đột biến hay gặp nhất là đột biến thay thế nucleotide ở codon 12 (chiếm 82%) và codon 13 (chiếm 17%) ở exon 2 trên gen KRAS. Đột biến tại codon 12 và 13 đã được chứng minh đóng một vai trò quan trọng trong quá trình tiến triển ung thư và nguy cơ kháng thuốc ức chế EGFR của khối u [84],[88],[89]. Đột biến tại các vị trí khác như tại codon 61 và 146 cũng đã được báo cáo nhưng thường chiếm tỉ lệ nhỏ và ảnh hưởng của những dạng đột biến này trên lâm sàng chưa được làm sáng tỏ.

Đối với gen BRAF có hơn 30 loại đột biến khác nhau được mô tả. Khoảng 3,5% đột biến gen BRAF được phát hiện trên những người bệnh UTĐTT. Phần lớn đột biến xảy ra trên codon 600 (V600E) chuyển axit amin Glucine thành Valin với tỉ lệ hơn 90%. Đột biến này gia tăng hoạt tính kinase đến MEK thúc đẩy phân chia tế bào và tăng khả năng kháng thuốc ức chế EGFR của tế bào ung thư. Ngoài ra một số đột biến khác cũng được tìm thấy như: R461I, I462S, G463E, G463V, G465A, G465E, G465V, G468E, N580S, E585K, D593V, F594L, G595R, L596V, T598I, V599D, V599R, V599E, V599K, K600E, A727V... Tuy nhiên những đột biến có tần suất xảy ra rất thấp và vai trò của chúng đối với sự kháng thuốc ức chế EGFR cũng chưa rõ ràng [90].



Hình 1.4. Vai trò của đột biến KRAS trong việc hoạt hóa gây ung thư các con đường truyền tín hiệu nội bào [91]

1.4.2. Các kỹ thuật xác định đột biến gen KRAS

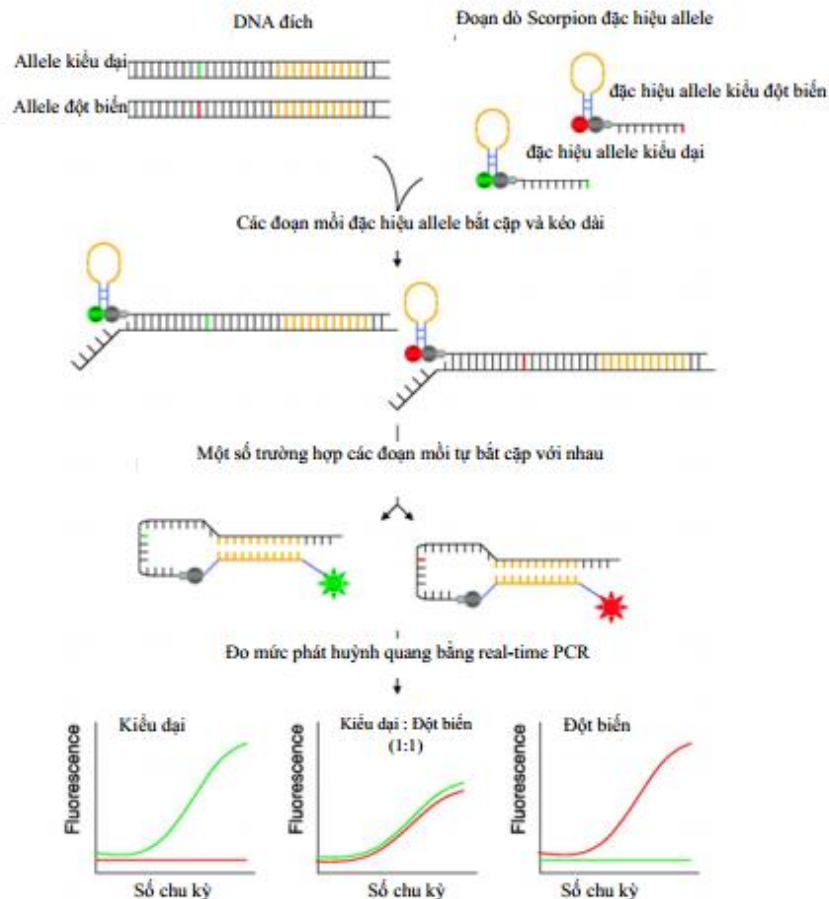
1.4.2.1. Kỹ thuật Scorpion ARMS (Scorpions – Amplification refractory mutation system)

Kỹ thuật Scorpion ARMS: Là sự kết hợp của kỹ thuật khuếch đại đặc hiệu alen đột biến ARMS (hệ thống khuếch đại đột biến – Amplification refractory mutation system) và công nghệ Scorpion cho sự phát hiện các đột biến bằng real-time PCR [92].

– Nguyên lý:

- + Kỹ thuật ARMS (amplification refractory mutation system): dựa trên đặc tính của Taq DNA polymerase chỉ khuếch đại hoàn chỉnh một phân tử DNA khi đầu 3' của mỗi sợi khuôn bổ sung hoàn toàn với nhau. Khi đầu 3' của mỗi sợi không bổ sung với sợi khuôn phản ứng PCR bị ức chế hoàn toàn. Bởi vậy kỹ thuật này cho phép khuếch đại đặc hiệu một trình tự đột biến ngay cả trong trường hợp alen đột biến đó chiếm một tỉ lệ rất nhỏ (1%) trong tổng số sợi khuôn DNA.

- + Kỹ thuật Scorpion: Scorpion là phân tử có cấu tạo một đầu mang trình tự của đoạn môi đặc hiệu với alen đột biến cần khuếch đại, đầu trình tự này được nối với một đầu dò. Phần kích thích phát tín hiệu huỳnh quang (fluorophore) của đầu dò được gắn với phần hấp thụ huỳnh quang (quencher) có nhiệm vụ dập tắt tín hiệu huỳnh quang của phần kích thích.
- + Trong phản ứng PCR khi đầu dò bám với đoạn trình tự khuếch đại, phần kích thích phát tín hiệu huỳnh quang được giải phóng khỏi phần ức chế, phát tín hiệu đến bộ phận cảm biến của máy real – time PCR [92],[93].



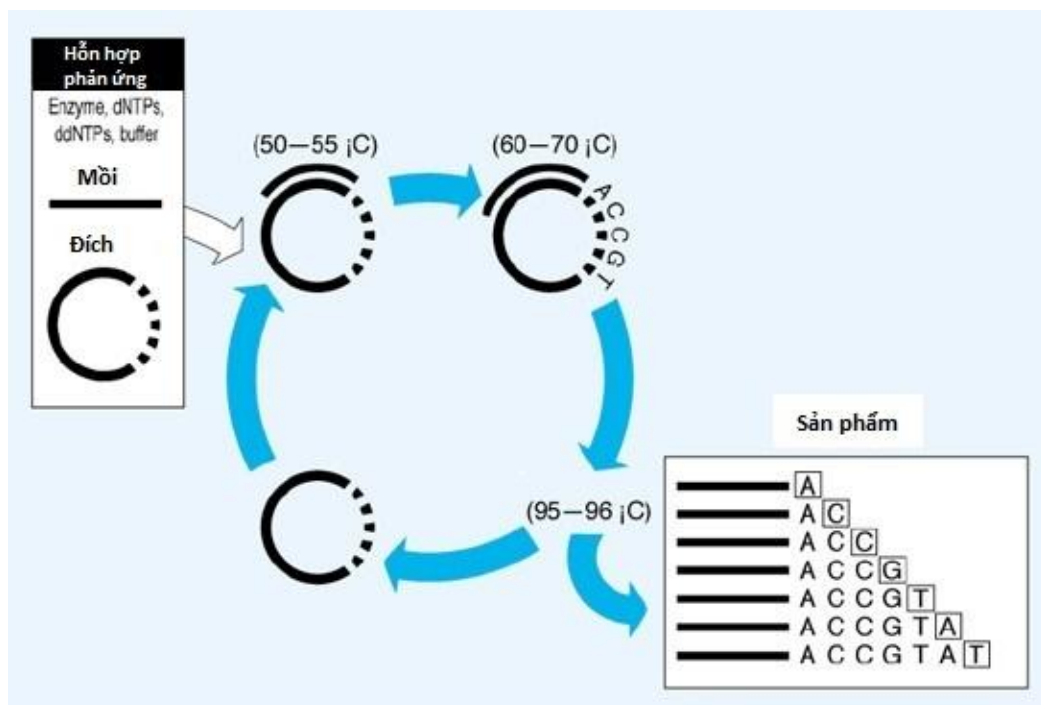
Hình 1.5. Nguyên tắc của kỹ thuật Scorpion ARMS

- Kỹ thuật này cho phép phát hiện được hầu hết các đột biến codon 12, 13 gen KRAS.

1.4.2.2. Phương pháp giải trình tự Sanger

Nguyên lý: Dựa trên các dideoxynucleotide. Enzyme DNA polymerase xúc tác gắn các deoxynucleotide trên mạch đơn DNA đang tổng hợp vào đầu 3'-OH, khi gặp dideoxynucleotide đánh dấu huỳnh quang không có nhóm 3'-OH phản ứng tổng hợp sẽ dừng lại. Nồng độ của mỗi dideoxynucleotide được xác định thận trọng để đảm bảo sự gắn hỗn hợp các chuỗi đang tổng hợp tại mỗi vị trí có thể và không gắn ở vị trí đầu tiên của nucleotide bổ trợ của khuôn. Kết quả là hỗn hợp sản phẩm sau phản ứng bao gồm các polynucleotide có kích thước hơn kém nhau một nucleotide. Sau đó, trình tự trên các dideoxynucleotid sẽ đưa đến đó, trình tự trên các dideoxynucleotid sẽ đưa enzyme DNA polymerase xúc tác gắn các deoxynucleotide trên mạch đơn DNA đang tổng hợp vào đầu 3'-OH [94].

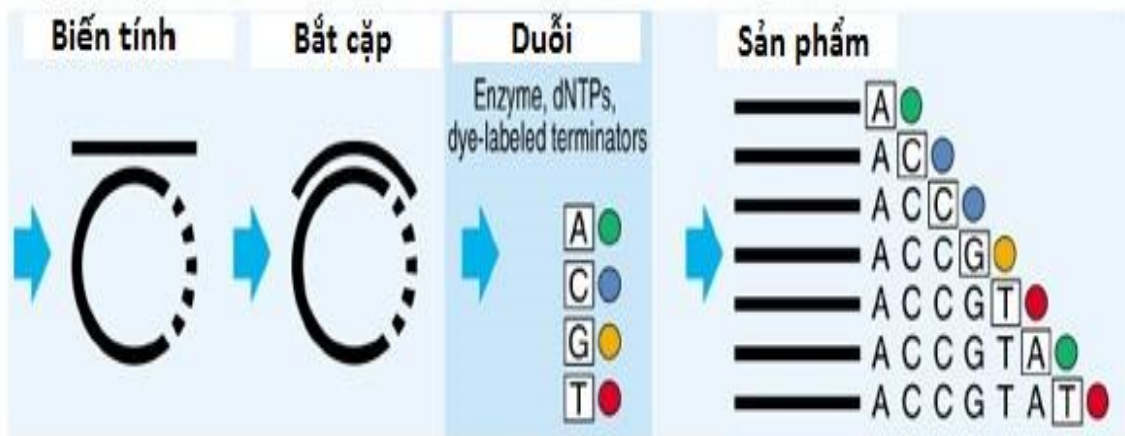
- Quy trình sequencing:



Hình 1.6. Chu trình sequencing

Các sản phẩm sau khuếch đại sau đó được chuyển sang ống điện di mao quản để nhận biết.

Dye Terminators: Dùng 4 màu huỳnh quang khác nhau để đánh dấu 4 loại ddNTP nhờ vậy phản ứng giải trình tự được thực hiện chỉ trong 1 ống nghiệm và khi giải trình tự chỉ cần điện di trên một hàng. Đây là dye được dùng phổ biến nhất cho các máy giải trình tự hiện nay như ABI PRISM 3730x1, ABI3500.



Hình 1.7. Chu trình sequencing sử dụng Dye Terminators [94]

1.4.2.3. Phương pháp pyrosequencing

- Kỹ thuật pyrosequencing được dựa trên nguyên tắc "giải trình tự chuỗi nucleotide bằng sự tổng hợp" (sequencing by synthesis).

- Nguyên lý: Kỹ thuật này phù hợp để phân tích trình tự DNA kích thước đến 200 bp, dựa vào việc đo các tín hiệu ánh sáng phát quang sinh học (bioluminescence) được tạo ra bởi sự giải phóng pyrophosphate (PPi) trong quá trình tổng hợp DNA theo một mẫu trình tự với sự tham gia của: 1. deoxyribonucleotide triphosphate (dNTPs), 2. primer, 3. sử dụng 4 enzyme đặc hiệu DNA polymerase I, ATP sulfurylase, luciferase, apyrase và các cơ chất như adenosine 5' phosphosulfate (APS), D-luciferin [95].

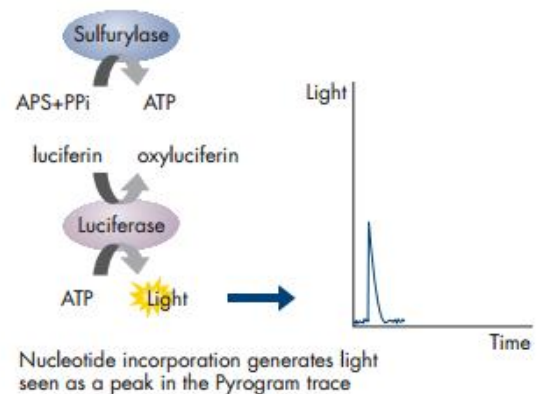
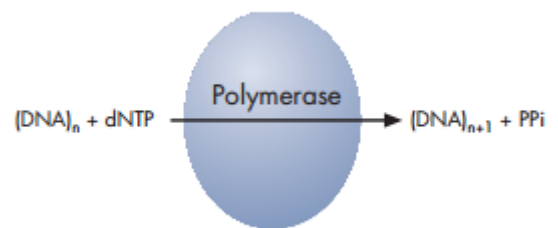
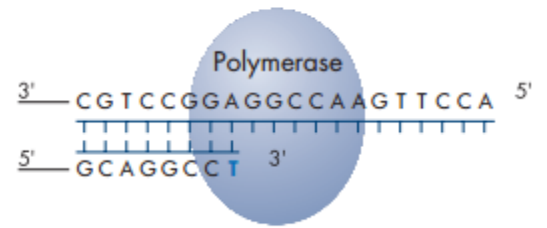
- Chu trình của Pyrosequencing [95].

Bước 1: Mỗi trình tự primer được bắt cặp vào sợi đơn của đoạn DNA đích và được ủ với 4 enzyme đặc hiệu DNA polymerase I, ATP sulfurylase, luciferase, apyrase và các cơ chất như adenosine 5' phosphosulfate (APS), D-luciferin.

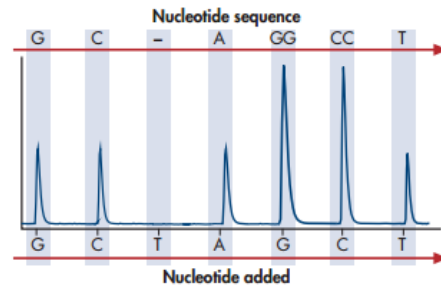
Bước 2: Một deoxribonucleotide triphosphate (dNTP) đầu tiên được thêm vào phản ứng. DNA polymerase sẽ xúc tác sự kết hợp của các dNTP vào sợi đơn của DNA khuôn. Nếu Dntp bổ sung với mạch khuôn thì một pyrophosphate (PPi) được giải phóng.

Bước 3: ATP sulfurylase sẽ chuyển PPi thành ATP nhờ sự xúc tác của adenosine 5' phosphosulfate (APS). ATP sẽ là cơ chất cho luciferase hoạt động xúc tác cho phản ứng chuyển hóa luciferin thành oxyluciferin phát thành ánh sáng và được ghi nhận bằng camera. Cường độ sáng tỉ lệ với số lượng phân tử ATP được tạo thành.

Bước 4: Apyrase, một nucleotide-degrading enzyme, liên tục phân hủy nucleotides và ATP không bổ sung. Sau đó nucleotide mới được thêm vào.



Bước 5: Các dNTPs được thêm vào tuần tự, quá trình cứ tiếp tục tạo ra các sợi DNA bổ sung và được xác định bằng các peaks trong Pyrogram.



1.4.3. Tình hình nghiên cứu gen KRAS trong nước và trên thế giới

1.4.3.1. Tình hình nghiên cứu về gen KRAS trên thế giới

Đột biến gen KRAS chiếm tỉ lệ từ 30 đến 45%, đột biến gen KRAS làm tăng phát triển tế bào và ức chế chết theo chương trình [96]. Shuji Ogino và cộng sự công bố tỉ lệ đột biến gen KRAS là 35% [97], trong khi Li W và Tejpar ghi nhận tỉ lệ 36,6% và 39% [16],[98]. Moris V.K ghi nhận tại Trung tâm ung thư MD Anderson tỉ lệ đột biến codon 12/13 gen KRAS đạt tỉ lệ 48% [99].

Gen KRAS dự báo khả năng kháng lại điều trị nhắm trúng đích EGFR. Đột biến EGFR thường gặp đột biến tại exon 2 codon 12 và 13 [97]. Các dạng đột biến hay gặp là có 6 loại đột biến thay thế cặp nucleotide ở codon 12 G12D (35G>A), G12V (35G>T), G12C (34G>T), G12A (35G>C), G12S (34G>A), G12R (34G>C) và 1 đột biến thay thế cặp nucleotide ở codon 13 G13D (38G>A) [17].

Trong nghiên cứu của Feng Q và cộng sự nghiên cứu trên khoảng 300 bệnh nhân, chia làm nhiều nhóm, không có di căn (96 bệnh nhân), di căn 1 đơn ổ (92 bệnh nhân) và di căn đa ổ (93 bệnh nhân). Tỉ lệ đột biến KRAS ở nhóm không di căn là 29,2%, di căn 1 vị trí là 46,8% và di căn nhiều vị trí là 47,3%. Tỉ lệ đột biến codon 12 lần lượt là: 25%; 39,1% và 24,7%. Tỉ lệ đột biến KRAS codon 13 là 4,2%; 7,6% và 22,6%. Tỉ lệ đột biến KRAS hay gặp ở nam hơn ở nữ với OR = 1,9 (nhóm chưa di căn), OR=1,6 (nhóm di căn 1 vị trí) sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,032$ và $0,024$, tuy nhiên nhóm di căn nhiều vị trí thì không có sự khác biệt về phân bố theo giới, với $p = 0,5$ [17].

Về tuổi, có sự khác biệt giữa nhóm tuổi ≥ 70 , tuổi cao nếu mắc UTĐTT thì nguy cơ bị đột biến gen KRAS thấp hơn, $p = 0,026$. Tuy nhiên không có sự khác biệt so phân bố theo tuổi ở nhóm tuổi thấp hơn [17].

Về vị trí khối u, theo Feng Q, khi so sánh ung thư đại tràng phải và trái và trực tràng cho thấy có sự khác biệt về vị trí khối u ở đại tràng phải so với trực tràng với $p = 0,036$, tuy nhiên không có sự khác biệt so với nhóm khác [17].

Về giai đoạn khối u, Feng cũng nhận thấy, khối u T4 cũng cho tỉ lệ đột biến cao hơn nhóm còn lại với $OR=1,87$ và $1,7$ [17].

Di căn hạch N2 cũng dự báo tăng tỉ lệ đột biến KRAS với $OR = 3,375$ và $p = 0,001$. Không có sự khác biệt đối với các độ biệt hoá khác nhau.

Khi nghiên cứu thời gian sống thêm và biểu hiện đột biến gen KRAS, không có sự khác biệt về thời gian sống thêm giữa nhóm có đột biến gen KRAS và không có đột biến gen KRAS [17].

Wenbin Li và CS xét nghiệm đột biến gen KRAS trên mẫu khối u cố định trong parafin của 762 bệnh nhân UTĐTT được điều trị tại khoa giải phẫu bệnh Bệnh viện và Viện nghiên cứu Ung thư Bắc Kinh từ tháng 12 năm 2011 đến tháng 12 năm 2012, kết quả cho thấy tỉ lệ đột biến gen KRAS là 47,7% ở nam giới so với 37,1% ở nữ giới, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,004$. Vị trí của khối u cũng liên quan đến tình trạng đột biến gen, nếu khối u ở đại tràng gần (phải) thì tỉ lệ gặp đột biến sẽ cao hơn khối u ở bên đại tràng xa (trái). Đặc điểm mô bệnh học có liên quan đến tình trạng đột biến gen KRAS, ở nhóm biệt hoá chế nhầy cho thấy tỉ lệ có đột biến cao hơn là không đột biến gen với $p < 0,0001$. Tuy nhiên đối với độ biệt hoá lại không có sự khác biệt giữa hai nhóm này. Webin Li cũng khảo sát mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen so với giai đoạn TNM, cho thấy đột biến ở codon 12 hay gặp hơn ở nhóm bệnh nhân được chẩn đoán giai đoạn III-IV, đột biến codon 12 cũng hay gặp di căn hạch hơn, do đột biến codon 12 hay gặp ở giai đoạn

muộn nên đem lại tiên lượng xấu cho bệnh nhân. Tuy nhiên tình trạng đột biến codon 13 lại không liên quan đến giai đoạn bệnh [16].

Wenbin Li và CS đã cho thấy có mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS so với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của bệnh nhân, tuy nhiên cơ chế giải thích mối liên quan này chưa được làm rõ và cần tiếp tục nghiên cứu để làm sáng tỏ điều này [16].

Akman T và CS nghiên cứu 115 bệnh nhân UTĐTT cho thấy tỉ lệ đột biến gen KRAS chiếm tỉ lệ 38,3% (44/115 bệnh nhân), trong đó 88,7% bệnh nhân đột biến codon 12 và 11,3% đột biến codon 13 exon 2. Khi phân tích thời gian sống thêm toàn bộ ở từng nhóm (KRAS hoang dã hoặc KRAS đột biến), kết quả thời gian sống thêm trung bình lần lượt là 46,9 tháng ở nhóm KRAS hoang dã và 52,1 tháng, tuy nhiên không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Phân tích thời gian sống thêm không bệnh trung bình theo đặc điểm đột biến gen KRAS, kết quả ghi nhận, 18,3 tháng ở nhóm không có đột biến gen KRAS và 16,3 tháng ở nhóm có đột biến gen, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê [100].

Ogino S và cộng sự khảo sát tình trạng gen KRAS ở 508 trường hợp ung thư đại tràng giai đoạn III, ở 1.264 bệnh nhân được điều trị hoá trị hỗ trợ trong thử nghiệm lâm sàng CALGB 89803 từ năm 1999 đến 2001. Sử dụng kỹ thuật giải trình tự gen, đột biến gen KRAS được xác định ở 178 bệnh nhân, chiếm tỉ lệ 35%. So sánh thời gian sống thêm và tình trạng đột biến KRAS cho thấy kết quả thời gian sống thêm 5 năm toàn bộ, thời gian sống thêm 5 năm không bệnh hoặc bệnh không tái phát lần lượt là 75% so với 73%, 62% so với 63%, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với p lần lượt là 0,56 và 0,89%. Như vậy trong nghiên cứu này tình trạng đột biến gen KRAS không làm thay đổi tiên lượng của bệnh nhân điều trị hỗ trợ [97].

Teipar và cộng sự khảo sát tình trạng đột biến từng codon (codon 12, 13) của gen KRAS, đối tượng nghiên cứu là 1.378 bệnh nhân tham gia thử nghiệm lâm sàng CRYTAL và OPUS, 533 bệnh nhân có đột biến gen KRAS (39%) trong đó 83 bệnh nhân (16%) đột biến G13D, 125 bệnh nhân (23%) đột biến G12V, và 325 bệnh nhân (61%) bệnh nhân có đột biến codon 12 khác. Đột biến gen KRAS G13D, không những không làm giảm hiệu quả điều trị thuốc điều trị đích kháng EGFR mà còn làm tăng hiệu quả điều trị, thông qua tăng tỉ lệ đáp ứng một cách có ý nghĩa thống kê ($p=0,005$), thời gian sống thêm không bệnh cũng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p=0,046$. Khi áp dụng hoá trị kết hợp với cetuximab hoặc hoá trị đơn thuần cho 2 nhóm bệnh nhân có đột biến gen KRAS G13D hoặc là có các đột biến khác bao gồm cả G12V. Kết quả cho thấy đối với nhóm bệnh nhân có đột biến KRAS G13D, cetuximab tăng tỉ lệ đáp ứng lên 40,5% so với 22,0% ở nhóm hoá trị đơn thuần, tỉ suất chênh $OR = 3,38$, $p=0,042$, thời gian sống thêm không bệnh là 7,4 tháng so với 6,0 tháng, $HR=0,47$ tức là giảm 53% nguy cơ tái phát, với $p = 0,039$, tuy nhiên không có sự khác biệt về thời gian sống thêm toàn bộ, 15,4 tháng so với 14,7 tháng. Đối với nhóm có đột biến gen KRAS D13D không được điều trị cetuximab thì kết quả điều trị xấu hơn. Khi phân tích hiệu quả của cetuximab đối với các đột biến khác bao gồm cả G12V, cetuximab không đem lại lợi ích về sống thêm cũng như tỉ lệ đáp ứng. Có thể nói đột biến gen KRAS G13D dự báo kết quả điều trị bằng cetuximab là tương đương với nhóm không có đột biến [98].

Morris VK và cộng sự nghiên cứu tình trạng đột biến gen KRAS và NRAS của 484 bệnh nhân UTĐTT được điều trị tại trung tâm ung thư MD Anderson từ năm 2000 đến 2012. Khảo sát tình trạng đột biến KRAS codon 12/13 là 47,7%, đột biến KRAS 41/146 là 3,0%, đột biến NRAS là 4,1% và BRAF là 7,4%. Những bệnh nhân có di căn phổi thường gặp đột biến KRAS

codon 12/13 và một số thể đột biến KRAS không điển hình hơn là các khối u không có đột biến gen [99]. Nghiên cứu khảo sát một số đặc điểm bệnh học lâm sàng, kết quả điều trị với tình trạng đột biến gen cho thấy, có mối liên quan giữa các yếu tố này.

Khi phân tích tình trạng đột biến gen của nhóm ung thư biểu mô chế nhày, cho thấy tỉ lệ đột biến gen KRAS codon 12/13 và BRAF cao hơn nhóm chứng với $p < 0,001$. Tuy nhiên khi phân tích đặc điểm gen KRAS và gen BRAF ở bệnh nhân UTĐTT di căn đến phổi cho thấy tỉ lệ đột biến gen KRAS và BRAF hay gặp hơn trường hợp không đột biến [99].

Teipar S và cộng sự tổng hợp số liệu từ 2 thử nghiệm lâm sàng lớn CRYSTAL và FIRE-3 về bệnh nhân UTĐTT di căn, đi sâu phân tích đặc điểm đột biến gen KRAS và những đặc điểm vị trí u, có 299 bệnh nhân ung thư đại tràng trái và 71 bệnh nhân ung thư đại tràng phải. Đại tràng phải được xác định là đại tràng từ ruột thừa, manh tràng, đại tràng lên, đại tràng góc gan và đại tràng ngang, trong khi đại tràng trái được xác định là đại tràng từ góc lách, đại tràng xuống, đại tràng sigma và trực tràng. Gen KRAS tự nhiên ở đại tràng trái có tiên lượng tốt hơn đại tràng phải khi được chỉ định điều trị cetuximab, do đó đối với ung thư đại tràng phải nên cân nhắc điều trị bằng hoá trị kết hợp với bevacizumab. Cơ sở sâu hơn của vấn đề này có thể liên quan đến phân tích đa biến ung thư đại tràng phải liên quan nhiều đến các thể lâm sàng ung thư biểu mô chế nhày, đột biến gen BRAF [101].

1.4.3.2. Tình hình nghiên cứu ở Việt Nam

Theo Tạ Thành Văn và cộng sự (2011), trong xây dựng quy trình xác định đột biến gen KRAS, tiến hành nghiên cứu trên 10 mẫu mô UTĐTT thấy có 4/10 mẫu có đột biến gen KRAS [102].

Nguyễn Kiến Dụ và Tạ Thành Văn (2013) xác định tỉ lệ đột biến gen KRAS là 33,3%, trong đó các tỉ lệ đột biến tại codon 12 và 13 lần lượt là 20,8% và 12% [103].

Nghiên cứu của Lê Văn Thiệu và CS (2013) trên 79 bệnh nhân UTĐTT, tỉ lệ đột biến gen *KRAS* trong ung thư biểu mô đại trực tràng là 58,2%, trong đó tất cả đều là đột biến codon 12 [104]. Trong nghiên cứu này, tác giả còn ghi nhận, tỉ lệ bệnh nhân ung thư biểu mô đại trực tràng có đột biến gen *KRAS* ở nam giới chiếm 63% và nữ giới là 37% ($p > 0,05$).

Tỉ lệ đột biến gen *KRAS* ở bệnh nhân ung thư biểu mô đại trực tràng có tuổi ≤ 40 là 8,7% và ở tuổi > 40 là 91,3%. Tình trạng đột biến gen *KRAS* có liên quan đến một số yếu tố như: Kích thước khối u, tình trạng thiếu máu [104].

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

65 bệnh nhân UTĐTT được chẩn đoán dựa vào lâm sàng, nội soi và mô bệnh học qua nội soi sinh thiết, mô bệnh học sau mổ, được đánh giá tình trạng đột biến gen KRAS tại Bệnh viện K từ năm 2012 đến 2016.

2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân

- Bệnh nhân được chẩn đoán mô bệnh học là ung thư biểu mô của đại trực tràng.
- Được khai thác đầy đủ bệnh sử, tiền sử và các thông tin có liên quan theo mẫu bệnh án thống nhất.
- Được tiến hành nội soi và được mô tả chi tiết thương tổn qua phiếu nội soi nghiên cứu.
- Được tiến hành sinh thiết qua nội soi làm xét nghiệm mô bệnh học và có đầy đủ phiếu ghi nhận kết quả hoặc bệnh nhân có kết quả xét nghiệm mô bệnh học sau mổ.
- Được đánh giá tình trạng đột biến gen KRAS.
- Không giới hạn tuổi, giới, nghề nghiệp, địa dư cư trú.
- Bệnh nhân hợp tác nghiên cứu.

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân không có đầy đủ các tiêu chuẩn trên.
- Bệnh nhân không có hồ sơ nghiên cứu đầy đủ.

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu: Mô tả tiến cứu.

2.2.2. Cỡ mẫu

Cỡ mẫu được tính theo công thức.

$$n = Z_{1-\alpha/2}^2 x \frac{p(1-p)}{(p\varepsilon)^2}$$

n: Cỡ mẫu

$Z_{1-\alpha/2}$: 1,96

ε : 0,3

p: xác suất gặp đột biến gen KRAS trong UTĐTT là 0,477 [16]

Mẫu được coi là đủ lớn khi $n > 46$, chọn mẫu 65 bệnh nhân.

2.2.3. Thu thập thông tin

Các bệnh nhân đủ tiêu chuẩn lựa chọn được thu thập thông tin theo mẫu bệnh án nghiên cứu thống nhất. Thông tin được thu thập trực tiếp từ bệnh nhân hoặc khai thác từ bệnh án. Các thông tin được thu thập bao gồm:

- Thông tin hành chính, liên hệ
- Thông tin tiền sử, lý do vào viện, thời gian diễn biến bệnh
- Triệu chứng lâm sàng: Cơ năng, triệu chứng thực thể, triệu chứng toàn thân
- Triệu chứng cận lâm sàng
 - + Đặc điểm nội soi
 - + Đặc điểm chẩn đoán hình ảnh: Các kết quả xét nghiệm cận lâm sàng như siêu âm, chụp CT ổ bụng, chụp phổi nhằm đánh giá tình trạng chung ổ bụng và các vị trí di căn hoặc u, đánh giá giai đoạn bệnh trước mổ đều được ghi nhận vào mẫu bệnh án nghiên cứu.
 - + Xét nghiệm chỉ điểm khối u: Nồng độ CEA (ng/mL) huyết thanh được định lượng trước điều trị, tại thời điểm vào viện.
 - + Phương pháp điều trị: Phẫu thuật, hóa trị, xạ trị
- Khai thác thông tin giai đoạn bệnh
 - + Giai đoạn T: Đặc điểm khối u sau phẫu thuật được ghi nhận (kích thước, mức độ xâm lấn).

- + Giai đoạn N: Giai đoạn N được đánh giá tại thời điểm sau phẫu thuật, ghi nhận đầy đủ số lượng hạch di căn.
- + Giai đoạn di căn xa: Được xác định có di căn xa bằng giải phẫu bệnh hoặc các phương pháp chẩn đoán hình ảnh.
- + Kết quả mô bệnh học: Lấy kết quả mô bệnh học qua sinh thiết nội soi và/hoặc kết quả sau phẫu thuật.
- + Xác định tình trạng gen thông qua xét nghiệm trên mẫu bệnh phẩm khối u sau phẫu thuật.

2.2.4. Nội dung nghiên cứu

2.2.4.1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng

- Đặc điểm chung

- + Tuổi, giới.
- + Tiền sử:
 - Bản thân: Polyp đại trực tràng, viêm loét đại trực tràng chảy máu
 - Tiền sử bệnh lý gia đình.
- + Thời gian từ khi có triệu chứng đến khi vào viện

- Đặc điểm lâm sàng:

- + Lý do vào viện: Đại tiện nhày máu, đau bụng, rối loạn tiêu hóa, gầy sút cân, thiếu máu, khối u bụng, tắc ruột...
- + Triệu chứng cơ năng: Đau bụng, đi ngoài nhày máu, rối loạn tiêu hóa: đi ngoài phân lỏng, phân nhày mũi, táo bón...
- + Triệu chứng toàn thân: Gầy sút, thiếu máu, phù
- + Triệu chứng thực thể: Khối u bụng, hạch ngoại vi, dịch ổ bụng, tắc ruột, bán tắc ruột.

- Đặc điểm cận lâm sàng

- + Nội soi: Sử dụng máy nội soi trực tràng ống cứng và máy nội soi đại tràng ống mềm video hãng Olympus có hệ thống nhuộm màu NBI. Các dụng

cụ kèm theo như hệ thống màn hình độ phân giải cao, kim sinh thiết, máy hút.... Chuẩn bị bệnh nhân trước soi theo đúng quy trình: nhịn ăn, uống thuốc làm sạch đại tràng trước soi, thụt tháo sạch ruột, tiêm thuốc tiền mê... Dụng cụ để đựng và cố định bệnh phẩm theo quy trình hướng dẫn của Khoa giải phẫu bệnh. Đánh giá các chỉ số:

- Vị trí tổn thương: Trực tràng, đại tràng phải, đại tràng trái. Đại tràng phải được xác định là đại tràng từ ruột thừa, manh tràng, đại tràng lên, đại tràng góc gan và đại tràng ngang, trong khi đại tràng trái được xác định là đại tràng từ góc lách, đại tràng xuống, đại tràng sigma và trực tràng.
- Kích thước u so với chu vi đại trực tràng: Chiếm 1/4 chu vi; 1/2 chu vi; 3/4 chu vi; toàn bộ chu vi.
- Đánh giá khả năng đưa ống soi qua u: Dễ, khó, không đưa được ống soi qua u.
- Hình ảnh đại thể qua nội soi:
 - Thể sùi: Khối u lồi vào trong lòng đại tràng. Mặt u không đều, có thể chia thành thùy, múi. Màu sắc loang lổ, trắng lẫn đỏ tím. Mật độ mụn bờ, dễ rụng vỡ chảy máu. Khi u phát triển mạnh có thể hoại tử trung tâm, tạo giả mạc, lõm xuống tạo ổ loét. Hay gặp ở đại tràng phải, ít gặp hẹp, ít di căn hạch hơn các thể khác.
 - Thể loét: Khối u là một ổ loét tròn hoặc bầu dục, mặt u lõm sâu vào thành đại tràng, màu đỏ thẫm hoặc có giả mạc hoại tử, thành ổ loét dốc, nhẵn. Bờ ổ loét phát triển gồ lên, có thể sần sùi, mật độ đáy thường mụn, ranh giới u rõ ràng, toàn bộ khối u quan sát giống hình một “núi lửa”. Khối u thể loét gặp ở đại tràng trái nhiều hơn, u chủ yếu phát triển sâu vào các lớp thành ruột và theo chu vi ruột, xâm lấn các cơ quan khác, có tỉ lệ di căn hạch bạch huyết kèm theo cao hơn.

- Khối u thể thâm nhiễm hay thể chai: Tổn thương lan toả, không rõ ranh giới, mặt tổn thương hơi lõm, có những nốt sần nhỏ, lớp niêm mạc bạc màu, mất bóng. Khi mổ thường thấy thành đại tràng chắc, cứng đỏ, thanh mạc sần. Khối u dạng này thường phát triển nhanh theo chiều dọc, chiều dày lẫn theo chu vi, nhiều khi u phát triển làm ruột cứng tròn như một đoạn ống.
 - U thể chít hẹp, nghẹt: Thường ở đại tràng trái, nhất là đại tràng sigma, u nhỏ, mặt u thường giống thể loét, phát triển toàn chu vi làm nghẹt khẩu kính đại tràng, gây tắc ruột. Đoạn ruột hai phía u phình ra tạo tổn thương như vành khăn (napkin - ring) bó chặt, u thường gây di căn hạch sớm.
 - U thể dưới niêm: U đội niêm mạc đại trực tràng phồng lên, niêm mạc phía trên bình thường. Vi thể thường là sarcoma cơ trơn hoặc u lympho ác tính, hay gặp ở manh tràng hoặc trực tràng.
- + Chẩn đoán hình ảnh: Siêu âm ổ bụng, chụp cắt lớp vi tính ổ bụng.
- + Xét nghiệm máu: CEA
- + Mô bệnh học:

Mẫu bệnh phẩm qua sinh thiết qua nội soi và sau phẫu thuật, được cố định bằng dung dịch Formol, gửi khoa giải phẫu bệnh, bảo quản trong parafin phân tích và đọc kết quả phân loại mô bệnh học theo phân loại của WHO 2002.

- Ung thư biểu mô tuyến (adenocarcinoma)
- Ung thư biểu mô nhày (mucinous carcinoma)
- Ung thư biểu mô tế bào nhẫn (signet ring cell carcinoma)
- Ung thư biểu mô thể tủy (medullary carcinoma)
- Ung thư biểu mô tuyến răng cưa (Serrated adenocarcinoma)
- Ung thư biểu mô tuyến thể mặt sàng (Cribriform comedo-type adenocarcinoma)

- Ung thư biểu mô tuyến thể vi nhú (micropapillary adenocarcinoma)
- Ung thư biểu mô tuyến vảy (adenosquamous carcinoma)
- Ung thư biểu mô tế bào hình thoi (spindle cell carcinoma)
- Thể không biệt hóa (undifferentiated carcinoma) [3,4].

Độ ác tính của khối u bao gồm:

- + Độ ác tính thấp: Gồm UTBM tuyến biệt hóa cao và vừa
- + Độ ác tính cao: Gồm UTBM tuyến kém biệt hóa, UTBM không biệt hóa, UTBM tuyến chế nhày, UTBM tế bào nhẵn.

- **Phân loại giai đoạn**

Chẩn đoán giai đoạn TNM trong UTĐTT theo AJCC 2010

* T: U nguyên phát.

T_{is}: Ung thư tại chỗ, chưa phá vỡ màng đáy, khu trú ở niêm mạc.

T₁: U xâm lấn lớp dưới niêm.

T₂: U xâm lấn lớp cơ.

T₃: Khối u xâm lấn qua lớp cơ tới sát thanh mạc.

T_{4a}: U thâm nhiễm bề mặt thanh mạc.

T_{4b}: U xâm lấn vào tổ chức xung quanh đại tràng.

* N: Hạch vùng.

N₀: Chưa di căn hạch vùng

N₁: Di căn 1 - 3 hạch vùng

N_{1a}: Di căn 1 hạch vùng

N_{1b}: Di căn 2 - 3 hạch vùng

N_{1c}: Di căn nhân vệ tinh dưới thanh mạc, mạc treo ruột

N₂: Di căn 4 hạch vùng trở lên

N_{2a}: Di căn 4 - 6 hạch vùng

N_{2b}: Di căn 7 hạch vùng trở lên

* M: Di căn xa.

M₀: Chưa di căn.

M₁: Có di căn xa.

M_{1a}: Có di căn một cơ quan, vị trí, hạch xa.

M_{1b}: Có di căn nhiều cơ quan, phức tạp.

Bảng 2.1: Phân loại giai đoạn ung thư đại trực tràng theo AJCC 2010

Giai đoạn	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
IIB	T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0
IIIA	T1-T2	N1/N1c	M0
	T1	N2a	M0
IIIB	T3-T4a	N1/N1c	M0
	T2-T3	N2c	M0
	T1-T2	N2b	M0
IIIC	T4a	N2a	M0
	T3-T4a	N2b	M0
	T4b	N1-N2	M0
IVA	Bất kỳ T	Bất kỳ N	M1a
IVB	Bất kỳ T	Bất kỳ N	M1b

2.2.4.2. Nghiên cứu tình trạng gen KRAS và mối liên quan tới một số đặc điểm bệnh học UTĐTT

Những mẫu bệnh phẩm sau mổ được chẩn đoán xác định là UTĐTT được tiến hành kiểm tra gen KRAS tại Khoa giải phẫu bệnh, phòng sinh học phân tử Bệnh viện K và Trung tâm Gen Protein Trường Đại học Y Hà Nội theo quy trình và đánh giá

– Tình trạng đột biến gen KRAS

- ❖ Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS và một số đặc điểm bệnh học UTĐTT như tuổi, giới, vị trí u, kích thước u, giai đoạn bệnh, nồng độ CEA

❖ Quy trình xét nghiệm xác định đột biến gen

Quy trình giải trình tự gen KRAS bằng phương pháp Sanger

– Quy trình chuẩn bị mẫu DNA

- + Mẫu DNA khuôn làm đối chứng được sử dụng trong phản ứng sequencing là pGEM-3Zf (+). Kết quả giải trình tự của mẫu đối chứng này sẽ giúp kiểm soát được phản ứng sequencing không tốt là do chất lượng mẫu DNA đầu vào hay chu trình sequencing.
- + Chuẩn bị mẫu DNA cho phát hiện đột biến trên gen KRAS:
 - Mẫu DNA tổng số được tách chiết từ mô sinh thiết, mô trong parafin... theo quy trình của kit tách chiết.
 - Sau đó khuếch đại vùng exon 2 của gen KRAS bằng PCR sử dụng cặp mồi đặc hiệu.
 - Điện di kiểm tra sản phẩm khuếch đại trên gel agarose.
 - Tinh sạch sản phẩm PCR bằng kit ExoSapIT.
- + Chất lượng mẫu DNA đảm bảo cho sequencing sau khi đo NanoDrop cần đạt nồng độ như sau:
 - Mẫu DNA 100 – 200 bp có chất lượng 1 – 3 ng

- Mẫu DNA 200 – 500 bp có chất lượng 3 – 10 ng
 - Mẫu DNA 500 – 1000 bp có chất lượng 5 – 20 ng
 - Mẫu DNA 1000 – 2000 bp có chất lượng 10 – 40 ng
 - Mẫu DNA > 2000 bp có chất lượng 20 – 50 g
- Quy trình khuếch đại gen KRAS sử dụng BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit

Thành phần của BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit bao gồm: 200 µL BigDye Terminator v3.1 Ready Reaction Mix, 1 tube primer M13(-21), 1 tube pGEM Control DNA và 1 ml sequencing buffer 5X.

- + Bước 1: Làm tan từ từ các thành phần của BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit, các primer đặc hiệu cho exon 2 của gen KRAS và đặt trong đá lạnh.
- + Bước 2: Thêm các thành phần trên theo bảng sau:

Bảng 2.2: Các nguyên liệu cần cho vào phản ứng giải trình tự gen

Thành phần	Thể tích (µL)	Primer xuôi	Primer ngược
BigDye Terminator v3.1 Ready Reaction Mix	4 µl	4 µl	4 µl
Primer xuôi (3,2 pmol)		1 µL	
Primer ngược (3,2 pmol)			1 µL
Nước khử trùng (Dnase/Rnase – free water)		4 µL	4 µL
Mẫu		1 µL	1 µL
Tổng thể tích		10 µL	10 µL

- Lưu ý: Tùy thuộc vào nồng độ DNA đầu vào mà cho bào thể tích mẫu DNA phù hợp.
 - Như bảng trên: Mẫu DNA sợi đôi với nồng độ là 150-300ng/ μ L thì thêm vào 1 μ L.
 - Với 1 mẫu thực hiện 2 ống phản ứng riêng biệt: 1 ống phản ứng cho mỗi xuôi và 1 ống phản ứng cho mỗi ngược.
 - Cho phản ứng đối chứng: Sử dụng 4 μ L control primer nồng độ 0,8 pmol/ μ L (primer M13(-21)).
- + Bước 3: Vortex các ống phản ứng này 2 – 3 giây, sau đó ly tâm 1000G trong 5-10 giây.
- + Bước 4: Chạy chu trình sequencing như sau:
- 96°C trong 1 phút (1)
 - 96°C trong 10 giây (2)
 - 50°C trong 5 giây (3)
 - 60°C trong 4 phút (4)
- Lặp lại từ bước 2 đến bước 4 tổng số 25 chu kỳ.
- Sau khi kết thúc phản ứng khuếch đại, giữ lạnh ống ở 4°C hoặc tiến hành ngay bước tinh sạch tiếp theo.
- *Quy trình tinh sạch sản phẩm sequencing sau khi khuếch đại sử dụng Ethanol/EDTA*
- + Bước 1: Chuẩn bị dung dịch EDTA 125 mM từ EDTA 0.5 M, pH 8,0
 - + Bước 2: Chuẩn bị ethanol 70% từ ethanol tuyệt đối
 - + Bước 3: Ly tâm nhanh các ống phản ứng sequencing từ 5-10 giây ở 1000xg
 - + Bước 4: Thêm các thành phần vào theo thứ tự như bảng sau:
 - Phản ứng sequencing (10 μ L)
 - Dung dịch EDTA 125 mM (2,5 μ L)

- Ethanol tuyệt đối (30 μ L)
 - Tổng thể tích (42,5 μ L)
- + Bước 5: Vortex các ống phản ứng 2-3 giây sau đó ly tâm ngắn 5-10 giây ở 1000xg
- + Bước 6: Ủ các ống phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 15 phút.
- + Bước 7: Ly tâm lạnh ở 4°C các ống tại 1870 xg trong 45 phút.
- + Bước 8: Đổ bỏ phần dung dịch, giữ lại phần cặn.
- + Bước 9: Thêm 30 μ L dung dịch Ethanol 70% vào mỗi ống phản ứng.
- + Bước 10: Ly tâm lạnh ở 4°C các ống tại 1870G trong 15 phút
- + Bước 11: Đổ bỏ phần dung dịch, giữ lại phần cặn.
- + Bước 12: Làm khô sản phẩm ở nhiệt độ phòng 5-10 phút.
- Bảo quản ở 4°C để chuẩn bị cho điện di mao quản hoặc bảo quản -20°C cho đến khi cần sử dụng.
- *Quy trình giải trình tự xác định đột biến gen KRAS*
- + Ngay sau khi lấy mảnh DNA khô vừa tinh sạch bằng Ethanol/EDTA sau phản ứng PCR khuếch đại bằng BigDye v3.1, thực hiện lần lượt các bước sau:
- + Cho vào mỗi ống phản ứng 10 μ L dung dịch Hi-Di™ Formamide hòa tan sản phẩm PCR.
- + Ủ ở 95° C trong 3-5 phút (trong block nhiệt) để gắn Hi-Di vào các sợi đơn DNA.
- + Lấy mẫu ra khỏi block nhiệt để ở -20° C trong 5 phút.
- + Trộn đều hỗn hợp và đặt các ống phản ứng vào máy đọc trình tự, sau đó khởi động chương trình chạy.
- + Phân tích kết quả bằng phần mềm DNA Sequencing Analysis Software.
- + So sánh kết quả giải trình tự gen với trình tự gen chuẩn tương ứng của GenBank.

Quy trình xác định đột biến gen KRAS bằng phương pháp Scorpion ARMS

- Thành phần kit “Therascreen KRAS RGQ PCR Kit”
- + Control Reaction Mix (CTRL) (2 tubes x 600 μ L)
- + 12ALA Reaction Mix (1 tube x 600 μ L)
- + 12ASP Reaction Mix (1 tube x 600 μ L)
- + 12ARG Reaction Mix (1 tube x 600 μ L)
- + 12CYS Reaction Mix (1 tube x 600 μ L)
- + 12SER Reaction Mix (1 tube x 600 μ L)
- + 12VAL Reaction Mix (1 tube x 600 μ L)
- + 13ASP Reaction Mix (1 tube x 600 μ L)
- + KRAS Positive Control (PC) (1 tube x 250 μ L)
- + Taq DNA polymerase (1 tube x 70 μ L)
- + No template control (NTC) (1 tube x 1,9 ml)
- + For template dilution (1 tube x 1,9 ml)

Các bước tiến hành:

- + Bước 1: Làm tan các thành phần: CTRL, PC, NTC ở nhiệt độ phòng (15-25°C) ít nhất 1 giờ. Khi các hóa chất đã được giải đông, giữ tube và đảo ngược tube nhẹ nhàng lên xuống 10 lần để tránh nồng độ muối không đều sau đó li tâm nhanh để dung dịch tập trung.
- + Bước 2: Chuẩn bị Master mix cho phản ứng (7 mỗi đột biến gen KRAS): Thực hiện trên khay lạnh. Tổng thể tích mỗi phản ứng là 25 μ L. Trong đó:
 - Chứng dương: Là DNA đã xác định có cả 7 đột biến trên khi chạy với cặp mỗi đột biến sẽ cho kết quả dương tính được pha ở nồng độ thích hợp.

- + Bước 3: Trộn đều các thành phần sau đó ly tâm nhẹ cho toàn bộ dịch xuống đáy ống.
- + Bước 4: Đặt mẫu vào máy realtime PCR đã được cài đặt sẵn chương trình chạy. Trong đó:
 - Chọn màu FAM và HEX cho mẫu, chứng dương và chứng âm.
 - Cài đặt protocol chạy cho máy real-time PCR với chu trình nhiệt: 1 chu kỳ: 95°C trong 4 phút; 40 chu kỳ lặp lại với các bước nhiệt: 95°C trong 30 giây, 60° C trong 1 phút (chụp hình tín hiệu huỳnh quang tại bước này).
- + Bước 5: Phân tích kết quả chạy real-time PCR với các môi đột biến
 - Sau khi kết thúc quá trình realtime PCR, chuyển sang chế độ “Analysis” để phân tích kết quả.
 - Phân tích chứng dương và chứng âm: Chọn màu FAM để phân tích kết quả, chứng dương với các môi đột biến phải cho tín hiệu rõ ràng và có giá trị Ct đạt 26,26 – 30,95. Chứng âm phải chắc chắn rằng không bị ngoại nhiễm tức là cho tín hiệu không vượt qua tín hiệu nền.
 - Phân tích mẫu: Chọn màu FAM để phân tích kết quả:
 - Mẫu chạy với môi đột biến cho kết quả là đường biểu diễn tín hiệu âm tính (không vượt qua tín hiệu nền). Mẫu này không có đột biến với môi tương ứng.
 - Mẫu chạy với môi đột biến cho kết quả là đường biểu diễn tín hiệu dương tính (vượt qua tín hiệu nền), tiến hành tính toán giá trị ΔCt theo công thức: $Ct \text{ đột biến} - Ct \text{ chứng} = \Delta Ct$. So sánh giá trị ΔCt với giá trị ngưỡng Cutoff. Nếu mẫu có giá trị ΔCt thấp hơn hoặc bằng giá trị Cutoff thì mẫu đó được coi là (+) với đột biến đó, còn nếu mẫu có giá trị ΔCt

cao hơn giá trị Cutoff thì mẫu đó được coi là (-) với đột biến đó hoặc ngoài giới hạn phát hiện của kit.

- Giá trị Cutoff của gen KRAS
 - G12A: 6,5
 - G12D: 8,0
 - G12R: 8,0
 - G12C: 7,0
 - G12S: 9,0
 - G12V: 6,5
 - G13D: 9,0

❖ ***Đánh giá mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS và đặc điểm bệnh học ung thư đại trực tràng***

- Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS với tuổi
- Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS với giới
- Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS với vị trí u
- Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS với kích thước u
- Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS với độ ác tính khối u
- Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS với nồng độ CEA
- Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS với thời gian diễn biến bệnh.
- Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS với giai đoạn bệnh.

2.3. XỬ LÝ SỐ LIỆU

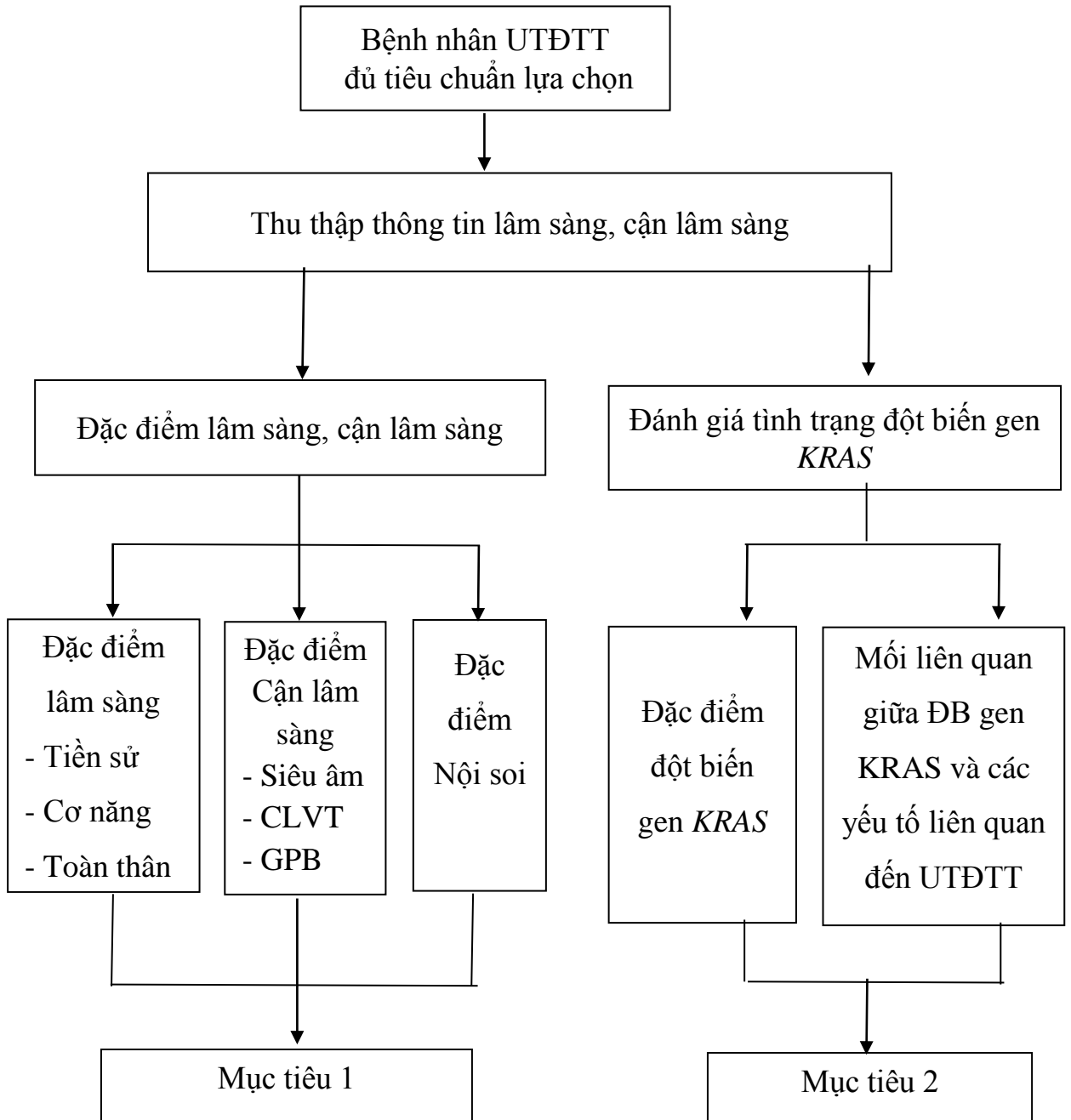
- Số liệu nghiên cứu được mã hóa, nhập và xử lý phân tích trên máy tính, sử dụng phần mềm SPSS 24.0 và phần mềm thống kê R.
- Tính tỉ lệ phần trăm, giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, giá trị nhỏ nhất, lớn nhất.

- So sánh giá trị trung bình của các biến định lượng bằng test ANOVA.
- So sánh, kiểm định sự khác biệt của các biến định tính bằng phép thử Chi-square, hiệu chỉnh phép thử chính xác Fisher-Exact Test.
- Tính hệ số tương quan được biểu diễn bằng OR (CI 95%) trong đó $OR = ac/bd$, biểu hiện mối tương quan giữa 2 đại lượng, dùng để tìm hiểu mối tương quan giữa đặc điểm đột biến gen KRAS và các đặc điểm bệnh học UTĐTT.

2.4. KHÍA CẠNH ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU

- Đề tài này thực hiện được sự đồng ý của các cấp lãnh đạo bệnh viện.
- Các thông tin về kết quả nghiên cứu của bệnh nhân được giữ kín.
- Kết quả này phục vụ cho công tác chăm sóc sức khỏe của nhân dân.
- Nghiên cứu không ảnh hưởng tới quá trình điều trị của người bệnh.

SƠ ĐỒ NGHIÊN CỨU



CHƯƠNG 3

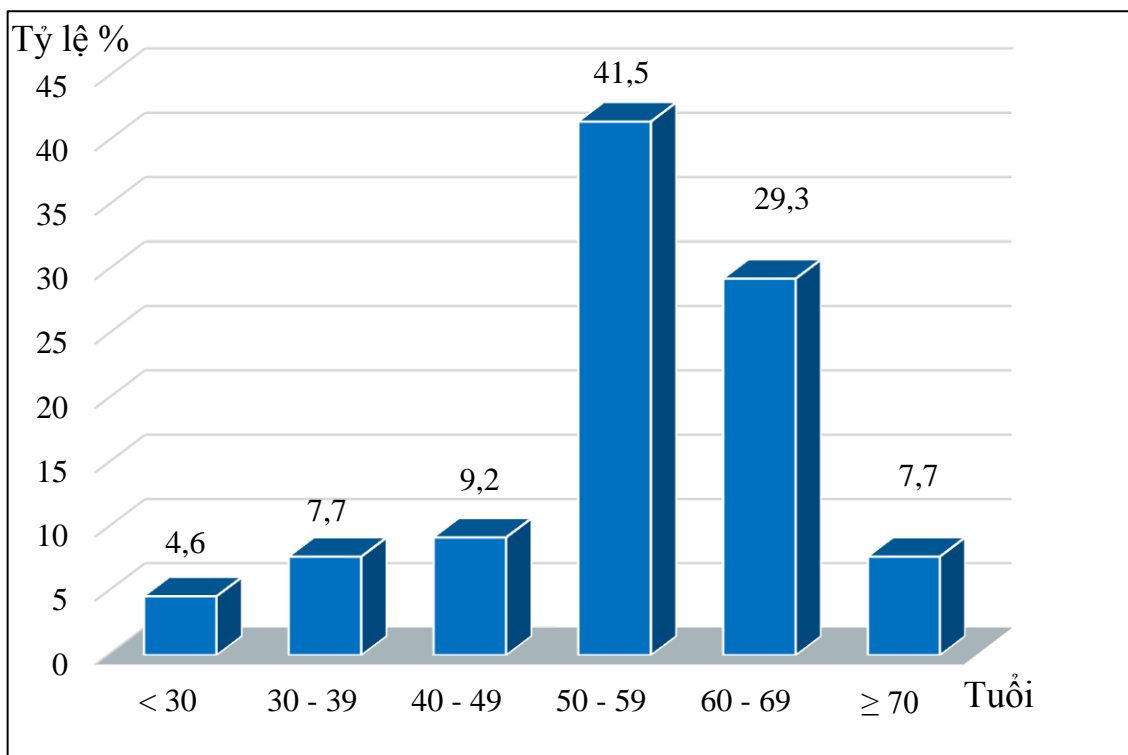
KẾT QUẢ

Qua thời gian nghiên cứu từ năm 2012 đến năm 2016, chúng tôi thu thập được 65 bệnh nhân đủ tiêu chuẩn nghiên cứu và phân tích số liệu cho kết quả như sau:

3.1. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG VÀ CẬN LÂM SÀNG

3.1.1. Tuổi và giới

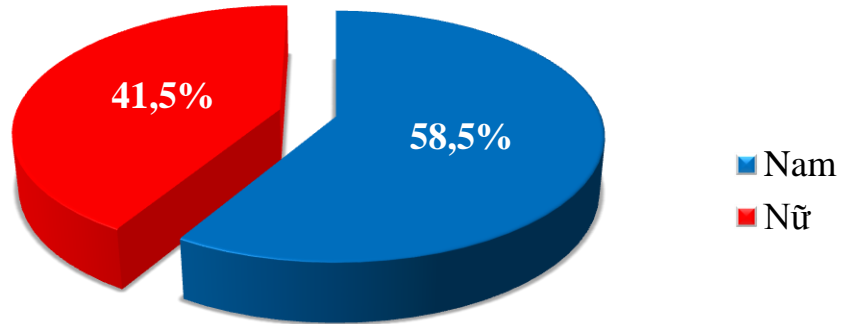
3.1.1.1. Tuổi



Biểu đồ 3.1: Phân bố tuổi của bệnh nhân nghiên cứu

Nhận xét: Tuổi bệnh nhân tham gia nghiên cứu dao động từ 18 đến 74 tuổi, tuổi trung bình là 54,5 tuổi. Độ tuổi từ 50 – 69 là hay gặp nhất chiếm tỉ lệ 70,8%. Độ tuổi ít gặp nhất là dưới 30 tuổi, chiếm tỉ lệ 3/65 (4,6%).

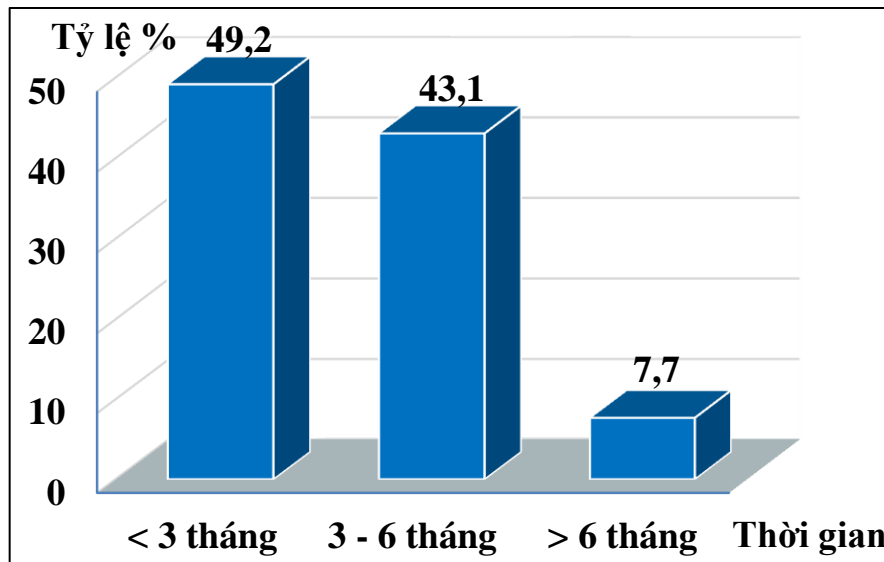
3.1.1.2. Giới



Biểu đồ 3.2: Phân bố bệnh nhân nghiên cứu theo giới

Nhận xét: Trong nhóm bệnh nhân tham gia nghiên cứu, nam giới chiếm tỉ lệ 58,5% và nữ giới chiếm 41,5%.

3.1.2. Thời gian từ khi có triệu chứng đầu tiên đến khi vào viện



Biểu đồ 3.3: Thời gian từ khi có triệu chứng đầu tiên đến khi nhập viện

Nhận xét: Đa số bệnh nhân đến khám bệnh sau khi có triệu chứng đầu tiên ≤ 6 tháng (92,3%).

3.1.3. Đặc điểm lâm sàng

3.1.3.1. Triệu chứng cơ năng

Bảng 3.1: Triệu chứng cơ năng

Triệu chứng	n	Tỉ lệ (%)
<i>Đau bụng</i>	49	75,4
<i>Đi ngoài ra máu</i>	47	72,3
<i>Đi ngoài phân nhày mũi</i>	39	60,0
Đi ngoài phân lỏng	29	44,6
Táo bón	19	29,2
Khác	2	3,1

Nhận xét: Triệu chứng lâm sàng hay gặp trong các bệnh nhân tham gia nghiên cứu là đi ngoài ra máu (72,3%), đau bụng (75,4%), đi ngoài máu nhày mũi (60%), ỉa lỏng (44,6%), triệu chứng ít gặp hơn là táo bón gặp 29,2% và có 3,1% bệnh nhân biểu hiện triệu chứng khác.

3.1.3.2. Triệu chứng thực thể

Bảng 3.2: Triệu chứng thực thể

Triệu chứng	n	Tỉ lệ (%)
<i>U bụng</i>	22	33,8
<i>Bán tắc ruột</i>	16	24,6
Tắc ruột	4	6,2
Hạch ngoại vi	5	7,7
Không có triệu chứng thực thể	18	27,7

Nhận xét: Triệu chứng thực thể hay gặp nhất là sờ thấy u bụng, chiếm 33,8%, triệu chứng bán tắc ruột gặp ở 24,6% bệnh nhân, triệu chứng tắc ruột gặp ở 6,2%. Có 7,7% bệnh nhân có hạch ngoại vi. Còn lại 27,7% bệnh nhân không có triệu chứng thực thể.

3.1.3.3. Triệu chứng toàn thân

Bảng 3.3: Triệu chứng toàn thân

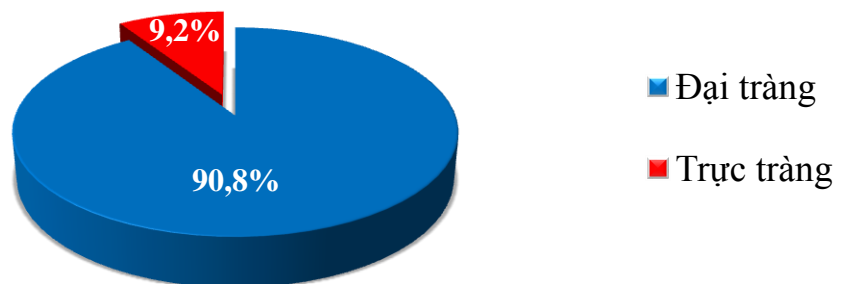
Triệu chứng	n	Tỉ lệ (%)
<i>Gày sút cân</i>	21	32,3
Thiếu máu	16	24,6
Khác	6	9,3
Không có triệu chứng toàn thân	22	33,8

Nhận xét: Triệu chứng toàn thân hay gặp nhất là gầy sút cân, chiếm tỉ lệ 32,2%, tiếp theo là thiếu máu, chiếm tỉ lệ 24,6%. Một số triệu chứng khác chiếm tỉ lệ là 9,3% và có 33,8% bệnh nhân không có triệu chứng toàn thân.

3.1.4. Đặc điểm cận lâm sàng

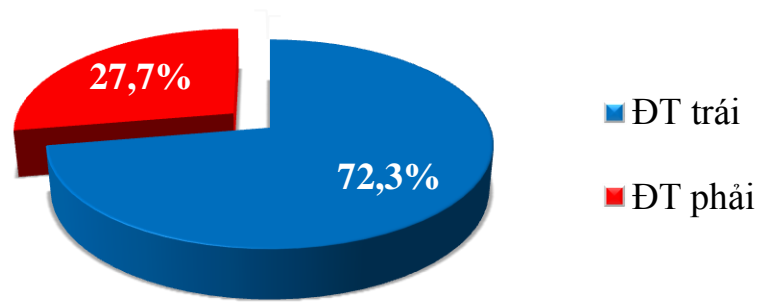
3.1.4.1. Nội soi

❖ Vị trí u



Biểu đồ 3.4: Vị trí u ở đại tràng hay trực tràng

Nhận xét: Trong quần thể bệnh nhân tham gia nghiên cứu, tỉ lệ khối u nằm ở đại tràng chiếm tỉ lệ 90,8%, tỉ lệ khối u nằm ở trực tràng chiếm 9,2%.



Biểu đồ 3.5: Vị trí u ở đại tràng phải hay đại tràng trái

Nhận xét: Khối u đại tràng trái chiếm đa số với tỉ lệ 72,3% trong khi đại tràng phải chiếm tỉ lệ ít hơn với 27,7%.

❖ **Đặc điểm hình thái khối u trên nội soi**

Bảng 3.4: Hình ảnh đại thể khối u trên nội soi

Thể u	n	Tỉ lệ (%)
<i>Loét sùi</i>	23	35,4
<i>Sùi</i>	22	33,8
Loét sùi thâm nhiễm	11	16,9
Thâm nhiễm	5	7,7
Loét	4	6,2
Tổng	65	100,0

Nhận xét: Trong 5 loại hình thái khối u đại trực tràng hay gặp như trên, thể sùi và loét sùi và loét sùi thâm nhiễm chiếm đa số với tỉ lệ lần lượt là 33,8%, 35,4% và 16,9%. Các thể khác ít gặp hơn là loét, thâm nhiễm chiếm tỉ lệ 6,2% và 7,7%

❖ *Đặc điểm kích thước khối u theo chu vi***Bảng 3.5: Đặc điểm kích thước u theo chu vi**

Kích thước u theo chu vi	n	Tỉ lệ (%)
Chiếm 1/4 chu vi	3	4,6
Chiếm $\geq 1/2$ chu vi	7	10,8
Chiếm $\geq 3/4$ chu vi	32	49,2
Chiếm toàn bộ chu vi	23	35,4
Tổng	65	100,0

Nhận xét: Đa số bệnh nhân có khối u chiếm từ 3/4 chu vi trở nên, chiếm 84,6% số bệnh nhân.

❖ *Mức độ khó khăn khi nội soi***Bảng 3.6: Mức độ khó khăn khi nội soi**

Mức độ khó khăn khi nội soi	n	Tỉ lệ (%)
Dễ đưa ống soi đi qua	13	20,0
Khó đưa ống soi đi qua	16	24,6
Không đưa ống soi qua được	36	55,4
Tổng	65	100,0

Nhận xét: Tỉ lệ bệnh nhân có khối u lớn làm cản trở ống nội soi đi qua chiếm tỉ lệ 24,6% và ống soi không đi qua được chiếm tỉ lệ 55,4%.

3.1.4.2. Chẩn đoán hình ảnh

❖ Khả năng phát hiện khối u

Bảng 3.7: Tỷ lệ phát hiện u trên cận lâm sàng

Phương pháp	n	Tỷ lệ (%)
Nội soi	65	100,0
CLVT	56	86,1
Siêu âm	44	67,7
Tổng	65	100,0

Nhận xét: Phương pháp nội soi phát hiện được 100% bệnh nhân có u đại trực tràng. Siêu âm và chụp cắt lớp vi tính phát hiện được lần lượt 67,7% và 86,1% bệnh nhân có u.

❖ Khả năng phát hiện di căn hạch

Bảng 3.8: Tỷ lệ phát hiện di căn hạch bằng chẩn đoán hình ảnh

Phương pháp	n	Tỷ lệ (%)
CLVT	11	44,0
Siêu âm	6	24,0
Tổng	25	100,0

Nhận xét: Trong số 65 bệnh nhân chỉ có 25 bệnh nhân được khẳng định di căn hạch bằng giải phẫu bệnh sau mổ. Trong số 25 bệnh nhân đó, siêu âm phát hiện được 6/25 (24,0%), chụp cắt lớp vi tính phát hiện được 11/25 (44,0%).

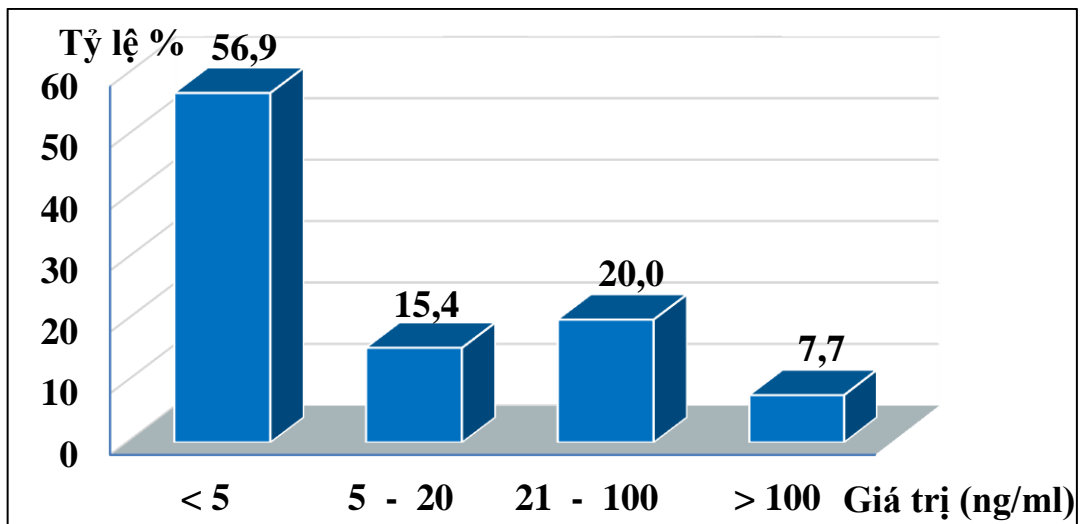
❖ *Khả năng phát hiện di căn xa*

Bảng 3.9: Tỷ lệ phát hiện di căn xa bằng chẩn đoán hình ảnh

Phương pháp	n	Tỷ lệ (%)
Siêu âm	25	65,8
CTLVT	24	63,2
Tổng số bệnh nhân di căn	38	100,0

Nhận xét: Trong số 65 bệnh nhân, có 38 bệnh nhân được chẩn đoán ở giai đoạn IV (di căn gan và di căn phúc mạc) đã được khẳng định bằng mô bệnh học sau mổ và đánh giá tổn thương trong mô. Trong số 38 bệnh nhân đó, siêu âm và cắt lớp vi tính phát hiện được 25/38 (65,8%) và 24/38 (63,2%) trường hợp bệnh nhân có di căn xa.

3.1.4.3. Xét nghiệm máu - nồng độ CEA

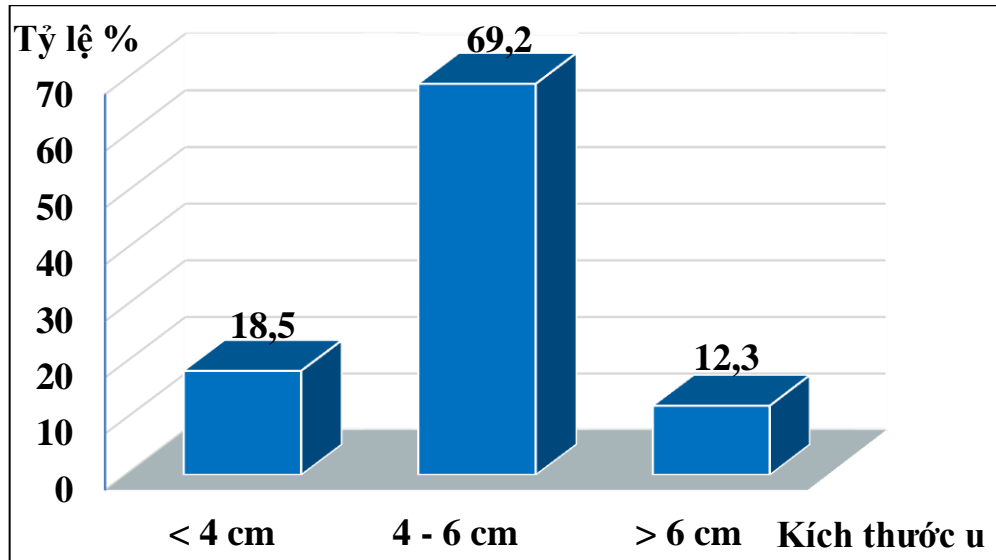


Biểu đồ 3.6: Nồng độ CEA huyết thanh bệnh nhân u

Nhận xét: Nồng độ CEA của bệnh nhân trong nghiên cứu dao động từ 0,5 ng/mL đến 1001 ng/mL. Có 43,1% số bệnh nhân có nồng độ CEA > 5ng/ml.

3.1.4.4. Đặc điểm giải phẫu bệnh

❖ Kích thước khối u



Biểu đồ 3.7: Phân bố kích thước khối u

Nhận xét: Kích thước khối u trong nhóm bệnh nhân nghiên cứu dao động từ 2-10 cm, giá trị trung bình là $5,01 \text{ cm} \pm 1,69 \text{ cm}$. Kích thước khối u phổ biến nhất trong khoảng 4-6 cm, chiếm 69,2%.

❖ Hình ảnh đại thể khối u sau mổ

Bảng 3.10: Hình ảnh đại thể khối u sau mổ

Thể u	n	Tỉ lệ (%)
<i>Loét sùi</i>	21	32,3
<i>Sùi</i>	15	23,1
Loét sùi thâm nhiễm	13	20,0
Thâm nhiễm	10	15,4
Loét	6	9,2
Tổng	65	100,0

Nhận xét: Đặc điểm đại thể của khối u chủ yếu là thể loét sùi 32,3% các thể khác là sùi, loét sùi thâm nhiễm, thâm nhiễm, loét chiếm tỉ lệ lần lượt là 23,1%; 20%; 15,4% và 9,2%.

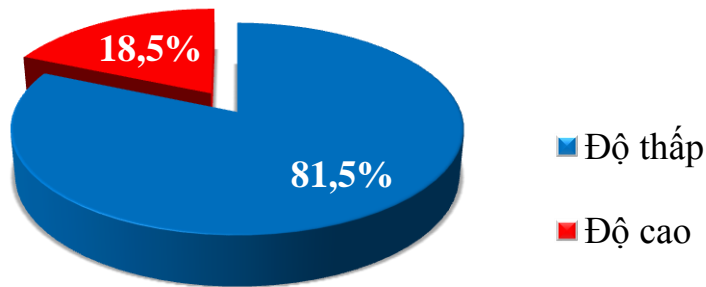
❖ **Hình ảnh vi thể ung thư đại trực tràng**

Bảng 3.11: Đặc điểm thể mô bệnh học

Thể mô bệnh học	n	Tỉ lệ (%)
UTBM tuyến	55	84,6
UTBM tuyến chế nhày	9	13,9
UTBM không biệt hoá	1	1,5
Tổng	65	100,0

Nhận xét: Ung thư biểu mô tuyến là thể mô bệnh học chủ yếu, chiếm 84,6%; các thể khác ít gặp hơn như ung thư biểu mô tuyến chế nhày 13,9%; UTBM không biệt hoá đều chiếm tỉ lệ 1,5%.

❖ **Độ ác tính khối u**



Biểu đồ 3.8: Độ ác tính của ung thư đại trực tràng

Nhận xét: Trong số 65 bệnh nhân, 12 bệnh nhân có độ mô học là độ ác tính cao, chiếm 18,5% và 53 bệnh nhân có độ mô học là độ ác tính thấp, chiếm 81,5%.

3.1.4.5. Giai đoạn bệnh

Bảng 3.12: Đặc điểm giai đoạn bệnh

	n	Tỉ lệ (%)
Giai đoạn T		
1	1	1,5
2	8	12,3
3	20	30,8
4	36	55,4
Giai đoạn N		
0	40	61,5
1	13	20,0
2a	6	9,25
2b	6	9,25
Giai đoạn M		
M0	27	41,5
M1	38	58,5
Giai đoạn TNM		
I	2	3,1
II	11	16,9
III	14	21,5
IV	38	58,5
Tổng	65	100,0

Nhận xét: Đa số bệnh nhân có khối u ở giai đoạn T3, T4, chiếm 86,2%. Tỉ lệ bệnh nhân có di căn hạch là 38,5%. Số lượng bệnh nhân ở giai đoạn IV (di căn xa) chiếm đa số với tỉ lệ 58,5%.

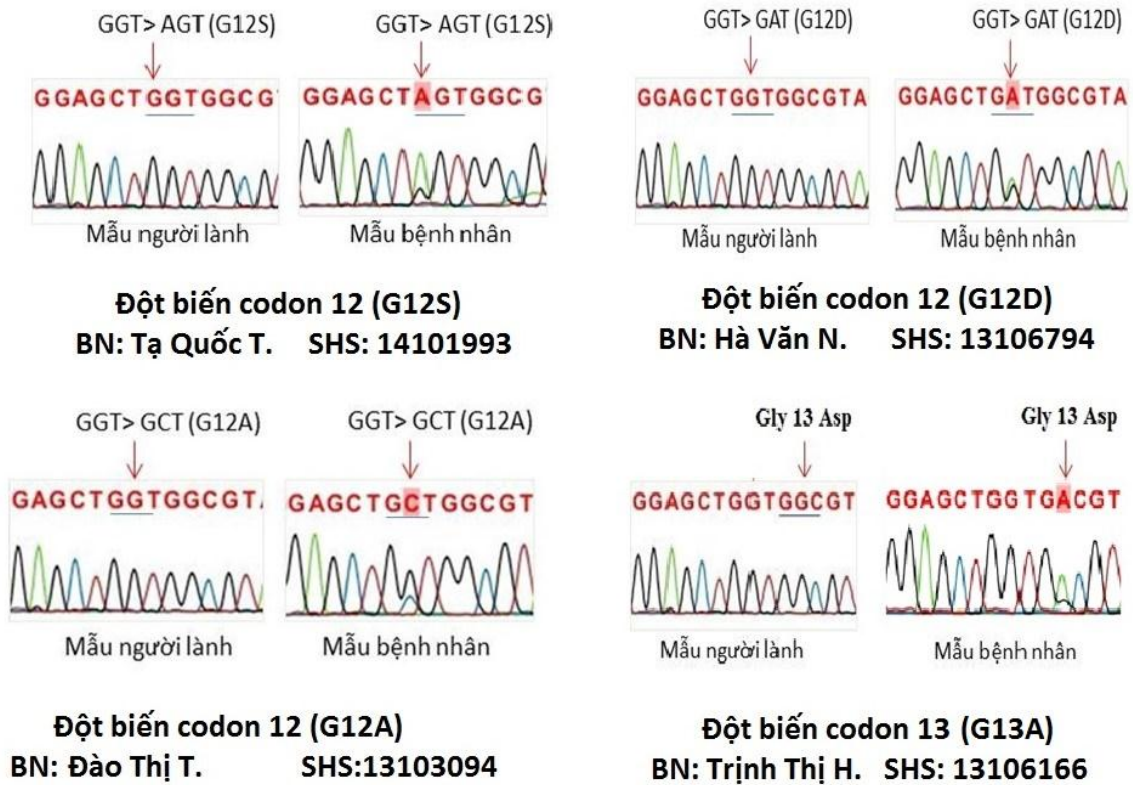
3.2. ĐẶC ĐIỂM ĐỘT BIẾN GEN KRAS VÀ MỐI LIÊN QUAN VỚI CÁC ĐẶC ĐIỂM BỆNH HỌC

3.2.1. Tình trạng đột biến gen KRAS

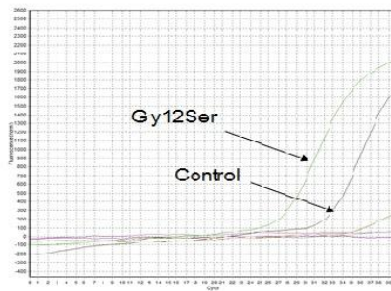
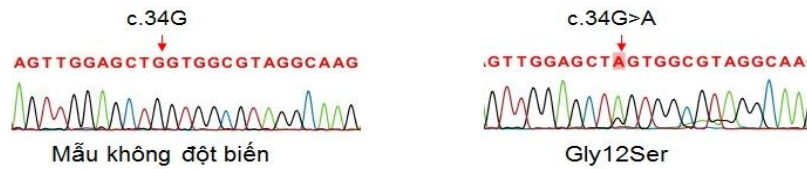
Bảng 3.13: Tỷ lệ các dạng đột biến KRAS ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng

Đột biến KRAS	n	Tỷ lệ (%)
<i>Có đột biến KRAS</i>	24	36,9
Đột biến codon 12	6	9,2
Đột biến codon 13	13	20,0
Đột biến cả 2 codon	5	7,7
<i>Không có đột biến KRAS</i>	41	63,1
Tổng	65	100,0

Nhận xét: Tỷ lệ đột biến gen KRAS trong nhóm bệnh nhân tham gia nghiên cứu là 36,9% trong đó, đột biến tại codon 12 là 9,2%, tại codon 13 là 20,0% và đột biến gặp đồng thời ở cả 2 codon là 7,7%.



Hình 3.1. Kết quả giải trình tự của một số đột biến gen KRAS



Đột biến gen KRAS exon 2 codon 12 (G12S)

BN: Trịnh Đắc P. SHS: 13102296

Hình 3.2. Kết quả xác định đột biến KRAS bằng phương pháp Scorpion ARMs đối chiếu với phương pháp giải trình tự gen

3.2.2. Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và giới

Bảng 3.14: Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và giới

		Đột biến KRAS		Tổng số	OR	p	
		Có	Không				
Giới	Nữ	n	11	16	27	1,32 CI 95% 0,477 - 3,663	0,59
		Tỉ lệ %	40,7	59,3	100,0		
	Nam	n	13	25	38		
		Tỉ lệ %	34,2	65,8	100,0		
Tổng	n	24	41	65			
	Tỉ lệ %	36,9	63,1	100,0			

Nhận xét: Nữ giới có nguy cơ đột biến gen KRAS hơn ở nam giới tới 32%, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,59$.

Bảng 3.15: Mối liên quan giữa đột biến codon 12 gen KRAS và giới

		Đột biến codon 12		Tổng số	OR	p	
		Có	Không				
Giới	Nam	n	8	30	38	6,93 CI 95% (0,81-59,18)	0,07
		Tỉ lệ %	21,1	78,9	100,0		
	Nữ	n	1	26	27		
		Tỉ lệ %	3,7	96,3	100,0		
Tổng	n	9	56	65			
	Tỉ lệ %	13,8	86,2	100,0			

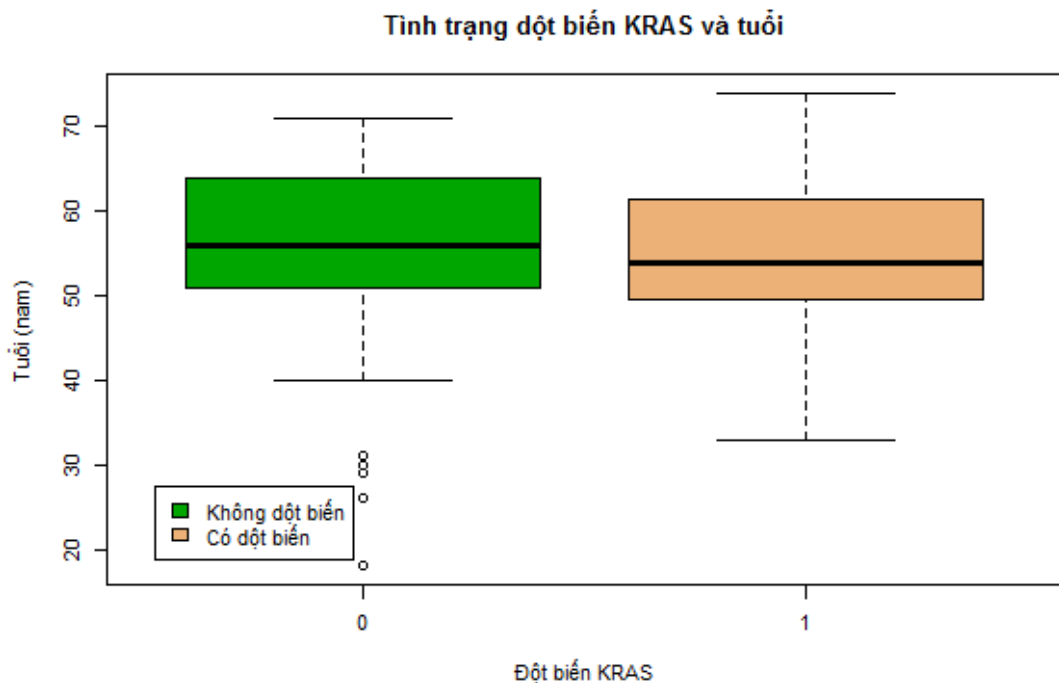
Nhận xét: Tỉ lệ gặp đột biến gen KRAS tại codon 12 ở nam giới cao gấp 6,93 lần ở nữ giới, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê với $p = 0,07$.

Bảng 3.16: Mối liên quan giữa đột biến codon 13 gen KRAS và giới

		Đột biến codon 13		Tổng số	OR	p	
		Có	Không				
Giới	Nữ	n	10	17	27	2,20 CI 95% (0,73-6,65)	0,16
		Tỉ lệ %	37,0	63,0	100,0		
	Nam	n	8	30	38		
		Tỉ lệ %	21,1	78,9	100,0		
Tổng	n	18	47	65			
	Tỉ lệ %	27,7	72,3	100,0			

Nhận xét: Đột biến tại codon 13 gen KRAS hay gặp ở bệnh nhân nữ với tỉ lệ cao gấp 2,2 lần ở nam giới. Sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê với $p = 0,16$

3.2.3. Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và tuổi

**Biểu đồ 3.9: Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và tuổi**

Nhận xét: Phân bố tuổi ở nhóm bệnh nhân không có đột biến KRAS có xu hướng cao hơn ở nhóm có đột biến KRAS, tuổi trung bình nhóm không có đột biến là 55,5 tuổi, nhóm có đột biến KRAS là 53,3 tuổi. Tuy nhiên phân bố tuổi giữa 2 nhóm là tương đối đồng đều. Không có sự khác biệt về biểu hiện đột biến gen KRAS trên bệnh nhân UTĐTT có tuổi khác nhau, với $p > 0,05$.

3.2.4. Mối liên quan giữa gen KRAS với vị trí u

3.2.4.1. Bộc lộ đột biến gen KRAS giữa trực tràng và đại tràng

Bảng 3.17: Bộc lộ đột biến gen KRAS ở trực tràng và đại tràng

		Đột biến KRAS		Tổng	OR	p	
		Có	Không				
Vị trí	Trực tràng	n	5	1	6	10,53 CI 95% (1,14-96,47)	0,004
		Tỉ lệ %	83,3	16,7	100,0		
	Đại tràng	n	19	40	59		
		Tỉ lệ %	32,2	67,8	100,0		
Tổng		n	24	41	65		
		Tỉ lệ %	36,9	63,1	100,0		

So sánh bằng phép thử chính xác Fisher, xác suất $p = 0,02$, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tính tỉ suất nguy cơ Odds ratio (OR) = 10,53 với CI 95% (1,14-96,47) và $p = 0,004$.

Nhận xét: Tại trực tràng tỉ lệ bệnh nhân có đột biến KRAS cao hơn (83,3%), tại đại tràng tỉ lệ mắc đột biến là 32,2%, ước tính tỉ lệ gặp đột biến gen KRAS ở trực tràng cao hơn ở đại tràng 10,53 lần, với $p = 0,004$ có ý nghĩa thống kê.

Bảng 3.18: Biểu hiện đột biến codon 12 gen KRAS ở trực tràng và đại tràng

		Đột biến codon 12		Tổng số	OR	p	
		Có	Không				
Vị trí u	Trực tràng	n	2	4	6	3,71 CI 95% (0,57 -24,14)	0,17
		Tỉ lệ %	33,3	66,7	100,0		
	Đại tràng	n	7	52	59		
		Tỉ lệ %	11,9	88,1	100,0		
Tổng	n	9	56	65			
	Tỉ lệ %	83	86,2	100,0			

So sánh khi Chi square $p = 0,119$, ước lượng OR = 3,71, $p = 0,17$

Nhận xét: Tỉ lệ đột biến codon 12 tại trực tràng cao hơn đại tràng 3,71 lần, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,17$.

Bảng 3.19: Biểu hiện đột biến codon 13 gen KRAS ở trực tràng và đại tràng

		Đột biến codon 13		Tổng số	OR	p	
		Có	Không				
Vị trí u	Trực tràng	n	4	2	6	6,43 CI 95% (1,06-38,9)	0,043
		Tỉ lệ %	66,7	33,3	100,0		
	Đại tràng	n	14	45	59		
		Tỉ lệ %	23,7	76,3	100,0		
Tổng	n	18	47	65			
	Tỉ lệ %	27,7	72,3	100,0			

Nhận xét: So sánh bằng phép thử chính xác Fisher $p = 0,045$, ước lượng OR = 6,43 với $p = 0,043$. Tại đại tràng tỉ lệ đột biến KRAS tại codon 13 hay gấp hơn tại trực tràng, cao gấp 6,43 lần so với khối u tại đại tràng và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

3.2.4.2. Biểu hiện đột biến gen KRAS giữa đại tràng phải và trái

Bảng 3.20: Biểu hiện đột biến gen KRAS giữa đại tràng phải và trái

		Đột biến gen KRAS			Tổng	OR	p
		Có		Không			
		Đại tràng	n	Đại tràng			
Vị trí u	phải	n	7	11	18	1,12 CI 95% (0,36-3,44)	0,83
		Tỉ lệ %	38,9	61,1	100,0		
	trái	n	17	30	47		
		Tỉ lệ %	36,2	63,8	100,0		
Tổng		n	24	41	65		
		Tỉ lệ %	63,1	36,9	100,0		

Nhận xét: Nguy cơ đột biến gen KRAS ở đại tràng phải cao hơn đại tràng trái, với tỉ lệ khoảng 12%, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,83$.

Bảng 3.21: Biểu hiện đột biến codon 12 gen KRAS ở đại tràng phải và đại tràng trái

		Đột biến codon 12			Tổng	OR	p
		Có		Không			
		Đại tràng	n	Đại tràng			
Vị trí u	phải	n	4	14	18	2,4 CI 95% (0,56-10,20)	0,24
		Tỉ lệ %	22,2	77,8	100,0		
	trái	n	5	42	47		
		Tỉ lệ %	10,6	89,4	100,0		
Tổng		n	9	56	65		
		Tỉ lệ %	13,8	86,2	100,0		

Nhận xét: Đại tràng phải có khả năng đột biến gen KRAS codon 12 cao hơn đại tràng trái 2,4 lần. Tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với CI 95% (0,56-10,20) và $p = 0,24$.

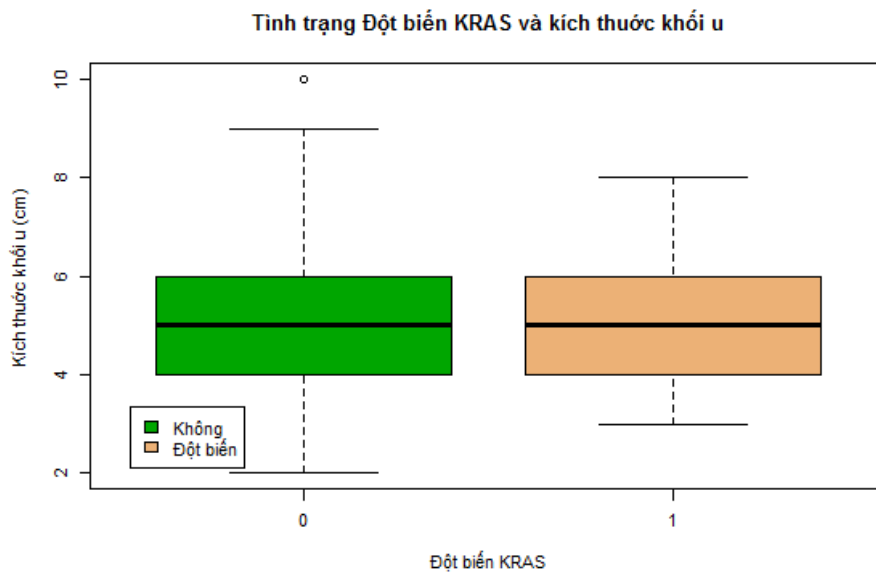
Bảng 3.22: Biểu hiện đột biến codon 13 gen KRAS ở đại tràng phải và đại tràng trái

		Đột biến codon 13		Tổng	OR	p
		Có	Không			
Vị trí u	Đại tràng trái	n	14	33	1,48 CI 95% (0,41-5,31)	0,54
		Tỉ lệ %	29,8	70,2		
	Đại tràng phải	n	4	14		
		Tỉ lệ %	22,2	77,8		
Tổng		n	18	47	65	100,0
		Tỉ lệ %	27,7	72,3		

Nhận xét: Đại tràng trái có khả năng mang đột biến KRAS codon 13 cao hơn đại tràng phải 1,48 lần, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với CI 95% (0,41-5,31) và $p = 0,54$.

3.2.5. Mối liên quan giữa đột biến KRAS và kích thước khối u

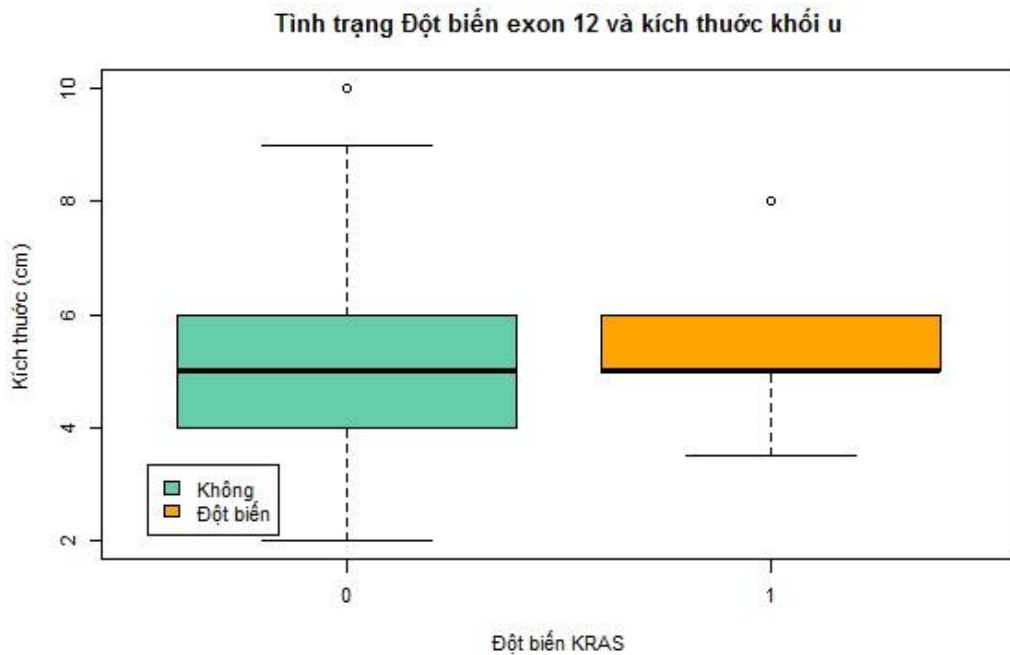
3.2.5.1 Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và kích thước khối u



Biểu đồ 3.10: Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và kích thước u

Nhận xét: Phân bố kích thước khối u trong 2 nhóm là như nhau với giá trị trung bình đều bằng 5 cm, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

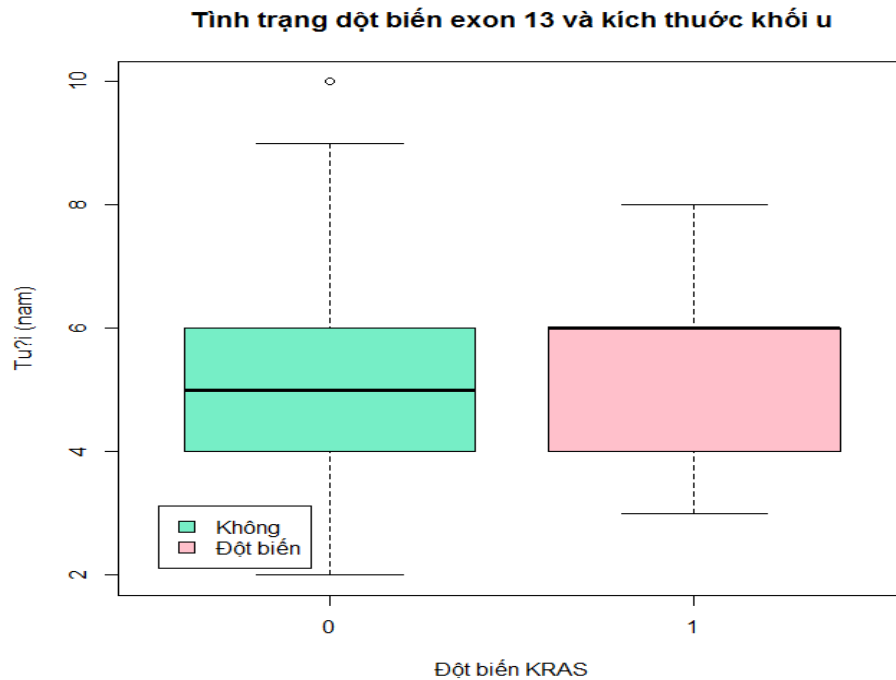
3.2.5.2. Tình trạng đột biến gen KRAS tại codon 12 và kích thước khối u



Biểu đồ 3.11: Phân bố kích thước khối u theo đột biến codon 12 gen KRAS

Nhận xét: Nhóm bệnh nhân có đột biến KRAS tại codon 12 có 95% các khối u có kích thước từ 5 - 6 cm, nhóm bệnh nhân không có đột biến có đột biến gen KRAS tại codon 12 có 95% các khối u có kích thước từ 4 - 6 cm. Tuy nhiên sự khác biệt về kích thước khối u ở 2 nhóm là không có ý nghĩa thống kê với giá trị trung bình đều là 5 cm và $p > 0,05$.

3.2.5.3. Tình trạng đột biến gen *KRAS* tại codon 13 và kích thước khối u



Biểu đồ 3.12: Phân bố kích thước khối u theo đột biến codon 13 gen *KRAS*

Nhận xét: Giá trị trung bình kích thước khối u trong nhóm có đột biến gen *KRAS* tại codon 13 là 6 cm, trong khi nhóm không có đột biến là 5 cm. Tuy nhiên 95% bệnh nhân của từng nhóm đều có kích thước khối u nằm trong khoảng 4-6 cm. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

3.2.6. Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và độ ác tính

Bảng 3.23: Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS và độ ác tính

			Đột biến KRAS		Tổng số	OR	p
			Có	Không			
Độ ác tính	Thấp	n	20	33	53	1,21 CI95% (0,32-4,55)	0,77
		Tỉ lệ %	37,7	62,3	100,0		
	Cao	n	4	8	12		
		Tỉ lệ %	33,3	66,7	100,0		
Tổng	n	24	41	65			
	Tỉ lệ %	36,9	63,1	100,0			

Nhận xét: Nhóm độ ác tính cao có tỉ lệ đột biến gen KRAS ở cao hơn nhóm có độ ác tính thấp, làm tăng 21% nguy cơ đột biến gen, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê, $p = 0,77$

Bảng 3.24: Mối liên quan giữa tình trạng đột biến codon 12 gen KRAS và độ ác tính

			Đột biến codon 12		Tổng số	OR	p
			Có	Không			
Độ ác tính	Thấp	n	6	47	53	0,38 CI95% (0,08-1,82)	0,22
		Tỉ lệ %	11,3	88,7	100,0		
	Cao	n	3	9	12		
		Tỉ lệ %	25	75	100,0		
Tổng	n	9	56	65			
	Tỉ lệ %	13,8	86,2	100,0			

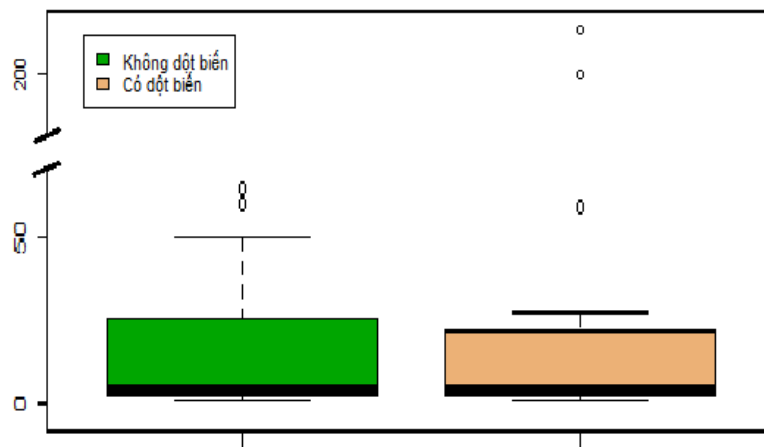
Nhận xét: Không có sự khác biệt giữa tỉ lệ đột biến codon 12 exon 2 gen KRAS ở nhóm độ ác tính cao và ở nhóm có độ ác tính thấp, $p = 0,22$.

Bảng 3.25: Mối liên quan giữa tình trạng đột biến codon 13 gen KRAS và độ ác tính

		Đột biến codon 13		Tổng số	OR	p	
		Có	Không				
Độ ác tính	Thấp	n	16	37	53	2,16 CI95% (0,42-11,0)	0,35
		Tỉ lệ %	30,2	69,8	100,0		
	Cao	n	2	10	12		
		Tỉ lệ %	16,7	83,3	100,0		
Tổng	n	18	47	65			
	Tỉ lệ %	27,7	72,3	100,0			

Nhận xét: Nhóm độ ác tính cao có tỉ lệ đột biến codon 13 exon 2 gen KRAS cao hơn tỉ lệ đột biến gen KRAS ở nhóm có độ ác tính thấp, tăng 2,16 lần nguy cơ đột biến gen KRAS codon 13 exon 2, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê, $p = 0,35$.

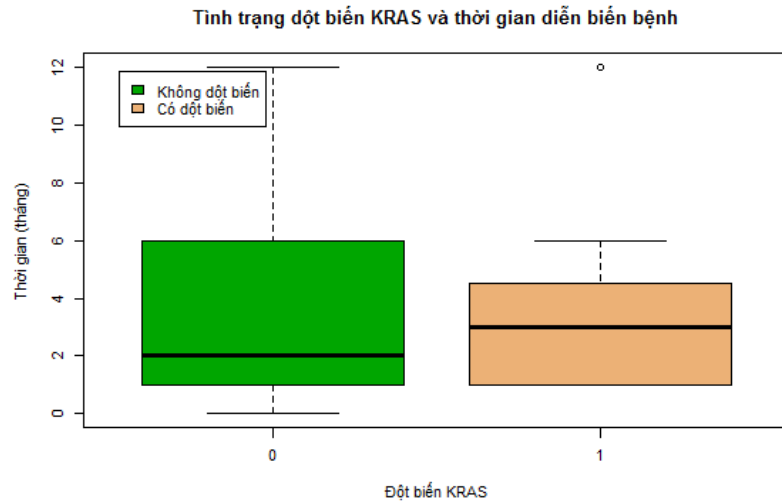
3.2.7. Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và nồng độ CEA



Biểu đồ 3.13: Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và nồng độ CEA

Nhận xét: Không có mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS và nồng độ CEA, với $p > 0,05$.

3.2.8. Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và thời gian diễn biến bệnh



Biểu đồ 3.14: Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS và diễn biến bệnh

Nhận xét: Đột biến gen KRAS xu hướng gặp ở những bệnh nhân có thời gian diễn biến bệnh lâu hơn, thể hiện qua thời gian diễn biến bệnh trung bình ở nhóm bệnh nhân có đột biến là khoảng 3 tháng, và thời gian này đối với nhóm không đột biến là 2 tháng. Tuy nhiên, đa số bệnh nhân của cả 2 nhóm đều được chẩn đoán trong thời gian 1 đến 5 tháng kể từ khi phát hiện bệnh, và sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

3.2.9. Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS và giai đoạn bệnh

Bảng 3.26: Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS và giai đoạn T

		Đột biến gen KRAS		Tổng số	OR	p	
		Có	Không				
Giai đoạn T	4	n	15	21	36	1,59 CI 95% (0,57-4,44)	0,38
		Tỉ lệ %	41,7	58,3	100,0		
	1,2,3	n	9	20	29		
		Tỉ lệ %	31,0	69,0	100,0		
Tổng	n	24	41	65			
	Tỉ lệ %	36,9	63,1	100,0			

Nhận xét: Giai đoạn T4 gặp tỉ lệ đột biến gen KRAS cao hơn 1,59 lần so với giai đoạn sớm T1,2,3. Tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê với $p = 0,38$.

Bảng 3.27: Mối liên quan giữa tình trạng đột biến codon 12 gen KRAS và giai đoạn T

		Đột biến codon 12		Tổng số	OR	p	
		Có	Không				
Giai đoạn T	4	n	8	28	36	8,0 CI 95% (0,94 -68,25)	0,057
		Tỉ lệ %	22,2	77,8	100,0		
	1,2,3	n	1	28	29		
		Tỉ lệ %	3,5	96,5	100,0		
Tổng	n	9	56	65			
	Tỉ lệ %	13,8	86,2	100,0			

Nhận xét: Giai đoạn T4 gặp tỉ lệ đột biến gen KRAS tại codon 12 cao hơn 8,0 lần so với giai đoạn sớm T1,2,3. Tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê với $p = 0,057$.

Bảng 3.28: Mối liên quan giữa tình trạng đột biến codon 13 gen KRAS và giai đoạn T

		Đột biến codon 13		Tổng số	OR	p	
		Có	Không				
Giai đoạn T	1,2,3	N	9	20	29	1,35 CI 95% (0,45 – 4,02)	0,59
		Tỉ lệ %	3,5	96,5	100,0		
	4	N	9	27	36		
		Tỉ lệ %	25,0	75,0	100,0		
Tổng	N	47	18	65			
	Tỉ lệ %	72,3	27,7	100,0			

Nhận xét: Đối với tỉ lệ đột biến ở codon 13 của gen KRAS, giai đoạn T1,2,3 có xu hướng gặp nhiều hơn giai đoạn T4 với $OR = 1,35$ tuy nhiên CI 95% (0,45-402) và $p = 0,59$, sự khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê.

Bảng 3.29: Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS và di căn hạch

		Đột biến gen KRAS			Tổng số	OR	p
		Có		Không			
		n	Tỉ lệ %	Tỉ lệ %			
Giai đoạn	N2	n	6	6	12	1,94 CI 95% (0,54-6,89)	0,3
		Tỉ lệ %	50,0	50,0	100,0		
N	N0,1	n	18	35	53		
		Tỉ lệ %	34,0	66,0	100,0		
Tổng		n	24	41	65		
		Tỉ lệ %	36,9	63,1	100,0		

Nhận xét: Nhóm di căn từ 4 hạch trở lên có tỉ lệ đột biến gen KRAS cao gấp 1,94 lần nhóm di căn ít hơn 4 hạch, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê CI 95% (0,54-6,89) và $p = 0,30$.

Bảng 3.30: Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS và di căn xa

		Đột biến gen KRAS			Tổng số	OR	p
		Có		Không			
		n	Tỉ lệ %	Tỉ lệ %			
Giai đoạn	Có	n	14	24	38	0,99 CI 95% (0,36 -2,75)	0,98
		Tỉ lệ %	36,8	63,2	100,0		
di căn xa	Không	n	10	17	27		
		Tỉ lệ %	37,0	63,0	100,0		
Tổng		n	24	41	65		
		Tỉ lệ %	36,9	63,1	100,0		

Nhận xét: Không có sự khác biệt về phân bố đột biến gen KRAS theo tình trạng di căn xa, với $p = 0,98$.

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

4.1. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG VÀ CẬN LÂM SÀNG

4.1.1. Tuổi và giới

Tuổi

Tuổi là một trong những yếu tố nguy cơ quan trọng trong ung thư đại trực tràng. Tuổi càng cao nguy cơ mắc căn bệnh này càng cao. Chính vì vậy theo Thomas J George có tới trên 90% UT ĐTT gặp ở tuổi sau 50 [105]. Trong nghiên cứu này chúng tôi thấy kết quả tương tự như vậy. Nhóm tuổi hay gặp là từ 50 – 69 tuổi, chiếm 70,8%. Tỷ lệ bệnh nhân trẻ trước tuổi 30 chỉ gặp 4,6%. Trong phạm vi nghiên cứu chúng tôi không có điều kiện khai thác thêm các yếu tố nguy cơ khác, đặc biệt liên quan giữa chế độ ăn, tình trạng dinh dưỡng, tình trạng thừa cân, béo phì, tình trạng kinh tế liên quan với UTĐTT. Hầu hết các công trình nghiên cứu trên thế giới đều thống nhất rằng chế độ ăn có nhiều chất xơ, ít chất béo có nguồn gốc từ động vật sẽ giảm được nguy cơ mắc bệnh và ngược lại. Người thừa cân, béo phì có nguy cơ mắc UTĐTT cao hơn so với người có chỉ số cơ thể (BMI) chuẩn. Tại Việt Nam, cùng với các thành tựu đạt được về kinh tế, xã hội và y tế, tính tới năm 2015 tuổi thọ trung bình của cả hai giới đã đạt tới 73,3 tuổi. Tuy nhiên, tỉ lệ mắc chuẩn theo tuổi (ARS) của UTĐTT ở nam giới tăng từ 11,4/100.000 năm 2000 lên tới 19,0/100.000 năm 2010. Tỷ lệ này tương ứng ở nữ giới tăng từ 8,3 năm 2000 lên 14,7 năm 2010. Bên cạnh đó đối với UTĐTT nhiều yếu tố nguy cơ khác cũng được đề cập tới là hội chứng đa polyp đại trực tràng gia đình (Familial Adenomatous Polyposis-FAP), thiếu một số vi chất như folate, vitamin E, vitamin D...

Trần Văn Hợp và CS tiến hành nghiên cứu trên 140 trường hợp UTĐTT đi tới kết luận bệnh có xu hướng tăng dần theo tuổi, chiếm tỉ lệ cao (92,9%) từ tuổi 40 trở lên ở chung cả hai giới [106]. Tác giả cũng thấy tương tự như vậy khi phân tích riêng cho từng giới. Phan Văn Hạnh năm 2004 tiến hành nội soi trên 35 trường hợp UT đại tràng cho kết quả gặp phần lớn ở độ tuổi sau 40 và đỉnh cao của tỉ lệ mắc ở khoảng 50 tuổi [107].

UTĐTT là bệnh UT được quan tâm ở nhiều nghiên cứu trong và ngoài nước. Trần Quốc Tiến (2007) nội soi trên 107 bệnh nhân UTĐTT và 96 trường hợp polyp đại trực tràng cho kết quả tuổi trung bình mắc ở cả hai giới là 53,6 [108]. Nghiên cứu của Nguyễn Quang Hùng chỉ tiến hành ở các bệnh nhân UT trực tràng thấy có tới 95,6% mắc ở độ tuổi từ 40 trở lên [109]. Một nghiên cứu do Nguyễn Văn Hiếu công bố năm 2002 được tiến hành trên 78 bệnh nhân UT trực tràng tại Khoa ngoại tổng hợp Bệnh viện K từ 1993-1997 cho kết quả tỉ lệ mắc ở sau độ tuổi như vậy là 83,2% [110].

Các tác giả nước ngoài cũng cho kết quả tương tự.

Theo McFarlane và CS (2004), tuổi mắc bệnh trung bình là 65,5 [111]. Theo kết quả nghiên cứu Fuszek và CS (2006), tuổi mắc bệnh trung bình là $65,2 \pm 12,5$ [111-112]. Theo Benson A.B (2007), tuổi trên 50 là nguy cơ cho UTĐTT [113]. Theo Mayer R.J (2007), UTĐTT hay xảy ra ở tuổi trên 50 [114].

Từ các kết quả trên cũng như kết quả nghiên cứu của chúng tôi, có thể khẳng định tuổi là yếu tố quan trọng trong đánh giá nguy cơ mắc UTĐTT. Đây là một thông tin làm cơ sở góp phần xây dựng chiến lược sàng lọc UTĐTT ở nước ta chủ yếu tập trung vào nhóm đối tượng từ 50 – 69 tuổi.

Giới

Trừ các loại ung thư đặc thù theo giới, nhìn chung số lượng mắc nhiều loại ung thư ở nam cao hơn nữ. Theo công bố của Cơ quan nghiên cứu ung thư

quốc tế (International Agency For Research on Cancer-IARC) năm 2016 cho thấy mỗi năm trên toàn cầu có khoảng 14.067.000 người mới mắc UT, trong đó số ca mới mắc ở nam giới là 7.410.000 và ở nữ giới là 6.660.000. Tính riêng cho UTĐTT cho thấy mỗi năm trên toàn thế giới có 1.360.602 ca mới mắc chiếm tỉ lệ 9,7% và 693.933 ca tử vong chiếm 8,5% tỉ lệ chết do ung thư. Kết quả của IARC cũng chỉ ra rõ số ca mới mắc và tử vong ở nam giới đều cao hơn so với nữ. Ở nam giới số ca UTĐTT mới mắc và tử vong là 746.298; 373.639. Tương tự như vậy con số này ở nữ là 614.304 và 320.294 [3].

Kết quả này không có sự khác biệt so với nghiên cứu của chúng tôi.

Nhiều tác giả trong và ngoài nước đều có chung nhận định là tỉ lệ mắc UTĐTT ở nam cao hơn nữ. Trần Thắng nghiên cứu trên 137 trường hợp UTĐTT tại Bệnh viện K cho tỉ lệ gặp ở nam nhiều hơn nữ tương ứng là 1,3/1 [115]. Tính riêng các trường hợp ung thư trực tràng, Đặng Thị Kim Phượng tiến hành nghiên cứu ở 87 trường hợp cho kết quả về tương quan tỉ lệ mắc nam/nữ là 1,4 [116]. Bùi Ánh Tuyết và CS khi tiến hành ứng dụng nội soi NBI trong chẩn đoán polyp và UTĐTT trên 72 trường hợp có kết quả về tỉ lệ mắc nam/nữ là 1,12 (38/34) [117].

Tuy nhiên trên thực tế có một số kết quả nghiên cứu trên số lượng nhỏ cho tỉ lệ mắc UTĐTT theo giới không đồng thuận với tỉ lệ trên. Trong số này phải kể tới nghiên cứu của Phan Văn Hạnh cho tỉ lệ nam/nữ lên tới 1,98 (nam 66,4% so với nữ 33,6%) [107]. Nghiên cứu của Đào Thị Thanh Bình lại cho tỉ lệ nam/nữ tương ứng là 1/1 [118]. Trong khi đó nghiên cứu của Lê Quang Minh năm 2012 lại cho tỉ lệ mắc ở nữ nhiều hơn nam với tỉ lệ nam/nữ là 0,93 [119]. Sở dĩ có sự khác biệt này theo chúng tôi là do các nghiên cứu trên mới tiến hành trên phạm vi hẹp với mục tiêu nghiên cứu chủ yếu là đánh giá bước đầu, mẫu chưa đủ lớn nên sự khác biệt ít có ý nghĩa.

Theo GLOBOCAN năm 2012, mỗi năm ước tính có khoảng 746.000 ca mới mắc ở nam giới và có khoảng 614.000 ca mới mắc ở nữ giới, khi đó tỉ lệ nam/nữ là 1,2/1 [1]. Ở Mỹ, tỉ lệ mới mắc ở nam cao hơn ở nữ khoảng 25% [120].

4.1.2. Thời gian từ khi có triệu chứng đầu tiên đến khi nhập viện

Khoảng thời gian này hoàn toàn phụ thuộc vào bệnh nhân, ý thức về bệnh tật và sức khỏe của chính người bệnh, phụ thuộc vào kinh tế, điều kiện, hoàn cảnh của gia đình của người bệnh và sự tuyên truyền giáo dục về sức khỏe trong cộng đồng.

Trong chẩn đoán và điều trị bệnh ung thư, việc phát hiện sớm bệnh có ý nghĩa rất quan trọng trong điều trị và tiên lượng bệnh, đem đến một điều trị triệt căn cho bệnh nhân, có thể nói thời gian mắc bệnh liên quan chặt chẽ đến giai đoạn bệnh. Bệnh ung thư ở giai đoạn sớm có thể chữa khỏi hoàn toàn. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy thời gian sống thêm của bệnh nhân giảm dần theo thời gian và ngược lại, tỉ lệ tái phát, di căn tăng dần.

Trong nghiên cứu của chúng tôi đa số các BN đến khám bệnh sau khi có triệu chứng đầu tiên ≤ 6 tháng (92,3%) trong đó 49,2% số BN đến khám bệnh trong 3 tháng đầu tiên khi có các triệu chứng bất thường. Điều này chứng tỏ trình độ dân trí ngày càng tiến bộ, bệnh nhân đến khám bệnh tại các cơ sở y tế sớm. Bên cạnh đó, vẫn còn một tỉ lệ bệnh nhân có thời gian phát hiện bệnh trên 6 tháng (7,7%) chứng tỏ còn tồn tại một bộ phận người dân nhận thức về sức khỏe và bệnh tật thấp.

Hiện nay với sự hiểu biết và quan tâm về bệnh tật cũng như có sự trợ giúp của nhiều phương tiện truyền thông giáo dục sức khỏe nên đa số các BN đến khám bệnh ngay sau khi có các triệu chứng bất thường và các thầy thuốc ở tuyến trước ngày càng có ý thức hơn trong việc thăm khám trực tràng khi có bệnh nhân đến khám bệnh với lý do đại tiện phân nhày máu.

4.1.3. Đặc điểm lâm sàng

Trên thực tế lâm sàng, các triệu chứng của UTĐTT tương đối đa dạng tùy thuộc vào nhiều yếu tố trong đó có vị trí u, giai đoạn bệnh... Theo Bùi Diệu và CS, UTĐTT thường phát triển âm thầm không có triệu chứng đặc hiệu. Các triệu chứng cơ năng hay gặp là đi ngoài phân nhày máu, đau bụng dai dẳng, kéo dài. Các triệu chứng thực thể thường là u bụng, vàng da [52].

Vị trí đau thường tại vị trí u, tính chất đau thường đa dạng, có thể đau âm ỉ hoặc đau quặn từng cơn khi BN đến muộn. Đối với UTĐT phải, triệu chứng lâm sàng thường nghèo nàn, nên bệnh thường phát hiện ở giai đoạn muộn khi các triệu chứng toàn thân đã rõ. Đối với ung thư trực tràng, thường BN có triệu chứng đau tức vùng hạ vị, hậu môn trực tràng. Nói chung triệu chứng đau bụng thường không đặc hiệu nên thường bị bỏ qua.

Đi ngoài ra máu là triệu chứng có ý nghĩa định hướng chẩn đoán UTĐTT. Máu trong phân là do nguyên nhân chảy từ khối u, chảy máu vi thể sẽ chỉ được phát hiện bằng xét nghiệm tìm máu tiềm ẩn trong phân. Khi số lượng máu lớn hơn sẽ nhìn thấy bằng mắt thường, triệu chứng đi ngoài ra máu thường gặp đối với khối u ở đại tràng trái, trực tràng hơn ở đại tràng phải.

Trong phạm vi nghiên cứu của mình, chúng tôi thấy đi ngoài ra máu và đau bụng là các triệu chứng cơ năng hay gặp nhất với các tỉ lệ tương ứng là 72,3% và 75,4%, kể đến là các triệu chứng cơ năng ít gặp hơn là táo bón 29,2%; bán tắc ruột 24,6% và tắc ruột 6,2%. Chúng tôi thấy mặc dù có nhiều nghiên cứu và các kết quả chưa có sự thống nhất vì triệu chứng đau bụng trong UTĐTT không có một qui luật rõ ràng về tính chất, cường độ và thời gian.

Nghiên cứu của Phan Văn Hạnh cho kết quả gần tương tự, tác giả thấy đau bụng là triệu chứng cơ năng hay gặp nhất, chiếm 84,2%, sau đó là đi ngoài nhày máu (65,8%), đi ngoài phân lỏng (28,9%) và đi ngoài phân táo

(19%) [107]. Nghiên cứu của một số tác giả khác như Lê Quang Minh lại có sự đánh giá triệu chứng cơ năng của bệnh theo cách nhìn khác, theo đó tác giả gặp nhiều nhất là thay đổi thói quen đại tiện 87,3%, cảm giác đi ngoài không hết phân 56,4%, đi ngoài khó 42,7%, phân táo 42,7%, phân lỏng 25,5%, sống phân 19,1%, chướng hơi 40% và đầy bụng 25,5% [119]. Nghiên cứu của Đào Thị Thanh Bình năm 2010 trên 45 bệnh nhân UTĐTT cho thấy các triệu chứng cơ năng xuất hiện với tần suất tương ứng là đau bụng 68,9%; đại tiện nhày máu 66,7%; rối loạn tiêu hóa 35,6% [118]. Nguyễn Văn Hiếu chỉ nghiên cứu đối với các trường hợp UT trực tràng cho thấy đau bụng là triệu chứng ít gặp hơn với tỉ lệ chỉ là 1,5% [110]. Các triệu chứng cơ năng khác gồm đi ngoài ra máu, đi ngoài máu nhày và nhày tương ứng là 49,3%; 39% và 6,3%.

Kết quả của các nghiên cứu chưa có sự thống nhất cao, bởi lẽ việc khai thác các triệu chứng cơ năng phụ thuộc vào lời khai của bệnh nhân nên chưa rất khó đánh giá chính xác.

Triệu chứng thực thể sờ thấy u bụng thường gặp ở giai đoạn bệnh tương đối muộn, trong nghiên cứu của chúng tôi u bụng gặp ở 33,8%. Nghiên cứu của Đào Thị Thanh Bình gặp tỉ lệ sờ thấy u bụng ít hơn là 28,9% [118]. Các nghiên cứu về UT trực tràng cho thấy, tỉ lệ gặp triệu chứng này rất thấp, theo tác giả Nguyễn Quang Hùng, tỉ lệ này là 2,2%; theo Nguyễn Văn Hiếu, tỉ lệ này là 2,9% [109],[110].

Do thói quen của người Việt Nam ít có ý thức về sàng lọc phát hiện sớm, hơn nữa các triệu chứng của bệnh không đặc hiệu nên tỉ lệ người bệnh UTĐTT tới khám và điều trị khi đã gày sút tương đối cao. Trong nghiên cứu này tỉ lệ gày sút gặp ở 32,2% số bệnh nhân. Gày sút cân gặp ít hơn ở các nghiên cứu của Đào Thị Thanh Bình: 28,9%, Trần Thắng: 29,2%. Sở dĩ có sự khác biệt này phần nhiều là do nghiên cứu của chúng tôi được tiến hành trên phần lớn bệnh nhân ở giai đoạn III, IV, chiếm 86,2% [115],[118].

Theo Moreno và cộng sự, các triệu chứng hay gặp trong bệnh UTĐTT bao gồm, chảy máu trực tràng (37%), đau bụng (34%), thiếu máu (23%), thay đổi thói quen đại tiện (1,3%) và một số triệu chứng khác [121]. Ở phương tây, các bệnh nhân còn được phát hiện rất nhiều qua các phương pháp sàng lọc, do đó tỉ lệ các bệnh nhân có triệu chứng lâm sàng thấp hơn ở Việt Nam.

4.1.4. Đặc điểm cận lâm sàng

4.1.4.1. Nội soi

Vị trí u

Trong tổng số 65 ca, vị trí u chủ yếu ở đại tràng chiếm 90,8%. Tỉ lệ gặp ung thư trực tràng chỉ chiếm 9,2%. Tuy nhiên, nếu theo một định nghĩa khác, đại tràng phải là đoạn đại tràng được quy ước bao gồm: Ruột thừa, manh tràng, đại tràng góc gan và đại tràng ngang. Đại tràng trái là đoạn đại tràng được quy ước bao gồm: đại tràng góc lách, đại tràng xuống, đại tràng sigma và trực tràng thì tỉ lệ u ở đại tràng trái là 72,3%, trong khi đó tỉ lệ u ở đại tràng phải là 27,7% [98]. Kết quả này cũng logic với chiều dài của mỗi đoạn đại tràng và trực tràng theo khung giải phẫu.

Nguyễn Đại Bình qua theo dõi đánh giá thời gian sống thêm sau điều trị UTĐTT tại Khoa ngoại Tam Hiệp Bệnh viện K cho thấy gặp 37% ở đại tràng lên, 10% ở đại tràng ngang, 17% ở đại tràng xuống, và 42% ở đại tràng sigma. Tỉ lệ gặp ung thư trực tràng là 36,5% [122]. Một công trình do Bùi Diệu và CS tiến hành năm 2013 trên mẫu tương đối lớn trên 451 bệnh nhân UT đại tràng cho kết quả ở manh tràng 7%; đại tràng lên 3,8%; đại tràng góc gan 8,2%; đại tràng ngang 15,3%; đại tràng góc lách 12%; đại tràng xuống 22,8% và đại tràng sigma 42,4%. Cùng năm 2013, một nghiên cứu khác do Bùi Ánh Tuyết và CS tiến hành cho kết quả khác biệt tương ứng là: đại tràng xuống và góc lách 19,4%; đại tràng phải 16,7%; đại tràng ngang 19,4%; đại

tràng sigma 18,1%; trực tràng cao 8,3%; trực tràng trung bình 1,8%; nhiều vị trí 13,9%. Nghiên cứu của tác giả Lê Quang Minh đưa ra kết luận UT trực tràng và đại tràng sigma gặp chủ yếu, chiếm tới 70% [119]. Trong khi nghiên cứu của Nguyễn Văn Hiếu cho tỉ lệ gặp ở trực tràng 57,3%; đại tràng sigma 12,7%; đại tràng lên 10%; góc gan 8,2% [110]. Thực tế trong quá trình thao tác chuyên môn, đôi khi rất khó khăn trong việc xác định chính xác vị trí, đặc biệt các vị trí ở ranh giới giữa hai vị trí giải phẫu, do đại tràng dài, bị xoắn. Các căn cứ để xác định vị trí như các vạch trên ống nội soi, vị trí đèn soi trên thành bụng có khi vẫn không thực sự chính xác vì sự di động của đại tràng. Chính vì vậy, nội soi không phải là phương pháp chẩn đoán chính xác tuyệt đối vị trí u. Theo Phan Văn Hạnh, đối chiếu 152 trường hợp vị trí u giữa nội soi và phẫu thuật, tác giả thấy độ chính xác vị trí u qua nội soi là 86,8% [108].

Tuy nhiên, trong phạm vi nghiên cứu này, việc nội soi được tiến hành bởi đội ngũ nhiều kinh nghiệm nên kết quả của nghiên cứu có đủ độ tin cậy. Bệnh sinh và bệnh nguyên của ung thư đại tràng, trực tràng ở các vị trí là như nhau, trừ ung thư ống hậu môn có một số đặc điểm khác như liên quan tới HPV, quan hệ tình dục đồng tính... Như vậy, chúng ta có thể suy luận rằng, mặc dù kết quả nghiên cứu về vị trí u trong UTĐTT của nhiều tác giả chưa có tính thống nhất cao nhưng có thể cho rằng tỉ lệ hay gặp tùy thuộc vào chiều dài theo giải phẫu của các đoạn.

Thể u

Theo Lê Quang Minh trong các thể u của UTĐTT hay gặp nhất là thể sùi chiếm 53,6%, kế đến thể phối hợp sùi loét 32,7%; thâm nhiễm 7,3%; thể loét 5,5% và thể nhẵn 0,9%. Như vậy theo tác giả thể sùi và sùi loét gặp với tỉ lệ cao tới 86,3%. Các thể khác chiếm tỉ lệ thấp [119]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi gặp với tỉ lệ sùi 33,8%; loét sùi 35,4%; loét sùi thâm nhiễm 16,9%, ít gặp hơn 2 thể đơn độc thâm nhiễm và loét tương ứng là 7,7% và 6,2%.

Hầu hết các kết quả nghiên cứu đều phù hợp với 2 nghiên cứu trên. Theo tác giả Trần Văn Hợp (2002), UTĐTT thể sùi 54,8%; Hoàng Kim Ngân (2006) thể sùi đơn thuần và sùi loét kết hợp là 85,1%; Nguyễn Văn Hiếu (2002) cho kết quả thể sùi 55,5%; sùi-loét 25,5%; thâm nhiễm 10% và loét 2,7%; Vi Trần Doanh (2005) thể sùi 60,3%; sùi loét 26%; thâm nhiễm 9%; loét 1% [106],[110]. Nghiên cứu của Phan Văn Hạnh lại cho tỉ lệ thể sùi chiếm ưu thế tới 74,4% sau đó tới thể thâm nhiễm 4,6% và thể loét 2,6% [107]. Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Quang Thái cho tỉ lệ sùi và loét tương ứng là 61,5% và 28,5%, so với Lê Đình Roanh thì tỉ lệ sùi thấp hơn chỉ có 47,1%, loét cao hơn chiếm tỉ lệ 31,1% [123],[124]. Trần Thắng (2012) cũng cho kết quả thể sùi là chủ đạo với tỉ lệ 49,6%; loét 30,7%; thâm nhiễm 7,3% [115]. Nguyễn Văn Lê (2008) qua phẫu thuật nội soi 79 trường hợp UT đại tràng tại Bệnh viện Việt Đức cho kết quả thể sùi loét gấp 87,3%; thể loét 1,2% [125]. Theo Nguyễn Thanh Tâm (2010), thể sùi gấp 58,4%; thể loét 30,3% [118].

Theo Hamilton S.R và Volgelstein (1999), thể sùi thường phát triển vào trong lòng đại tràng, thể loét ưu thế phát triển trong thành đại tràng, thể thâm nhiễm ưu thế phát triển trong thành đại tràng theo chu vi [126]. Ung thư đại tràng phải thường là thể sùi, trong khi ung thư ở vị trí đại tràng ngang, đại tràng trái hay gấp hơn thể thâm nhiễm. Về tiên lượng, ung thư đại tràng thể thâm nhiễm chít hẹp hay gây tắc ruột nên thường có tiên lượng xấu hơn [115].

Như vậy kết quả của các nghiên cứu còn nhiều điểm chưa thống nhất, nhưng nhìn chung đối với tổn thương UTĐTT trên đại thể hay gấp là thể sùi và thể sùi kết hợp với loét.

Đặc điểm kích thước u theo chu vi

Mức độ lan rộng của khối u so với lòng đại trực tràng phản ánh sự phát triển của ung thư theo thời gian và là yếu tố tiên lượng độc lập với thời gian sống thêm của bệnh nhân. Kết quả của Lê Quang Minh cho thấy kích thước u gặp theo thứ tự là loại 3/4 chu vi chiếm 37,3%; toàn bộ chu vi chiếm 26,4%; 1/2 chu vi chiếm 22,7% và loại 1/4 chu vi chiếm 13,6% [119]. Vì Trần Doanh (2005) nghiên cứu kích thước u thấy loại 1/4 chu vi chiếm 3,9%; 1/2 chu vi chiếm 22,9%; loại 3/4 chu vi chiếm 33,8% và loại chiếm toàn bộ chu vi là 33,8% [124]. Nghiên cứu của chúng tôi thu được với các tỉ lệ chiếm 1/4; 1/3; 3/4, và toàn bộ chu vi tương ứng là 4,6%; 10,8%; 49,2% và 35,4%.

Chúng tôi cho rằng kích thước u giữa các nghiên cứu có sự khác nhau vì phụ thuộc vào thời gian phát hiện u sớm hay muộn và còn tùy thuộc vào nhiều yếu tố như vị trí u và thể u. Lòng đại trực tràng chắc chắn dễ chít hẹp hơn với thể sùi do có xu hướng phát triển theo thành và lòng của đại trực tràng. Trong khi đó thể loét có xu hướng gây hẹp lòng ruột sẽ hạn chế hơn so với thể sùi. Từ thực trạng của nhiều nghiên cứu có thể thấy, chúng ta gặp tỉ lệ người bệnh khi u mới chít hẹp dưới 1/3 hoặc 1/2 chu vi là rất thấp và ngược lại, tỉ lệ u lan rộng hơn 3/4 chu vi hoặc toàn bộ lòng trực tràng nhiều hơn, chiếm trên 70%. Trên thực tế, khi kích thước u lan rộng từ 3/4 chu vi trở nên thì việc đánh giá chính xác đôi khi rất khó do nội soi chỉ tiếp cận được một phần u phía đèn soi và không thể đánh giá hết độ lan rộng của khối u, nhất là phía trên đèn soi không tiếp cận được.

Kết quả này thể hiện ý thức của người bệnh trong công tác phòng chống ung thư nói chung và UTĐTT nói riêng còn nhiều hạn chế. Chương trình quốc gia phòng chống ung thư và các dự án liên quan cần quan tâm hơn nữa tới công tác tuyên truyền để người dân và cộng đồng không những có kiến thức cần thiết để phòng tránh mà còn có ý thức trong việc sàng lọc

và phát hiện sớm bệnh ung thư. Cụ thể với UTĐTT chỉ cần thao tác đơn giản như thăm khám trực tràng bằng tay, xét nghiệm máu tiềm ẩn trong phân (FOB), soi đại trực tràng ống mềm, chúng ta hoàn toàn có thể phát hiện sớm và chữa khỏi căn bệnh này.

Trong tổng số 65 ca bệnh được thăm khám nội soi có tới 55,4% tác giả và nhóm nghiên cứu không thể đưa được ống soi mềm đi qua do u đã chiếm hầu hết lòng đại trực tràng và một số trường hợp u ở vị trí khó và có nguy cơ thủng đại trực tràng nếu cố gắng đưa ống nội soi qua. Ngược lại, chỉ có 44,6% đưa ống soi qua được, trong đó 20% đưa qua dễ và 24,6% đưa ống qua được nhưng chậm phải kết hợp khéo léo giữa kỹ thuật soi và ép ngoài. Kết quả này phù hợp với giai đoạn và thể u trong nghiên cứu, do phần lớn gặp thể sùi, trên 70% chít hẹp quá 3/4 chu vi và phần nhiều là thể sùi và thể kết hợp sùi-loét.

Giá trị của nội soi trong chẩn đoán ung thư đại trực tràng

Nội soi đóng vai trò là phương pháp chủ đạo trong chẩn đoán UTĐTT, không những vậy đây còn là phương pháp quyết định chẩn đoán khi kết hợp với sinh thiết làm mô bệnh học. Bên cạnh đó, các đối tượng đưa vào nghiên cứu này đều có các triệu chứng trên lâm sàng, không phải các đối tượng đến khám sàng lọc, chính vì vậy khi tiến hành nội soi đã phát hiện được 100% tổn thương do ung thư.

Đối với các phương pháp cận lâm sàng khác, nhất là chẩn đoán hình ảnh thường tổn thương tới kích thước nhất định mới phát hiện ra được. Ngoài ra kinh nghiệm, sự cẩn thận của người bác sỹ tiến hành cũng đóng vai trò quan trọng trong việc phát hiện khối tổn thương. Bên cạnh đó, về tổn thương trên đại thể chúng ta thấy có các loại tổn thương chính là u thể sùi, thể loét, thể thâm nhiễm, thể phối hợp. Như vậy các tổn thương thể loét, thể thâm nhiễm nếu chưa đủ lớn sẽ khó phát hiện trên chẩn đoán hình ảnh. Chính vì

vậy tỉ lệ phát hiện u qua thăm khám bằng siêu âm và chụp cắt lớp vi tính chỉ đạt tỉ lệ tương ứng là 67,7% và 72,3%.

Nội soi đại trực tràng là phương pháp tốt nhất để chẩn đoán xác định ung thư đại trực tràng, giúp quan sát tổn thương tại chỗ, chẩn đoán hình thái đại thể của khối u qua đó định hướng chẩn đoán xác định, nội soi giúp sinh thiết tổn thương để chẩn đoán xác định bằng mô bệnh học. Nghiên cứu trên 9.223 bệnh nhân, Pikhardt và cộng sự báo cáo độ nhạy của nội soi là 94,7 - 96,1% [127]. Tương tự như vậy, tác giả Rex và CS tiến hành nghiên cứu ở Ấn Độ trên 2.193 bệnh nhân ung thư đại trực tràng, độ nhạy của nội soi là 95% [128]. Một nghiên cứu khác được tiến hành ở Canada được thực hiện bởi Bressler và CS trên 3.228 bệnh nhân ung thư đại tràng trái, 777 bệnh nhân ung thư đại tràng ngang, 710 bệnh nhân ung thư đại tràng xuống, 7.712 bệnh nhân ung thư đại tràng sigma và trực tràng, tỉ lệ chẩn đoán đúng của nội soi theo vị trí lần lượt là 94,1%; 94,5%; 97,9% và 97,7% [129].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, nội soi giúp chẩn đoán chính xác tất cả 65 bệnh nhân, độ nhạy đạt 100%. Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu trên thế giới đã được liệt kê ở trên.

4.1.4.2. Chẩn đoán hình ảnh

Giá trị của chẩn đoán hình ảnh trong phát hiện di căn hạch

Một trong những đặc điểm quan trọng của UTĐTT là di căn hạch bạch huyết. Di căn hạch trước hết xảy ra với những hạch quanh ruột ở vị trí gần với khối u, sau đó mới lan đến những hạch ở mạc treo đại trực tràng, tiếp đến là những hạch ở sau phúc mạc.

Trong tổng số 65 ca được đưa vào nghiên cứu, có 25 bệnh nhân được phẫu thuật và kết quả mô bệnh học sau đó khẳng định có di căn hạch vùng. Mặc dù kết quả trả lời sau mổ không ghi nhận rõ kích thước của từng hạch.

Tuy nhiên trên thực tế khi đánh giá tổng thể trước khi phẫu thuật và đối chiếu lại kết quả 36 bệnh nhân di căn hạch chúng tôi nhận thấy, chụp cắt lớp vi tính phát hiện ra được 11 ca chiếm tỉ lệ 44% và siêu âm phát hiện được 6 trường hợp chiếm tỉ lệ 24%.

Nguyễn Hoàng Minh và CS tiến hành đánh giá độ xâm lấn tại chỗ và di căn hạch tiểu khung trên 62 trường hợp ung thư biểu mô tuyến trực tràng bằng cộng hưởng từ (MRI) 1.5 tesla cho thấy độ nhạy, độ đặc hiệu, độ chính xác của phương pháp này trong chẩn đoán u khu trú tại chỗ hay xâm lấn tổ chức xung quanh là 89,4%, 91,6% và 90,3%. Nghiên cứu của tác giả cũng cho nhận định độ nhạy, độ đặc hiệu, độ chính xác trong chẩn đoán di căn hạch vùng của phương pháp là 85%; 81,8% và 83,8% [130]. Kết quả này cao hơn nhiều so với kết quả của chúng tôi bởi lẽ đây là phương pháp hiện đại, cập nhật, chi phí cao, khó tiến hành rộng rãi như CLVT và siêu âm, hơn thế nữa, đối tượng nghiên cứu của chúng tôi bao gồm cả bệnh nhân ung thư đại tràng, ở nhóm bệnh nhân này, chẩn đoán di căn hạch gặp nhiều khó khăn hơn đối với bệnh nhân ung thư trực tràng.

Theo các tác giả nước ngoài, độ nhạy của cắt lớp vi tính trong chẩn đoán di căn hạch dao động từ 45 – 73% tùy theo kết quả của từng nghiên cứu. Đồng thời, các tác giả cũng cho rằng cắt lớp vi tính đánh giá di căn hạch do ung thư trực tràng tốt hơn di căn hạch do ung thư đại tràng [131],[132].

Cộng hưởng từ ra đời vào năm 1986 tới nay đã có nhiều nghiên cứu so sánh độ chính xác của cộng hưởng từ trong chẩn đoán giai đoạn UT trực tràng so với các phương pháp khác như CLVT. Tiêu chuẩn di căn hạch trên cộng hưởng từ vẫn là câu hỏi với các bác sĩ chẩn đoán hình ảnh vì chưa đạt được đồng thuận giữa các tác giả. Kim và CS cho rằng hình ảnh hạch di căn có tính chất đồng âm, bờ không đều, hoặc kích thước hạch trên 1cm. Brown thì quan niệm kích thước hạch không phải là yếu tố dự báo di căn mà tính chất tăng tín

hiệu hay bờ không đều mới có giá trị chẩn đoán hạch di căn. Tại thời điểm hiện nay vẫn cần có những nghiên cứu tiếp theo để chuẩn hóa hình ảnh di căn hạch trên cộng hưởng từ [133],[134].

Về vai trò của MRI trong đánh giá di căn hạch, theo tác giả Al-Sukhni và CS phân tích gộp từ 12 nghiên cứu lớn trên 1.249 bệnh nhân, độ nhạy, độ đặc hiệu lần lượt là 77% và 71% [135].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, số lượng bệnh nhân còn hạn chế, trong đó ung thư đại tràng chiếm đa số, do vậy chúng tôi chưa đi sâu đánh giá vai trò của MRI trong đánh giá mức độ xâm lấn của khối u và mức độ di căn hạch.

Giá trị của chẩn đoán hình ảnh trong phát hiện di căn xa

Đối với UTĐTT nói riêng và các loại UT nói chung, khi đã di căn lan tràn thường được sử dụng biện pháp điều trị chính là toàn thân. Tuy nhiên đối với UTĐTT nếu có di căn gan, nhất là di căn đơn ổ, nhiều hướng dẫn chẩn đoán và điều trị các nước trong đó có Việt Nam vẫn khuyến cáo phẫu thuật cắt đại trực tràng kết hợp với cắt khối di căn gan. Đây cũng là kết quả nghiên cứu của nhiều thử nghiệm lâm sàng. Trong nghiên cứu của chúng tôi có 38 bệnh nhân đã có di căn xa, đối chiếu lại với các chẩn đoán trước mổ cho thấy, cả 2 phương pháp siêu âm và cắt lớp vi tính đều cho giá trị khiêm tốn trong chẩn đoán di căn xa. Siêu âm phát hiện được 65,8% bệnh nhân di căn còn cắt lớp vi tính phát hiện được 63,2%. Các bệnh nhân tham gia nghiên cứu của chúng tôi, gặp chủ yếu 2 vị trí di căn chính là di căn gan và di căn phúc mạc, đây cũng là 2 vị trí di căn chính của ung thư đại tràng. Với những tổn thương di lớn thì cả 2 phương pháp siêu âm và cắt lớp vi tính đều không khó để chẩn đoán, tuy nhiên đối với các tổn thương di căn gan nhỏ thì cắt lớp vi tính với độ phân giải thấp (8 hay 16 dãy) sẽ gặp khó khăn để chẩn đoán, trong khi siêu âm lại dễ chẩn đoán hơn.

Theo tác giả Trần Xuân Vĩnh nghiên cứu trên 48 bệnh nhân UTĐTT ở giai đoạn muộn, CLVT giúp phát hiện 83,3% số bệnh nhân có di căn xa [136]. Cũng tương tự như vậy, theo các tác giả Thoeni (1997), McAndrew (1999), độ nhạy của CLVT trong việc phát hiện các tổn thương di căn xa dao động trong khoảng 75 tới 87% [131],[132].

4.1.4.3. Xét nghiệm máu – nồng độ CEA

Trong 65 bệnh nhân được chẩn đoán UTĐTT có 58,5% bệnh nhân ở giai đoạn IV; 41,5% ở giai đoạn I; II; III với tỉ lệ tương ứng lần lượt là 3,1%; 16,9% và 21,5%. Tất cả các bệnh nhân này đều được định lượng nồng độ CEA trước điều trị, tuy nhiên tỉ lệ bệnh nhân có nồng độ dưới 5 ng/mL chiếm tỉ lệ 56,9%, điều này có nghĩa, nếu sử dụng CEA để phát hiện UTĐTT có thể bỏ sót nhiều trường hợp. Theo Su BB và cộng sự độ nhạy của nồng độ CEA đối với các UTĐTT là 37%, đối với giai đoạn I,II,III lần lượt là 21,4%, 38,9% và 41,7% [137]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của chúng tôi nồng độ CEA ghi nhận từ 0,5 ng/mL đến 1001 ng/mL, đối với những bệnh nhân có nồng độ CEA cao, đối chiếu với nghiên cứu của Su BB, nồng độ CEA cao gặp ở 75% bệnh nhân di căn [137].

4.1.4.4. Mô bệnh học

Thể giải phẫu bệnh

Phần lớn ung thư biểu mô đại trực tràng là ung thư biểu mô tuyến. Trong nghiên cứu này, chúng tôi phân loại mô học theo WHO 2000. Bảng phân loại mô học dưới đây được Resdton và CS (2009) giới thiệu bao gồm cả các tít mô học không được phân loại WHO 2000 ghi nhận [138]:

Bảng 4.1: Phân loại typ mô học theo WHO

Typ mô bệnh học	Typ ghi nhận bởi WHO	Tỷ lệ %
UTBM tuyến	Có	85 – 90
UTBM tuyến chế nhày	Có	8 – 10
UTBM tế bào nhẵn	Có	2
UTBM tủy	Có	1
UTBM tuyến vảy	Có	< 1
UTBM tế bào vảy	Có	< 1
UTBM không biệt hóa	Có	< 1
UTBM carcinoid hỗn hợp	Có	< 0,1

Theo Thomas, với UTĐTT thể mô bệnh học chính là UTBM tuyến khoảng trên 90%, còn lại là một số thể khác gồm thể tế bào nhỏ, u lympho ác tính không Hodgkin, carcinoid, sarcoma Kaposi's... Tuy nhiên theo Trần Thắng thì tỉ lệ UTBM tuyến chiếm 77,4%; UTBM chế nhày 22,6% [115]. Kết quả cũng thấy tương tự qua nghiên cứu của Lê Đình Roanh và Ngô Thu Thoa cho tỉ lệ UTBM tuyến là 79,6%; tuyến chế nhày chiếm 13,6% [139]. Một nghiên cứu được tiến hành tại Hoa Kỳ năm 1999 bởi Stanley R Hamilton cho kết quả UTBM tuyến chiếm đa số tới 80%; UTBM chế nhày 11% [126]. Tác giả cũng có nhận định UTBM chế nhày hay gặp ở đại tràng sigma, khi phát hiện ở giai đoạn muộn và thường có tiên lượng xấu, ít nhạy cảm với hóa trị.

Nghiên cứu của Bùi Diệu và CS (2013) cũng cho rằng UTBM tuyến là thể mô học phổ biến nhất với tỉ lệ 75,2%, kế đến là UTBM tuyến nhày 18%, khác là 6,8% [52]. Theo Lê Quang Minh (2012) thì UTBM biệt hóa vừa chiếm 68,2%, biệt hóa cao chiếm 21,8%, biệt hóa thấp chiếm 5,5%, UTBM tuyến nhày chiếm 3,6% và UTBM tuyến vảy chiếm 0,9% [119]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đối phù hợp với các tác giả trên với tỉ lệ

UTBM tuyến là 84,6%, UTBM tuyến chế nhày 13,9%, UTBM tuyến không biệt hóa 1,5%.

Theo Hoàng Kim Ngân (2006), các hình thái mô bệnh học hay gặp trong UTĐTT là UTBM biệt hóa cao chiếm 35,8%, biệt hóa vừa chiếm 44,78%, biệt hóa kém chiếm 2,99% [107]. Theo Chu Văn Đức, Đặng Tiên Hoạt (2007) thì UTBM tuyến biệt hóa cao chiếm 16,3%, UTBM tuyến biệt hóa vừa chiếm 58,1%, UTBM tuyến biệt hóa thấp chiếm 7%, UTBM tuyến chế nhày chiếm 16,3% và UTBM tuyến không biệt hóa chiếm 2,3% [140]. Theo Fakheri H (2006) trong 153 bệnh nhân UTĐTT được nghiên cứu ở Iran có 63,7% là UTBM tuyến biệt hóa cao, 24,2% là biệt hóa vừa, 12,1% là không biệt hóa [141]. Nguyễn Văn Hiếu đánh giá trên 78 bệnh nhân riêng của ung thư trực tràng cho thấy UTBM tuyến chiếm tới 89,8% [110]. Theo Nguyễn Quang Hùng (2006) thì tỉ lệ UTBM tuyến là 86,5%. Trong đó tỉ lệ biệt hóa cao, biệt hóa vừa, kém biệt hóa tương ứng là 37,8%, 37,8% và 8,9%. Loại UTBM không biệt hóa chiếm 4,4%; biểu mô nhày chiếm 8,9% [109]. Theo Phạm Gia Khánh, UTBM tuyến chiếm trên 90% trong UTĐTT [142]. Theo Nguyễn Bá Đức, Nguyễn Tuyết Mai, Trần Thắng trong 68 bệnh nhân ung thư trực tràng được nghiên cứu có tới 85,3% là UTBM tuyến, 14,7% UTBM chế nhày [115].

Các tác giả trên thế giới cũng cho kết quả tương tự. Theo tác giả Masoomi và CS theo dõi từ năm 1994 đến năm 2004 nghiên cứu trên 111.263 bệnh nhân có giải phẫu bệnh là UTBM tuyến và UTBM tuyến vảy, có tới 99,91% số bệnh nhân có giải phẫu bệnh là UTBM tuyến và chỉ có 0,09% số bệnh nhân có giải phẫu bệnh là UTBM tuyến vảy [143]. Nitsche U và CS tiến hành nghiên cứu trên 3.479 bệnh nhân UTĐTT đã được phẫu thuật, UTBM tuyến vẫn là thể mô bệnh học hay gặp nhất, chiếm 88% (3074/3479 số trường hợp), UTBM tuyến chế nhày chỉ gặp 375 trường hợp, chiếm 11% [144].

Như vậy, cho dù không thực sự tương đồng giữa các nghiên cứu nhưng nhìn chung có thể thấy ung thư biểu mô tuyến luôn là thể mô bệnh học chiếm ưu thế trong ung thư đại trực tràng.

Độ ác tính

Trong nghiên cứu này chúng tôi phân độ biệt hóa của ung thư biểu mô tuyến theo 2 độ theo AJCC, bao gồm độ ác tính thấp và độ ác tính cao. Đối với ung thư biểu mô tuyến đại trực tràng được xếp loại thành độ ác tính thấp (biệt hóa cao và vừa; $\geq 50\%$ hình thành tuyến) hoặc độ ác tính cao ($< 50\%$ hình thành tuyến). Đối với ung thư biểu mô tế bào nhẵn và ung thư biểu mô ché nhầy cũng được xếp vào độ ác tính cao. Trong nghiên cứu của chúng tôi, có tới 81,5% số bệnh nhân có giải phẫu bệnh được xếp loại độ ác tính thấp, và có 18,5% số bệnh nhân có giải phẫu bệnh được xếp loại độ ác tính cao.

Một số nghiên cứu trong nước cũng đã phân độ mô học theo những hệ thống và tiêu chuẩn khác nhau. Theo tác giả Lê Văn Thiệu (2013), nghiên cứu trên nhóm bệnh nhân UTĐTT cho kết quả, tỉ lệ bệnh nhân có độ ác tính thấp là 73,9%, và nhóm bệnh nhân có độ ác tính cao là 26,1% [104]. Cũng theo một nghiên cứu khác, tác giả Chu Văn Đức tiến hành nghiên cứu trên 174 bệnh nhân UTĐTT, tỉ lệ bệnh nhân có độ ác tính thấp là 77,8%, và nhóm bệnh nhân có độ ác tính cao là 22,2% [140].

Một số tác giả nước ngoài cũng cho kết quả tương tự, chủ yếu bệnh nhân UTĐTT có độ ác tính thấp. Cụ thể, theo tác giả Ramzi Amri và CS (2015) nghiên cứu trên 974 bệnh nhân UTĐTT, tác giả áp dụng hệ thống phân loại theo 2 mức độ, có 191 bệnh nhân có độ ác tính cao (chiếm 19,6%), và có 80,4% số bệnh nhân có độ ác tính thấp [145]. Cũng theo một tác giả khác, Alexander D và CS (2005), trong tổng số 398 bệnh nhân UTĐTT, có 65 bệnh nhân có độ ác tính cao (chiếm 16,3%) và còn lại 83,7% số bệnh nhân có độ ác tính thấp [146].

Độ ác tính đóng vai trò quan trọng trong diễn biến của ung thư biểu mô đại trực tràng. Nó là yếu tố tiên lượng có giá trị. Độ ác tính còn liên quan trực tiếp đến tình trạng di căn hạch, di căn xa và thời gian sống thêm của bệnh nhân UTĐTT. Cụ thể hơn, nhóm bệnh nhân có độ ác tính cao thường hay di căn hạch, di căn xa và có tỉ lệ tử vong cao hơn nhóm bệnh nhân có độ ác tính thấp [145].

4.1.5. Đặc điểm giai đoạn bệnh

Do nghiên cứu được tiến hành với mục tiêu chính là xác định tình trạng gen KRAS qua đó nghiên cứu ứng dụng phục vụ cho điều trị trên lâm sàng bằng các thuốc nhắm trúng đích, đặc biệt là cetuximab. Đây là thuốc đã được chứng minh hiệu quả vượt trội qua các nghiên cứu trên các bệnh nhân UTĐTT không có đột biến gen KRAS. Chính vì vậy chúng tôi chủ định lấy ở nhóm bệnh nhân giai đoạn muộn và hy vọng có điều kiện ứng dụng trong thực tế. Vì vậy có tới 58,5% bệnh nhân ở giai đoạn IV, giai đoạn I, II, III tương ứng là 3,1%, 16,9% và 21,5%. Ngược lại với nghiên cứu này, Bùi Diệu và CS đánh giá trên 906 bệnh nhân UTĐTT được điều trị tại Bệnh viện K từ 2010-2012 cho thấy có tới 55,8% ở giai đoạn III, 37,2% giai đoạn II, giai đoạn IV chỉ chiếm 4,8% [52]. Nguyễn Đại Bình (2012) nghiên cứu trên 169 bệnh nhân ung thư đại tràng cho kết quả về giai đoạn bệnh I, II, III, IV tương ứng là 10%, 29%, 29,6%, 26,6% và còn 4,7% là không xếp loại [122].

Tuy nhiên nhìn tổng thể qua đánh giá của Chương trình quốc gia phòng chống ung thư trên 1.266 bệnh nhân UTĐTT ở một số tỉnh thành cho thấy có tới 67,85% người bệnh đến khám chữa bệnh ở giai đoạn III và IV. Như vậy mặc dù tỉ lệ giai đoạn bệnh có khác nhau nhiều giữa các nghiên cứu do số lượng mẫu và mục đích nghiên cứu khác nhau nhưng nhìn chung phần lớn người bệnh đến ở giai đoạn tiến triển tại chỗ tại vùng hoặc di căn xa.

4.2. TÌNH TRẠNG ĐỘT BIẾN GEN KRAS, MỐI TƯƠNG QUAN GIỮA ĐỘT BIẾN GEN KRAS VÀ MỘT SỐ YẾU TỐ

4.2.1. Bàn luận về vai trò gen KRAS trong ung thư đại trực tràng

Gen KRAS và tiên lượng trong UTĐTT

KRAS là một gen nằm trên nhánh ngắn của nhiễm sắc thể 12, nó mã hoá cho một loại protein G, có chức năng điều hòa đường truyền tín hiệu phân bào. Nhưng khi nó bị đột biến, nó mất khả năng kiểm soát sự phân bào, dẫn đến tế bào phân chia liên tục vô độ dẫn đến ung thư. Chính vì vậy, gen KRAS là một mắt xích quan trọng trong con đường tín hiệu tăng sinh tăng trưởng tế bào ung thư.

Vị trí quan trọng quy định tính kháng thuốc điều trị trúng đích cho tiên lượng kém nằm ở exon số 2 [71],[84],[147]. Trong đó, codon 12 và 13 nằm trên exon này có vai trò quan trọng nhất. Cho đến nay, có hơn 3000 đột biến điểm gen KRAS đã được báo cáo, trong đó đột biến hay gặp nhất là đột biến thay thế nucleotid ở codon 12 (chiếm 82%) và codon 13 (chiếm 17%) ở exon 2 trên gen KRAS [16],[17].

Tuy nhiên, cho đến tại thời điểm hiện tại, giá trị tiên lượng của đột biến gen KRAS vẫn còn chưa thống nhất. Một trong những nghiên cứu lớn nhất về vai trò tiên lượng của gen KRAS là của tác giả Andreyev và CS nghiên cứu RASCAL (The Kisten Ras in Colorectal Cancer Collaborative Group Study) được tiến hành trên 2.721 bệnh nhân ở 13 quốc gia khác nhau. Kết quả cho thấy, đột biến gen KRAS là một yếu tố tiên lượng xấu trong UTĐTT. Không những vậy, Andreyev còn tiến hành nghiên cứu sâu hơn nữa để tìm ra kiểu đột biến nào có vai trò trong tiên lượng UTĐTT. Trong nghiên cứu RASCAL, đột biến tại codon 12 exon 2 được phát hiện ở 755 bệnh nhân (chiếm 27,7%) và đột biến tại codon 13 được phát hiện ở 146 bệnh nhân (chiếm 6,6%). Hai dạng đột biến gen KRAS hay gặp nhất là sự thay đổi từ glycine thành

aspartate tại codon 12, và sự thay đổi từ glycine thành valine tại codon 12. Tác giả còn cho thấy không có sự khác nhau về tình trạng đột biến gen KRAS giữa các giai đoạn bệnh khác nhau, kích thước u, giới tính, và nhóm tuổi. Tuy nhiên, thời gian sống thêm không tiến triển thường thấp hơn và tỉ lệ tử vong cao hơn ở nhóm có đột biến gen KRAS. Đặc biệt, ở nhóm bệnh nhân có đột biến G thành V tại codon 12, thời gian sống thêm toàn bộ giảm xuống có ý nghĩa [148].

Đột biến gen KRAS còn liên quan tới tốc độ di căn và mức độ ác tính của di căn gan trong UTĐTT. Theo Nash và CS nghiên cứu về tình trạng đột biến gen KRAS và mức độ biểu hiện Ki-67 trong UTĐTT di căn gan, kết quả cho thấy, với những trường hợp UTĐTT di căn gan có đột biến gen KRAS, thời gian sống thêm ngắn hơn ở nhóm không có đột biến [149].

Nhưng theo tác giả Roth AD và CS tiến hành thử nghiệm pha III PETACC3 trên 3.278 bệnh nhân UTĐTT giai đoạn II, III, kết quả lại không thống nhất với kết quả của nghiên cứu RASCAL. Tác giả cho rằng, đột biến gen KRAS không có ý nghĩa trong tiên lượng UTĐTT giai đoạn II, III [150]. Do vậy, vai trò của gen KRAS trong tiên lượng UTĐTT còn đang tranh cãi.

Đột biến gen KRAS và đáp ứng điều trị

Khi gen KRAS bị đột biến sẽ tạo ra những protein Ras mới có khả năng chống lại hoạt tính GTPase của GAPs. Protein Ras đột biến có thể gắn kết với GAP nhưng không thể thủy phân GTP đã tạo ra cho protein Ras đột biến duy trì được tình trạng hoạt hóa trong một thời gian dài. Protein Ras đột biến kích hoạt vĩnh viễn các con đường tín hiệu nằm xuôi dòng nó bất kể có sự hoạt hóa của thụ thể EGFR nào hay không. Đây chính là cơ sở giải thích cho việc liệu pháp trúng đích EGFR bị thất bại khi gen KRAS có đột biến bởi lúc này protein Ras không còn phụ thuộc vào sự hoạt hóa từ EGFR. Nghiên cứu đầu tiên tìm hiểu mối tương quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS và hiệu quả

điều trị được tiến hành vào năm 2006 bởi tác giả Lièvre và CS. Kết quả cho thấy ở nhóm bệnh nhân có đột biến gen KRAS mà không đáp ứng với cetuximab có thời gian sống thêm toàn bộ ngắn hơn nhóm bệnh nhân không có đột biến gen KRAS [151]. Sau đó, có một loạt các thử nghiệm lâm sàng đã khẳng định lại kết quả trên [11],[152]. Không chỉ có cetuximab, mà còn có panitumumab cũng được chứng minh có hiệu quả trong điều trị UTĐTT giai đoạn di căn không có đột biến gen KRAS. Kết quả nghiên cứu của Amado và CS cho thấy, tỉ lệ đáp ứng ở khi điều trị panitumumab ở nhóm bệnh nhân không có đột biến gen KRAS cao hơn hẳn ở nhóm bệnh nhân có đột biến gen KRAS (17% so với 0%) [86]. Hơn thế nữa, khi kết hợp phác đồ hóa chất FOLFIRI hoặc FOLFOX với cetuximab hoặc panitumumab, tỉ lệ đáp ứng, thời gian sống thêm không tiến triển, thời gian sống thêm toàn bộ cao hơn ở nhóm bệnh nhân không có đột biến gen KRAS so với nhóm bệnh nhân có đột biến gen KRAS [12],[86],[153]. Tóm lại, tình trạng đột biến gen KRAS có liên quan trực tiếp đến hiệu quả điều trị UTĐTT giai đoạn tái phát di căn.

4.2.2. Tình trạng đột biến gen KRAS

Trong số 65 bệnh nhân UTĐTT được chẩn đoán và điều trị tại Bệnh viện K đồng thời được xác định tình trạng đột biến gen KRAS, chúng tôi ghi nhận kết quả: Tỉ lệ các đột biến ở exon 2 của gen KRAS gặp 36,9%. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trên thế giới với tỉ lệ dao động từ 35% đến 50%. Shuji Ogino và cộng sự công bố tỉ lệ đột biến gen KRAS là 35% [97] trong khi Li W và Tejpar ghi nhận tỉ lệ 36,6%, 39% [16],[98]. Theo Cunningham C. và CS (1996) nhận xét rằng tỉ lệ đột biến gen KRAS ở BN UTĐTT khoảng 50% [154]. Theo kết quả nghiên cứu của Breivik J. và CS (1994), khi tiến hành nghiên cứu đột biến gen KRAS trên 251 BN bị UTĐTT thấy tỉ lệ đột biến gen KRAS là 39,4% [155]. Karapetis và CS (2008), nghiên cứu 572 BN UT trong đó có 394 BN (68,9%) UTĐTT thấy tỉ lệ đột biến gen

KRAS là 41,6% [152]. Stefanius (2011) nghiên cứu sự đột biến gen KRAS ở BN bị UTĐTT thấy tỉ lệ đột biến là 45% [156].

Morris V.K ghi nhận tại Trung tâm ung thư MD Anderson tỉ lệ đột biến codon 12/13 gen KRAS đạt tỉ lệ 48% [99] và cao hơn kết quả do Nguyễn Kiên Dụ và Tạ Thành Văn (2013) là 33,3% [103]. Tỉ lệ đột biến tại codon 12, 13 và cả 2 codon lần lượt là 9,2%, 20,0% và 7,7% được ghi nhận trong nghiên cứu của chúng tôi, trong khi đó Nguyễn Kiên Dụ và Tạ Thành Văn ghi nhận các tỉ lệ đột biến tại codon 12 và 13 lần lượt là 20,8% và 12,5%, Morris V.K ghi nhận tỉ lệ đột biến codon 12 là 37,6% và codon 13 là 10,1% [99].

Như vậy, tỉ lệ đột biến gen KRAS ở BN bị UTĐTT giữa các nghiên cứu còn chưa có sự thống nhất. Theo chúng tôi, có lẽ do cách chọn mẫu cũng như kỹ thuật chọn mẫu có sự khác nhau, hơn nữa mỗi nghiên cứu lại sử dụng kỹ thuật khác nhau và thời điểm cũng như đối tượng nghiên cứu có đặc điểm chủng tộc khác nhau nên các kết quả nghiên cứu cũng có sự khác nhau. Tuy nhiên, hầu hết các tác giả cho rằng, tỉ lệ đột biến gen KRAS dao động trong khoảng từ 35 – 50%.

4.2.3. Mối liên quan giữa tình trạng đột biến KRAS và giới

So sánh sự khác biệt giữa giới tính và tình trạng đột biến gen KRAS, sử dụng phương pháp so sánh Chi square, giá trị p thu được $> 0,05$. Tính tỉ suất chênh giữa tình trạng đột biến gen KRAS và yếu tố nguy cơ giới, cho thấy tỉ lệ đột biến KRAS ở nữ giới 40,7%, ở nam giới 34,2% với $OR = 1,3221$ CI 95%: 0,477 -3,663, nữ giới có nguy cơ đột biến gen KRAS hơn ở nam giới tới 32%, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,59$. Wenbin Li và CS xét nghiệm đột biến gen KRAS trên mẫu khối u cố định trong parafin của 762 bệnh nhân UTĐTT được điều trị tại khoa giải phẫu bệnh Bệnh viện và Viện nghiên cứu Ung thư Bắc Kinh từ tháng 12 năm 2011 đến tháng 12 năm 2012, kết quả cho thấy tỉ lệ đột biến gen KRAS là 47,7% ở nam

giới so với 37,1% ở nữ giới, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,004$. Theo tác giả Li W và cộng sự phân tích tình trạng đột biến và mối liên quan với giới tính cho tỉ lệ nữ giới mắc đột biến nhiều hơn nam giới khoảng 60% và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,0001$ [16]. Trong nghiên cứu của Feng Q và cộng sự, tỉ lệ đột biến KRAS hay gặp ở nam hơn ở nữ với $OR = 1,9$ (nhóm chưa di căn), $OR=1,6$ (nhóm di căn 1 vị trí) sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,032$ và $0,024$. Tác giả Lê Văn Thiệu còn ghi nhận, tỉ lệ bệnh nhân ung thư biểu mô đại trực tràng có đột biến gen KRAS ở nam giới chiếm 63% và nữ giới là 37% ($p > 0,05$) [106]. Khi chúng tôi phân tích mối liên quan về giới tính của bệnh nhân với đột biến của từng codon cho thấy tỉ lệ gặp đột biến gen KRAS tại codon 12 ở nam giới cao gấp 6,93 lần ở nữ giới, với giá trị p tiệm cận dần đến giá trị khác biệt có ý nghĩa thống kê $p = 0,077$. Đột biến tại codon 13 gen KRAS hay gặp ở bệnh nhân nữ với tỉ lệ cao gấp 2,2 lần ở nam giới kết quả này tương đồng với kết quả của Li W. Một nghiên cứu khác của Quiang F và cộng sự, nghiên cứu trên 291 bệnh nhân, cho thấy mối quan hệ giữa đột biến codon 13 exon 2 của gen KRAS tăng lên 2,23 lần ở nam giới so với nữ giới, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p = 0,024$ [17]. Tuy nhiên, kết quả ghi nhận trong nghiên cứu của chúng tôi sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê với $p = 0,16$. Có thể cần một nghiên cứu lớn hơn để xác định các mối liên quan này.

Như vậy, kết quả nghiên cứu trên thế giới cho thấy, nam giới có nguy cơ đột biến gen KRAS nhiều hơn nữ giới, nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy được nam giới có nguy cơ gặp đột biến codon 12 nhiều hơn ở nữ giới, tuy nhiên có thể do cỡ mẫu còn hạn chế, chúng tôi không chứng minh được ở nam giới đột biến KRAS ở tất cả các codon có tỉ lệ cao hơn nữ giới.

4.2.4. Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS với tuổi

Chúng tôi tìm mối tương quan giữa tuổi và tình trạng đột biến gen KRAS thông qua so sánh độ tuổi trung bình của nhóm bệnh nhân có đột biến gen KRAS và nhóm bệnh nhân không có đột biến gen KRAS cho thấy sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, độ tuổi trung bình của bệnh nhân có đột biến KRAS là 55,5 tuổi và nhóm có đột biến gen KRAS là 53,1 tuổi. Khi khảo sát mối liên quan giữa độ tuổi trên 60 và tình trạng KRAS, kết quả cho thấy sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Theo Lê Văn Thiệu (2013), khi tiến hành khảo sát mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và tuổi của BN UTĐTT, kết quả cho thấy tỉ lệ đột biến gen KRAS ở tuổi ≤ 40 là 5,1% và ở nhóm tuổi > 40 là 53,1%. Tuy nhiên, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ [104].

Theo tác giả Nguyễn Kiên Dụ và cộng sự mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen và giới tính cũng không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ [157].

Các tác giả nước ngoài cũng cho kết quả tương tự.

Theo Zulhabri O và CS (2012), thấy tỉ lệ đột biến gen KRAS ở BN UTĐTT nhóm tuổi dưới 60 là 13%, nhóm tuổi trên 60 là 23% ($p > 0,05$) [158].

Trong nghiên cứu của Feng Q và cộng sự nghiên cứu trên khoảng 300 bệnh nhân, chia làm nhiều với các giới hạn khác nhau như tuổi dưới 55, từ 55-69 và từ 70 tuổi trở lên, sau đó so sánh tình trạng đột biến gen tuy nhiên, có sự khác biệt giữa nhóm tuổi ≥ 70 , tuổi cao nếu mắc UTĐTT thì nguy cơ bị đột biến gen KRAS thấp hơn, $p = 0,026$. Tuy nhiên không có sự khác biệt so phân bố theo tuổi ở nhóm tuổi thấp hơn [17].

Trong ung thư phổi không tế bào nhỏ, đột biến gen EGFR, tuổi trên 60 làm tăng nguy cơ xuất hiện đột biến gen [159]. Tuy nhiên trong UTĐTT, mối liên quan giữa tuổi và tình trạng đột biến gen KRAS không thực sự rõ ràng.

4.2.5. Mối liên quan giữa KRAS và vị trí khối u

4.2.5.1. Khối u trực tràng có biểu hiện đột biến KRAS nhiều hơn khối u đại tràng

Vị trí của khối u đại tràng hay trực tràng là một vấn đề quan trọng xác định phương án điều trị và có vai trò tiên lượng. Ung thư trực tràng tiên lượng xấu hơn ung thư đại tràng, ung thư đại tràng trái tiên lượng xấu hơn ung thư đại tràng phải. Chia các bệnh nhân tham gia nghiên cứu làm nhóm ung thư trực tràng và ung thư đại tràng, so sánh đơn biến tỉ lệ xuất hiện đột biến gen KRAS và vị trí khối u xuất phát ở đại tràng hay trực tràng bằng Fisher Exact Test, kết quả $p = 0,02$, sự khác biệt về tỉ lệ đột biến ở 2 vị trí có ý nghĩa thống kê. Đồng thời, chúng tôi tính tỉ suất chênh $OR = 10,5$ (CI 95%: 1,14-96,47) và $p = 0,004$. Điều này có nghĩa khối u trực tràng cho nguy cơ đột biến cao gấp 10 lần khối u ở đại tràng. Khi phân tích mối liên quan đột biến từng codon 12, 13 (không tính những trường hợp có đột biến ở cả 2 codon) đối với vị trí u tại trực tràng hay đại tràng, chúng tôi nhận thấy tại trực tràng xu hướng đột biến tại codon 12 tăng lên lần lượt là 3,71 lần tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,17$. Trong khi đó, đột biến ở codon 13 exon 2 của gen KRAS lại gặp nhiều hơn ở bệnh nhân ung thư đại tràng hơn là ung thư trực tràng với hệ số tương quan là 6,43 lần, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,043$. Kết quả này cũng được ghi nhận trong nghiên cứu của Feng Q với hệ số tương quan 1,6 tức là ung thư đại tràng có tỉ lệ đột biến codon 13 cao hơn 1,6 lần so với ung thư trực tràng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,041$ [17]. Tỉ tần suất gặp đột biến KRAS tại vị trí ung thư đại tràng và ung thư trực tràng và đặc biệt là đột biến codon 13 chứng minh cho nhận định ung thư đại tràng có tiên lượng tốt hơn ung thư trực tràng, Teipar S và cộng sự đã ghi nhận đột biến gen KRAS tại codon 13 là yếu tố tiên lượng độc lập cho kết quả điều trị của UTĐTT [98]. Đột biến codon 13 vẫn cho kết quả điều trị tốt như nhóm KRAS tự nhiên, trong khi các

đột biến khác tại codon 12 cho kết quả điều trị xấu, không có hiệu quả khi sử dụng thuốc điều trị kháng thể đơn dòng cetuximab hoặc panitumumab.

Tác giả Nguyễn Kiến dự cũng phân tích mối quan hệ này, tuy nhiên trong nghiên cứu của tác giả, mối liên quan giữa vị trí u ở đại tràng hay trực tràng so với tình trạng đột biến gen là không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$, ở đây tác giả tác riêng đại tràng trái, đại tràng phải và trực tràng làm 3 nhóm sau đó thực hiện phép phân tích sự khác biệt về tình trạng đột biến gen, có thể điều này làm giảm cỡ mẫu và làm ảnh hưởng đến kết quả. Tuy nhiên chúng tôi ghi nhận ở đây kết quả nghiên cứu của chúng tôi mới là trên quần thể bệnh nhân ở Bệnh viện K, có thể cỡ mẫu cũng chưa thực sự đại diện cho quần thể bệnh nhân ung thư đại trực tràng ở Việt Nam do đó, kết quả của chúng tôi dừng lại ở một giá trị tham khảo, có thể ung thư trực tràng có nguy cơ đột biến gen KRAS cao hơn ung thư đại tràng.

4.2.5.2. Tỷ lệ đột biến KRAS ở khối u đại tràng phải và đại tràng trái.

Ung thư đại tràng phải và ung thư đại tràng trái được đề cập đến ở nhiều tài liệu tham khảo. Đại tràng phải là đoạn đại tràng được quy ước bao gồm: Ruột thừa, manh tràng, đại tràng góc gan và đại tràng ngang. Đại tràng trái là đoạn đại tràng được quy ước bao gồm: Đại tràng góc lách, đại tràng xuống, đại tràng sigma và trực tràng [101]. Trong đó sự khác biệt ở một số đặc điểm hình thái, diễn biến lâm sàng, và cả tiên lượng bệnh [160]. Đối với giai đoạn II, ung thư đại tràng phải có thời gian sống thêm tốt hơn đại tràng trái, ngược lại ở giai đoạn III ung thư đại tràng trái có tiên lượng tốt, thời gian sống thêm dài hơn ung thư đại tràng phải [160]. Đặc điểm tiên lượng của khối u đại tràng phải thường liên quan đến đặc điểm mô bệnh học là ung thư biểu mô chế nhày, đặc điểm sinh học phân tử như tỉ lệ microsatellite instability, tỉ lệ đột biến gen BRAF cao. Ngoài ra phải kể đến đột biến gen KRAS, đặc biệt

là đột biến gen KRAS ở codon 12 exon 2. Frank A.S và cộng sự ghi nhận tỉ lệ đột biến gen KRAS ở ung thư đại tràng phải (đại tràng gần) cao hơn ở ung thư đại tràng trái (đại tràng xa) [99],[67].

Wenbin Li và CS xét nghiệm đột biến gen KRAS trên mẫu khối u cố định trong parafin của 762 bệnh nhân UTĐTT được điều trị tại khoa giải phẫu bệnh Bệnh viện và Viện nghiên cứu Ung thư Bắc Kinh từ tháng 12 năm 2011 đến tháng 12 năm 2012, kết quả cho thấy tỉ lệ đột biến gen KRAS là 47,7% ở nam giới so với 37,1% ở nữ giới, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,004$. Vị trí của khối u cũng liên quan đến tình trạng đột biến gen, nếu khối u ở đại tràng gần (phải) thì tỉ lệ gặp đột biến sẽ cao hơn khối u ở bên đại tràng xa (trái).

Trong nghiên cứu của chúng tôi, khi phân tích sự biểu hiện đột biến gen KRAS nói chung, chúng tôi không thấy sự khác biệt về tần suất biểu hiện, với ước lượng tỉ suất chênh $OR = 1,12$ và $p = 0,83$, mối liên quan giữa vị trí đại tràng phải hoặc trái và đột biến KRAS không có ý nghĩa thống kê.

Tuy nhiên khi chúng tôi phân tích dưới nhóm, đặc biệt là phân tích biểu hiện của đột biến tại các codon, đặc biệt là đột biến codon 12 cho thấy hệ số tương quan $OR = 2,4$; $p = 0,24$. Kết quả này có nghĩa là đối với ung thư đại tràng phải, biểu hiện đột biến ở codon 12 cao hơn 2,4 lần so với đại tràng trái, tuy nhiên sự khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê do $p = 0,24$. Điều này có thể được giải thích, do cỡ mẫu của chúng tôi chưa đủ lớn cho nên, không thể thoả mãn tất cả các thuật toán. Giá trị đem lại của quan sát này trong nghiên cứu của chúng tôi là tiệm cận với kết luận của Frank AS về mức độ biểu hiện mạnh đột biến ở codon 12 ở đại tràng phải so với đại tràng trái [67]. Kết quả cho thấy bệnh nhân ở Việt Nam cũng phù hợp với một số đặc điểm của bệnh nhân các vùng khác trên thế giới. Tuy nhiên, ở một nghiên cứu khác, tác giả Nguyễn Kiến Dụ và cộng sự công bố vị trí ung thư đại tràng phải và đại tràng

trái không liên quan đến tỉ lệ đột biến gen KRAS với $p > 0,05$ [157], quay trở lại kết quả nghiên cứu này, tác giả thiếu phân mô tả phân loại vị trí ung thư đại tràng trái và đại tràng phải, nghiên cứu của Tejpa và cộng sự, phân loại đại tràng phải bao gồm đại tràng lên, đại tràng góc gan và đại tràng giữa, trong khi đại tràng trái bao gồm đại tràng góc lách, đại tràng xuống đại tràng sigma và trực tràng [101]. Chúng tôi phân loại vị trí khối u đại tràng theo tiêu chí này và cho kết quả khu trú ở 2 nhóm đại tràng phải và đại tràng trái.

Khi so sánh tần số đột biến gen KRAS codon 13 exon 2 tại các khối u đại tràng trái và đại tràng phải, chúng tôi ước lượng hệ số tương quan, kết quả thu được $OR = 1,48$ kết quả này có nghĩa là ung thư đại tràng trái có tỉ lệ đột biến ở codon 13 cao gấp gần 1,5 lần ung thư đại tràng phải, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,54$. Đột biến gen ở codon 13 là một yếu tố tiên lượng tốt, tiên lượng tỉ lệ đáp ứng cao với điều trị, điều này góp phần giải thích đại tràng trái ở giai đoạn tiến triển di căn lại có tiên lượng tốt hơn đại tràng phải.

Tejpar S và cộng sự tổng hợp số liệu từ 2 thử nghiệm lâm sàng lớn CRYSTAL và FIRE-3 về bệnh nhân UTĐTT di căn, đi sâu phân tích đặc điểm đột biến gen KRAS và những đặc điểm vị trí u, có 299 bệnh nhân UTĐT trái và 71 bệnh nhân ung thư đại tràng phải. Đại tràng phải được xác định là đại tràng từ ruột thừa, manh tràng, đại tràng lên, đại tràng góc gan và đại tràng ngang, trong khi đại tràng trái được xác định là đại tràng từ góc lách, đại tràng xuống, đại tràng sigma và trực tràng. Gen KRAS tự nhiên ở đại tràng trái có tiên lượng tốt hơn đại tràng phải khi được chỉ định điều trị cetuximab, do đó đối với UTĐT phải nên cân nhắc điều trị bằng hoá trị kết hợp với bevacizumab. Cơ sở sâu hơn của vấn đề này có thể liên quan đến phân tích đa biến ung thư đại tràng phải liên quan nhiều đến các thể lâm sàng ung thư biểu mô chế nhầy, đột biến gen BRAF [101].

Khi Teipar S và CS phân tích đối tượng nghiên cứu là 1.378 bệnh nhân tham gia thử nghiệm lâm sàng CRYTAL và OPUS, 533 bệnh nhân có đột biến gen KRAS (39%) trong đó 83 bệnh nhân (16%) đột biến G13D, 125 bệnh nhân (23%) đột biến G12V, và 325 bệnh nhân (61%) bệnh nhân có đột biến codon 12 khác. Đột biến gen KRAS G13D, không những không làm giảm hiệu quả điều trị thuốc điều trị đích kháng EGFR mà còn làm tăng hiệu quả điều trị, thông qua tăng tỉ lệ đáp ứng một cách có ý nghĩa thống kê ($p=0,005$), thời gian sống thêm không bệnh cũng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p=0,046$. Khi áp dụng điều trị hoá trị kết hợp với cetuximab hoặc hoá trị đơn thuần cho 2 nhóm bệnh nhân có đột biến gen KRAS G13D hoặc là có các đột biến khác bao gồm cả G12V. Kết quả cho thấy đối với nhóm bệnh nhân có đột biến KRAS G13D, cetuximab tăng tỉ lệ đáp ứng lên 40,5% so với 22,0% ở nhóm hoá trị đơn thuần, tỉ suất chênh $OR = 3,38$, $p=0,042$, thời gian sống thêm không bệnh là 7,4 tháng so với 6,0 tháng, $HR=0,47$ tức là giảm 53% nguy cơ tái phát, với $p = 0,039$, tuy nhiên không có sự khác biệt về thời gian sống thêm toàn bộ, 15,4 tháng so với 14,7 tháng. Đối với nhóm có đột biến gen KRAS D13D không được điều trị cetuximab thì kết quả điều trị xấu hơn. Khi phân tích hiệu quả của cetuximab đối với các đột biến khác bao gồm cả G12V, cetuximab không đem lại lợi ích về sống thêm cũng như tỉ lệ đáp ứng. Có thể nói đột biến gen KRAS G13D dự báo kết quả điều trị bằng cetuximab là tương đương với nhóm không có đột biến [98].

Qua đó cho thấy, vị trí của khối u ở đại tràng phải hay đại tràng trái và tình trạng đột biến gen đặc biệt là đột biến codon 12 hay 13 là yếu tố tiên lượng quan trọng trong điều trị ung thư đại tràng.

4.2.6. Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và độ ác tính khối u

Trong nghiên cứu trên 65 bệnh nhân của chúng tôi, kết quả cho thấy, có tới 81,5% số bệnh nhân có giải phẫu bệnh được xếp loại độ ác tính thấp, và có

18,5% số bệnh nhân có giải phẫu bệnh được xếp loại độ ác tính cao. Tỷ lệ đột biến gen KRAS ở nhóm độ ác tính cao lớn hơn tỷ lệ đột biến gen KRAS ở nhóm có độ ác tính thấp, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê với $p = 0,77$. Không có sự khác biệt giữa tỷ lệ đột biến codon 12 exon 2 gen KRAS ở nhóm độ ác tính cao và ở nhóm có độ ác tính thấp với $p = 0,210$. Tỷ lệ đột biến codon 13 exon 2 gen KRAS ở nhóm độ ác tính cao lớn hơn tỷ lệ đột biến gen KRAS ở nhóm có độ ác tính thấp, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê, $p = 0,35$.

Tác giả Lê Văn Thiệu (2013) cũng nghiên cứu trên 79 bệnh nhân ung thư đại trực tràng, khi phân tích tỷ lệ đột biến gen KRAS theo độ ác tính, tác giả cho thấy với khối u có độ ác tính thấp có 34 trường hợp chiếm tỷ lệ 73,9%; với khối u có độ ác tính cao có 12 trường hợp chiếm tỷ lệ 26,1%, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ [104]. Trong nghiên cứu Nguyễn Kiến Dụ và cộng sự đột biến gen KRAS, BRAF ở nhóm biệt hóa cao là 40,0% (6/15), biệt hóa vừa là 35,3% (42/119), biệt hóa thấp là 9,1% (1/11). Đột biến gen KRAS, BRAF không liên quan với phân độ mô bệnh học ($P > 0,05$) [157].

Theo Wenbin Li và CS (2015) nghiên cứu trên 761 bệnh nhân UTĐTT, trong đó có 618 bệnh nhân có độ ác tính thấp và 143 bệnh nhân có độ ác tính cao. Không có sự khác biệt giữa tỷ lệ đột biến gen KRAS ở nhóm bệnh nhân có độ ác tính thấp và tỷ lệ đột biến gen KRAS ở nhóm bệnh nhân có độ ác tính cao (35,8% so với 30,8%, $p = 0,26$). Khi tác giả tiến hành phân tích dưới nhóm, kết quả cũng không có sự khác biệt. Cụ thể, tỷ lệ đột biến codon 12 exon 2 gen KRAS ở nhóm BN có độ ác tính thấp là 28,5% (176/618 BN), và ở độ ác tính cao là 20,3% (29/143 BN); sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,14$. Tương tự như vậy, tỷ lệ đột biến codon 13 exon 2 gen KRAS ở nhóm BN có độ ác tính thấp là 7,3% (45/618 BN), và ở độ ác tính cao là 10,5% (15/143 BN); sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,26$ [16].

Như vậy, các tác giả đều thống nhất, độ ác tính của khối u chưa có mối liên quan tới tình trạng đột biến gen KRAS.

4.2.7. Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và nồng độ CEA

Carcino Embryon Antigen (CEA) là một kháng nguyên ung thư hay tăng trong ung thư đại trực tràng. CEA thường được dùng để tiên lượng, cũng như theo dõi kết quả điều trị. Li W và cộng sự nghiên cứu trên 945 bệnh nhân ung thư đại trực tràng, khảo sát mối liên quan của đột biến gen KRAS với nhiều đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của ung thư đại trực tràng. Tác giả ghi nhận, chỉ điểm khối u CEA và CA199 có liên quan đến tỉ lệ đột biến KRAS, nồng độ CEA > 5 ng/ml và nồng độ CA19.9 > 37 UI/mL tăng tỉ lệ đột biến KRAS lên 2,34 và 2,83 lần với p lần lượt là 0,02 và 0,004 sự khác biệt có ý nghĩa thống kê [161].

Tuy nhiên, tác giả Lê Văn Thiệu lại chưa thống nhất với kết quả của Li và CS. Nghiên cứu trên 79 bệnh nhân UTĐTT, kết quả cho thấy không có mối liên quan giữa nồng độ CEA và tình trạng đột biến gen KRAS [104].

Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho kết quả tương tự với tác giả Lê Văn Thiệu. Để khảo sát mối liên quan của CEA với tình trạng đột biến gen KRAS, chúng tôi so sánh nồng độ CEA ở 2 nhóm bệnh nhân có và không có đột biến gen KRAS, kết quả cho thấy: không có sự khác biệt giữa nồng độ CEA ở các bệnh nhân có và không có đột biến gen KRAS với $p > 0,05$. Một nghiên cứu khác của Nguyễn Kiến Dụ cũng không cho thấy mối liên quan giữa nồng độ CEA và tình trạng đột biến gen [157].

Theo chúng tôi có lẽ nồng độ CEA thường tăng khi UTĐTT đã ở giai đoạn muộn, trong khi đó sự đột biến gen KRAS dường như xảy ra ngay từ khi còn rất sớm trước khi có sự hình thành u tuyến rồi sau đó dưới tác động của các yếu tố khác thì các tế bào UT mới hình thành. Vì vậy, không có mối liên quan giữa đột biến gen KRAS với nồng độ CEA ở BN UTĐTT.

4.2.8. Môi liên quan giữa đột biến KRAS và giai đoạn bệnh

4.2.8.1. Mức độ xâm lấn của khối u

Giai đoạn bệnh UTĐTT cũng như hầu hết các bệnh ung thư khác được đánh giá theo hội đồng ung thư hoa kỳ (AJCC) cấu thành từ 3 tiêu chí chính là: Giai đoạn khối u (T), giai đoạn hạch vùng (N) và giai đoạn di căn xa (M). Giai đoạn bệnh là một yếu tố tiên lượng độc lập, quan trọng đối với bệnh và kết quả điều trị. Giai đoạn bệnh cũng có mối quan hệ mật thiết đến nhiều yếu tố khác, đặc biệt yếu tố được nói đến nhiều trong thời gian hiện nay là đặc điểm sinh học phân tử của tế bào ung thư. Như vậy, một câu hỏi được đặt ra là: Liệu đột biến gen KRAS có liên quan đến giai đoạn bệnh hay không?

Khi đánh giá về mức độ xâm lấn của khối u, một trong những tiêu chí quan trọng đó chính là dựa vào đánh giá trong mổ của các phẫu thuật viên có kinh nghiệm. Các phẫu thuật viên căn cứ vào tình trạng của thanh mạc thành ruột, khi khối u chưa phát triển tới thanh mạc thì thanh mạc hoàn toàn bình thường, khi khối u phát triển tới lớp dưới thanh mạc thì thanh mạc nhăn nhúm, co kéo, qui tụ và mất bóng, khi khối u đã xâm lấn tới lớp thanh mạc thì thanh mạc ngoài thường sần sùi, có khi dính vào mạc nối, các tạng lân cận. Tuy nhiên, để đánh giá mức độ xâm lấn cần dựa vào kết quả MBH. Mức độ xâm lấn qua các lớp thành ruột là một yếu tố tiên lượng quan trọng đối với BN bị UTĐTT.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, đột biến gen KRAS xu hướng gặp ở những bệnh nhân có thời gian diễn biến bệnh lâu hơn. Gộp chung các đột biến tại codon 12 và 13 exon 2 của gen KRAS và so sánh với giai đoạn bệnh tiến triển tại chỗ (T4) so với giai đoạn khu trú (T1, 2, 3), ước lượng hệ số tương quan $OR = 1,59$ tức là ở giai đoạn T4 tỉ lệ đột biến gen KRAS biểu hiện cao gấp 1,59 lần ở giai đoạn khu trú T1,2,3. Tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,38$. Khi chúng tôi phân chia các độc lập các đột biến

ở codon 12 hoặc 13, kết quả có xu hướng phân biệt rõ mức độ ảnh hưởng của các đột biến tại các vị trí khác nhau của gen KRAS.

So sánh tỉ lệ biểu hiện đột biến KRAS tại codon 12 ở nhóm hai nhóm bệnh nhân T4 và T1,2,3, tính hệ số tương quan OR = 8,0, tức là tỉ lệ đột biến codon 12 tăng 8 lần ở nhóm bệnh nhân có khối u T4 so với nhóm bệnh nhân có khối u T1,2,3.

Tác giả Lê Văn Thiệu (2013), khi nghiên cứu mối liên quan giữa tỉ lệ đột biến gen KRAS với mức độ xâm lấn khối u vào thành ĐTT, kết quả nghiên cứu bảng 3.23 cho thấy: tỉ lệ đột biến khi khối u xâm lấn đến lớp cơ có 7/46 trường hợp chiếm tỉ lệ 15,2%; khi khối u xâm lấn đến lớp thanh mạc có 15/46 trường hợp chiếm tỉ lệ 32,6%; khi khối u xâm lấn qua lớp thanh mạc có 24/46 trường hợp chiếm tỉ lệ 52,2% ($p < 0,05$). Như vậy, khối u càng xâm lấn sâu vào thành ĐTT thì tỉ lệ đột biến gen KRAS càng cao [104].

Tác giả Nguyễn Kiến Dụ phân tích đặc điểm kích thước khối u trên nội soi, cho thấy những khối u có kích thước lớn chiếm trên $\frac{3}{4}$ chu vi đại tràng có xu hướng chiếm tỉ lệ lớn hơn 38/10 tương đương 3,8 lần [103], tuy nhiên chỉ số p không có ý nghĩa thống kê ở đây có thể giải thích bởi 2 lý do, thứ nhất, tác giả so sánh các nhóm nhỏ, $<1/4$, $<1/2$, $<3/4$ và $>3/4$, do cỡ mẫu ít và nhóm nhỏ nên phân tích sẽ giảm mức độ ý nghĩa, hơn nữa kích thước khối u theo chu vi không hoàn toàn phản ánh giai đoạn khối u theo TNM. Đây là điểm yếu của nghiên cứu của tác giả Nguyễn Kiến Dụ, các thông tin về bệnh học không được khai thác và phân tích đầy đủ, trong đó giai đoạn TNM là rất quan trọng.

Đối chiếu với kết quả của Li W và cộng sự, nghiên cứu trên 792 mẫu khối u đại trực tràng, đột biến tại codon 12 có liên quan chặt chẽ đối với giai đoạn bệnh tiến triển T3, T4, với OR = 1,27, ý nghĩa của chỉ số OR = 1,27 là tỉ lệ đột biến codon 12 ở nhóm u xâm lấn tại chỗ cao gấp 1,27 lần so với khối u

giai đoạn sớm. Kết quả nay cũng phù hợp với kết quả của chúng tôi được mô tả ở trên. Tuy nhiên có thể do cỡ mẫu còn hạn chế nghiên cứu của chúng tôi cho kết quả $p = 0,057$ tiệm cận với giá trị có ý nghĩa thống kê $p = 0,05$. Khi phân tích tỉ lệ đột biến ở codon 13 của gen KRAS, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm bệnh nhân T1,2,3 và T4.

Về giai đoạn khối u, Feng cũng nhận thấy, khối u T4 cũng cho tỉ lệ đột biến cao hơn nhóm còn lại với $OR=1,87$ và $1,7$ [17].

Wenbin Li và CS xét nghiệm đột biến gen KRAS trên mẫu khối u cố định trong parafin của 762 bệnh nhân UTĐTT được điều trị tại khoa giải phẫu bệnh Bệnh viện và Viện nghiên cứu Ung thư Bắc Kinh từ tháng 12 năm 2011 đến tháng 12 năm 2012, kết quả cho thấy tỉ lệ đột biến gen KRAS là 47,7% ở nam giới so với 37,1% ở nữ giới, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,004$. Vị trí của khối u cũng liên quan đến tình trạng đột biến gen, nếu khối u ở đại tràng gần (phải) thì tỉ lệ gặp đột biến sẽ cao hơn khối u ở bên đại tràng xa (trái). Đặc điểm mô bệnh học có liên quan đến tình trạng đột biến gen KRAS, ở nhóm biệt hoá chế nhầy cho thấy tỉ lệ có đột biến cao hơn là không đột biến gen với $p < 0,0001$. Tuy nhiên đối với độ biệt hoá lại không có sự khác biệt giữa hai nhóm này. Webin Li cũng khảo sát mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen so với giai đoạn TNM, cho thấy đột biến ở codon 12 hay gặp hơn ở nhóm bệnh nhân được chẩn đoán giai đoạn III-IV, đột biến codon 12 cũng hay gặp di căn hạch hơn, do đột biến codon 12 hay gặp ở giai đoạn muộn nên đem lại tiên lượng xấu cho bệnh nhân. Tuy nhiên tình trạng đột biến codon 13 lại không liên quan đến giai đoạn bệnh [16].

4.2.8.2. Về đặc điểm di căn hạch

Hạch vùng là một trong những yếu tố đóng vai trò quan trọng nhất để dự báo kết quả và khuyến cáo điều trị cho BN UTĐTT. Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng thời gian sống thêm tăng lên đối với BN giai đoạn II nếu có sự gia

tăng về số lượng hạch được nạo vét. Như vậy, lâm sàng có sự giảm giai đoạn đáng kể nếu số lượng hạch được phẫu tích quá ít. Tuy nhiên, tại Việt Nam hiện nay, việc phẫu tích hạch sau mổ còn nhiều hạn chế. Điều này chủ yếu là do số lượng BN quá đông, trong khi đó nguồn nhân lực y tế hạn chế.

Nghiên cứu trên các bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi, nhóm di căn từ 4 hạch trở lên có tỉ lệ đột biến gen KRAS cao gấp 1,94 lần nhóm di căn ít hơn 4 hạch, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê $p = 0,30$. Nói cách khác, đột biến gen KRAS có liên quan đến tình trạng di căn, trong đó có di căn hạch. Kết quả được khẳng định ở nghiên cứu trên 972 bệnh nhân của Li W và cộng sự, tỉ lệ đột biến gen tăng cao ở những bệnh nhân di căn hạch với $p = 0,02$ có ý nghĩa thống kê [16]. Tuy nhiên cũng có những quan điểm trái chiều. Theo Lê Văn Thiệu, khi nghiên cứu mối liên quan giữa tỉ lệ đột biến gen KRAS với UTĐTT có di căn hạch và chưa có di căn hạch, kết quả cho thấy tỉ lệ đột biến gen ở BN bị UTĐTT có di căn hạch có 9/46 trường hợp chiếm tỉ lệ 19,6%, chưa có di căn hạch có 37/46 trường hợp chiếm tỉ lệ 80,4%, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Theo Liu X và cộng sự, không có mối liên quan giữa di căn hạch cũng như các đặc điểm lâm sàng khác với tỉ lệ đột biến KRAS. Liu X nghiên cứu trên quần thể gồm 217 bệnh nhân phân tích đặc điểm xâm lấn của khối u, kích thước khối u, di căn hạch, di căn xa thể giải phẫu bệnh, tuổi, giới... Với tình trạng đột biến gen KRAS, chỉ số p ghi nhận $> 0,05$, giả thuyết không có ý nghĩa thống kê [162].

Như vậy, về mối liên quan giữa sự đột biến gen KRAS với UTĐTT có di căn hạch và chưa có di căn hạch chưa có sự thống nhất giữa các nghiên cứu. Chúng tôi cho rằng cần có nhiều nghiên cứu hơn nữa trên số lượng BN lớn hơn để đánh giá mối liên quan giữa sự đột biến gen KRAS với UTĐTT có di căn hạch và chưa có di căn hạch bạch huyết.

Chúng tôi cũng khảo sát đồng thời vấn đề di căn xa của bệnh nhân so với tình trạng đột biến gen KRAS, kết quả cho thấy, tỉ lệ đột biến gen KRAS không liên quan đến tình trạng di căn xa. Kết quả này của chúng tôi trùng lặp với nghiên cứu của Liu X và Li W [88],[162].

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu trên 65 bệnh nhân UTĐTT tại bệnh viện K từ 2012 đến 2016, chúng tôi đưa ra các kết luận sau:

Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng

Tuổi mắc bệnh trung bình là 54,5 tuổi, nhóm tuổi hay gặp là 50 – 69 tuổi, chiếm 70,8%.

Giới nam cao hơn nữ chiếm tỉ lệ 58,5%.

Một số triệu chứng lâm sàng phổ biến là: Đau bụng (75,4%), đi ngoài ra máu (72,3%), đi ngoài phân nhày mũi (60%), đi ngoài phân lỏng (44,6%).

Đặc điểm khối u trên nội soi: Hình thái đại thể của khối u chiếm ưu thế là thể loét sùi (35,4%), thể sùi (33,8%), thể loét sùi thâm nhiễm (16,9%), thể thâm nhiễm và thể loét chiếm tỉ lệ 7,7 và 6,2%.

Kích thước u theo chu vi: Hay gặp u chiếm $\geq 3/4$ chu vi (84,6%).

Tỉ lệ soi không đưa ống nội soi qua được: 55,4%.

Tỉ lệ chẩn đoán đúng khối u trên nội soi là 100%, trong khi trên trên SA và CLVT lần lượt là 67,7 và 86,1%.

Tỉ lệ phát hiện di căn hạch trên SA, CLVT lần lượt là 24,0 và 44,0%

Khối u đại tràng chiếm tỉ lệ 90,8%, trực tràng chiếm 9,2%.

Thể mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến chiếm tỉ lệ 84,6% và ung thư biểu mô tuyến chế nhày chiếm 13,8%.

Tỉ lệ BN ở giai đoạn IV là 58,5% và giai đoạn III là 21,5%.

Tình trạng đột biến gen KRAS và mối liên quan với một số đặc điểm bệnh học

Tỉ lệ đột biến gen KRAS tại vị trí codon 12, 13 của exon 2 là 36,9%.

Trong đó trong đó tỉ lệ đột biến tại codon 12, 13 và cả 2 codon lần lượt là 9,2%, 20% và 7,7%.

Tỉ lệ gặp đột biến codon 12 ở nam giới cao gấp 6,93 lần ở nữ giới, $p = 0,077$.

Tỉ lệ gặp đột biến ở codon 13 ở nữ cao gấp 2,2 lần ở nam giới với $p = 0,16$.

Vị trí khối u ở trực tràng làm tăng tỉ lệ đột biến gen KRAS 10,53 lần, $p = 0,004$ và làm tăng tỉ lệ đột biến gen KRAS tại codon 13 là 6,43 lần với $p = 0,043$.

U đại tràng phải có xu hướng làm tăng tỉ lệ đột biến gen KRAS ở vị trí codon 12 exon 2, p không có ý nghĩa thống kê 0,24.

Mức độ xâm lấn của khối u có xu hướng liên quan đến tình trạng đột biến gen KRAS, đặc biệt là T4 làm tăng tỉ lệ đột biến codon 12 lên 8 lần, $p = 0,057$.

Không có mối liên quan giữa kích thước khối u và đột biến gen KRAS.

KIẾN NGHỊ

Nhóm nghiên cứu khuyến cáo xác định tình trạng đột biến gen KRAS trước khi điều trị ung thư đại trực tràng, đặc biệt là ung thư trực tràng trước khi quyết định điều trị đích do đột biến gen KRAS gặp một tỉ lệ tương đối phổ biến. Tuy nhiên, do cỡ mẫu còn hạn chế nên một số kết luận chưa có ý nghĩa thống kê nên cần tiến hành nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn và thời gian nghiên cứu dài hơn để các khảo sát có ý nghĩa thống kê.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Globocan. (2012). Estimate Cancer Incidence, Mortlality and Prevalence Worldwide in 2012, Colorectal Cancer. Available from: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx, accessed: 20/11/2015
2. J. Ferlay, H. R. Shin, F. Bray et al (2010). Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer*, 127 (12), 2893-2917.
3. E. Altobelli, A. Lattanzi, R. Paduano et al (2014). Colorectal cancer prevention in Europe: burden of disease and status of screening programs. *Prev Med*, 62, 132-141.
4. M. Adorno, S. Sikandar, S. S. Mitra et al (2013). Usp16 contributes to somatic stem-cell defects in Down's syndrome. *Nature*, 501 (7467), 380-384.
5. P. H. Anh và N. T. Hạnh (1992). Ung thư Hà Nội 1991-1992. *Y Học Việt Nam, Chuyên đề ung thư*, 7, 7.
6. C. J. Chiu H.M, Wu K.C, Rerknimitr R, Li J, Wu D.C et al (2015). A Risk-scoring System Combined with a Fecal Immunochemical Test Is Effective in Screening High-risk Subjects for Early Colonoscopy to Detect Advanced Colorectal Neoplasms. *Gastroenterology*.
7. M. Echave, I. Oyaguez, M. J. Lamas et al (2015). Aflibercept in Combination with Folfiri in Patients with Metastatic Colorectal Cancer: Cost-Effectiveness Based on Velour Best Efficacy Subgroup Post-Hoc Analysis. *Value Health*, 18 (7), A454.

8. H. Hurwitz, L. Fehrenbacher, W. Novotny et al (2004). Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*, 350 (23), 2335-2342.
9. E. Sanz-Garcia, J. Grasselli, G. Argiles et al (2016). Current and advancing treatments for metastatic colorectal cancer. *Expert Opin Biol Ther*, 16 (1), 93-110.
10. E. Elez, G. Argiles, J. Taberero (2015). First-Line Treatment of Metastatic Colorectal Cancer: Interpreting FIRE-3, PEAK, and CALGB/SWOG 80405. *Curr Treat Options Oncol*, 16 (11), 52.
11. V. Heinemann, L. F. von Weikersthal, T. Decker et al (2014). FOLFIRI plus cetuximab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer (FIRE-3): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 15 (10), 1065-1075.
12. J. Wang, G. Hechmati, J. Dong et al (2016). Q-TWIST analysis of panitumumab plus FOLFOX4 versus FOLFOX4 alone in patients with previously untreated wild-type RAS metastatic colorectal cancer. *Curr Med Res Opin*, 32 (3), 459-465.
13. U. Vanhoefer, A. Harstrick, W. Achterrath et al (2001). Irinotecan in the treatment of colorectal cancer: clinical overview. *J Clin Oncol*, 19 (5), 1501-1518.
14. K. Fujita, Y. Kubota, H. Ishida et al (2015). Irinotecan, a key chemotherapeutic drug for metastatic colorectal cancer. *World J Gastroenterol*, 21 (43), 12234-12248.
15. N. A. Hawkins, Z. Berkowitz, J. L. Rodriguez (2015). Awareness of Dietary and Alcohol Guidelines Among Colorectal Cancer Survivors. *Am J Prev Med*, 49 (6 Suppl 5), S509-517.

16. W. Li, T. Qiu, W. Zhi et al (2015). Colorectal carcinomas with KRAS codon 12 mutation are associated with more advanced tumor stages. *BMC Cancer*, 15, 340.
17. Q. Feng, L. Liang, L. Ren et al (2015). A specific KRAS codon 13 mutation is an independent predictor for colorectal cancer metachronous distant metastases. *Am J Cancer Res*, 5 (2), 674-688.
18. I. Jung, S. Gurzu, G. S. Turdean (2015). Current status of familial gastrointestinal polyposis syndromes. *World J Gastrointest Oncol*, 7 (11), 347-355.
19. X. L. Li, C. Y. Zhou, Y. Sun et al (2015). Bioinformatic analysis of potential candidates for therapy of inflammatory bowel disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 19 (22), 4275-4284.
20. N. C. Hùng (1982). Ung thư đại trực tràng. *Sách ung thư học lâm sàng*, Trường Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh.
21. P. X. Bình (2000). Sinh lý tiêu hoá. *Sinh Lý Học*.
22. F. Ha, H. Khalil (2015). Crohn's disease: a clinical update. *Therap Adv Gastroenterol*, 8 (6), 352-359.
23. G. Lippi, C. Mattiuzzi, G. Cervellin (2016). Meat consumption and cancer risk: a critical review of published meta-analyses. *Crit Rev Oncol Hematol*, 97, 1-14.
24. J. Cannon (2015). Colorectal Neoplasia and Inflammatory Bowel Disease. *Surg Clin North Am*, 95 (6), 1261-1269, vii.
25. E. M. Chun, S. W. Kimm, S. Y. Lim (2015). Prevalence of colorectal adenomatous polyps in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 10, 955-960.
26. O. I. Selmin, C. Fang, A. M. Lyon et al (2016). Inactivation of

- Adenomatous Polyposis Coli Reduces Bile Acid/Farnesoid X Receptor Expression through Fxr gene CpG Methylation in Mouse Colon Tumors and Human Colon Cancer Cells. *J Nutr*, 146 (2), 236-242.
27. L. A. Brosens, G. J. Offerhaus, F. M. Giardiello (2015). Hereditary Colorectal Cancer: Genetics and Screening. *Surg Clin North Am*, 95 (5), 1067-1080.
 28. I. H. Kumamoto K., Ohsawa T., Ishibashi K., Ushiyama M., Yoshida T. et al (2015). Germline and somatic mutations of the APC gene in papillary thyroid carcinoma associated with familial adenomatous polyposis: Analysis of three cases and a review of the literature. *Oncol Lett*, 10:2239–43,
 29. M. H. Yazdi, M. A. Faramarzi, S. Nikfar et al (2015). A Comprehensive Review of Clinical Trials on EGFR Inhibitors Such as Cetuximab and Panitumumab as Monotherapy and in Combination for Treatment of Metastatic Colorectal Cancer. *Avicenna J Med Biotechnol*, 7 (4), 134-144.
 30. R. A. Villacis, P. M. Miranda, I. Gomy et al (2016). Contribution of rare germline copy number variations and common susceptibility loci in Lynch syndrome patients negative for mutations in the mismatch repair genes. *Int J Cancer*, 138 (8), 1928-1935.
 31. M. H. Chew, W. S. Tan, Y. Liu et al (2015). Genomics of Hereditary Colorectal Cancer: Lessons Learnt from 25 Years of the Singapore Polyposis Registry. *Ann Acad Med Singapore*, 44 (8), 290-296.
 32. J. Yu, W. Jiang (2015). Acute intussusception and polyp with malignant transformation in Peutz-Jeghers syndrome: A case report. *Oncol Lett*, 10 (2), 1008-1010.

33. G. Rahmi, B. Brieu, E. Samaha et al (2015). Jejunojejunal intussusception after polypectomy by spiral enteroscopy in Peutz-Jeghers syndrome. *Endoscopy*, 47 Suppl 1 UCTN, E540-541.
34. S. Dipro, F. Al-Otaibi, A. Alzahrani et al (2012). Turcot syndrome: a synchronous clinical presentation of glioblastoma multiforme and adenocarcinoma of the colon. *Case Rep Oncol Med*, 2012, 720273.
35. D. Mintsoulis, J. Beecker (2016). Muir-Torre syndrome. *CMAJ*, 188 (5), E95.
36. G. Bronte, N. Silvestris, M. Castiglia et al (2015). New findings on primary and acquired resistance to anti-EGFR therapy in metastatic colorectal cancer: do all roads lead to RAS? *Oncotarget*, 6 (28), 24780-24796.
37. Y. Sano, J. S. Byeon, X. B. Li et al (2016). Colorectal cancer screening of the general population in East Asia. *Dig Endosc*, 28 (3), 243-249.
38. M. I. Rasulov (2015). Capsule Endoscopy: The History and Prospects for Development. *Klin Med (Mosk)*, 93 (5), 32-36.
39. P. R. Slawinski, K. L. Obstein, P. Valdastrì (2015). Capsule endoscopy of the future: What's on the horizon? *World J Gastroenterol*, 21 (37), 10528-10541.
40. Y. L. Zhao, D. M. Cao, Q. C. Zhou et al (2014). Accuracy of Endorectal Endoscopic Ultrasound (EUS) for Locally Advanced Rectal Cancer (LARC) Restaging After Neoadjuvant Chemoradiotherapy (NAT): A Meta-Analysis. *Hepatogastroenterology*, 61 (132), 978-983.
41. S. T. Laurens, W. J. Oyen (2015). Impact of Fluorodeoxyglucose PET/Computed Tomography on the Management of Patients with

- Colorectal Cancer. *PET Clin*, 10 (3), 345-360.
42. A. Laghi (2014). Computed tomography colonography in 2014: an update on technique and indications. *World J Gastroenterol*, 20 (45), 16858-16867.
 43. C. Bellows, G. Gagliardi, L. Bacigalupo (2015). Review of computed tomographic colonography from a surgeon's perspective. *J Gastrointestin Liver Dis*, 24 (2), 215-223.
 44. F. Piard, L. Martin, C. Chapusot et al (2002). [New histologic prognostic factors in colorectal cancer]. *Gastroenterol Clin Biol*, 26 (5 Suppl), B62-73.
 45. Nguyễn Văn Hiếu (2015). Ung thư đại trực tràng. *Điều trị Phẫu Thuật Bệnh Ung Thư*, Nhà Xuất Bản Y học, Hà Nội.
 46. V. W. Chen, M. C. Hsieh, M. E. Charlton et al (2014). Analysis of stage and clinical/prognostic factors for colon and rectal cancer from SEER registries: AJCC and collaborative stage data collection system. *Cancer*, 120 Suppl 23, 3793-3806.
 47. J. H. C. Center (2009). The Epidermal Growth Factor Receptor Pathway. <<http://img.medscape.com/article/706/008/706008-fig2.jpg>>, accessed 7/12/2015.
 48. J. Mezger (1994). Adjuvant therapy in colorectal carcinomas. *Dtsch Med Wochenschr*, 119 (48), 1663-1668.
 49. H. Nelson, N. Petrelli, A. Carlin et al (2001). Guidelines 2000 for colon and rectal cancer surgery. *J Natl Cancer Inst*, 93 (8), 583-596.
 50. T. Ruers, C. Punt, F. Van Coevorden et al (2012). Radiofrequency ablation combined with systemic treatment versus systemic treatment alone in patients with non-resectable colorectal liver metastases: a

- randomized EORTC Intergroup phase II study (EORTC 40004). *Ann Oncol*, 23 (10), 2619-2626.
51. Bùi Công Toàn và Bùi Diệu (2013). Xạ trị ung thư trực tràng. *Thực hành xạ trị bệnh ung thư*, Nhà Xuất Bản Y học, Hà Nội.
 52. Bùi Diệu và Trần Văn Thuấn (2013). Ung thư đại trực tràng. *Thực hành điều trị nội khoa bệnh ung thư*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
 53. IMPACT (1995). Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in colon cancer. International Multicentre Pooled Analysis of Colon Cancer Trials (IMPACT) investigators. *Lancet*, 345 (8955), 939-944.
 54. J. M. Reid, J. S. Kovach, M. J. O'Connell et al (1998). Clinical and pharmacokinetic studies of high-dose levamisole in combination with 5-fluorouracil in patients with advanced cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*, 41 (6), 477-484.
 55. D. G. Haller, P. J. Catalano, J. S. Macdonald et al (2005). Phase III study of fluorouracil, leucovorin, and levamisole in high-risk stage II and III colon cancer: final report of Intergroup 0089. *J Clin Oncol*, 23 (34), 8671-8678.
 56. D. J. Kerr, R. Gray, C. McConkey et al (2000). Adjuvant chemotherapy with 5-fluorouracil, L-folinic acid and levamisole for patients with colorectal cancer: non-randomised comparison of weekly versus four-weekly schedules--less pain, same gain. QUASAR Colorectal Cancer Study Group. *Ann Oncol*, 11 (8), 947-955.
 57. Y. Dencausse, G. Hartung, J. Sturm et al (2002). Adjuvant chemotherapy in stage III colon cancer with 5-fluorouracil and levamisole versus 5-fluorouracil and leucovorin. *Onkologie*, 25 (5), 426-430.

58. T. Andre, C. Boni, L. Mounedji-Boudiaf et al (2004). Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. *N Engl J Med*, 350 (23), 2343-2351.
59. T. Andre, E. Quinaux, C. Louvet et al (2007). Phase III study comparing a semimonthly with a monthly regimen of fluorouracil and leucovorin as adjuvant treatment for stage II and III colon cancer patients: final results of GERCOR C96.1. *J Clin Oncol*, 25 (24), 3732-3738.
60. G. Yothers, M. J. O'Connell, C. J. Allegra et al (2011). Oxaliplatin as adjuvant therapy for colon cancer: updated results of NSABP C-07 trial, including survival and subset analyses. *J Clin Oncol*, 29 (28), 3768-3774.
61. R. Porschen, H. T. Arkenau, S. Kubicka et al (2007). Phase III study of capecitabine plus oxaliplatin compared with fluorouracil and leucovorin plus oxaliplatin in metastatic colorectal cancer: a final report of the AIO Colorectal Study Group. *J Clin Oncol*, 25 (27), 4217-4223.
62. D. Sargent, Q. Shi, G. Yothers et al (2011). Two or three year disease-free survival (DFS) as a primary end-point in stage III adjuvant colon cancer trials with fluoropyrimidines with or without oxaliplatin or irinotecan: data from 12,676 patients from MOSAIC, X-ACT, PETACC-3, C-06, C-07 and C89803. *Eur J Cancer*, 47 (7), 990-996.
63. C. Tournigand, T. Andre, E. Achille et al (2004). FOLFIRI followed by FOLFOX6 or the reverse sequence in advanced colorectal cancer: a randomized GERCOR study. *J Clin Oncol*, 22 (2), 229-237.
64. D. Klingbiel, Z. Saridaki, A. D. Roth et al (2015). Prognosis of stage II and III colon cancer treated with adjuvant 5-fluorouracil or FOLFIRI in relation to microsatellite status: results of the PETACC-3 trial. *Ann Oncol*, 26 (1), 126-132.

65. L. B. Saltz, J. V. Cox, C. Blanke et al (2000). Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. Irinotecan Study Group. *N Engl J Med*, 343 (13), 905-914.
66. A. Falcone, S. Ricci, I. Brunetti et al (2007). Phase III trial of infusional fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin, and irinotecan (FOLFOXIRI) compared with infusional fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the Gruppo Oncologico Nord Ovest. *J Clin Oncol*, 25 (13), 1670-1676.
67. F. A. Sinicrope, M. R. Mahoney, H. H. Yoon et al (2015). Analysis of Molecular Markers by Anatomic Tumor Site in Stage III Colon Carcinomas from Adjuvant Chemotherapy Trial NCCTG N0147 (Alliance). *Clin Cancer Res*, 21 (23), 5294-5304.
68. D. Vigil, J. Cherfils, K. L. Rossman et al (2010). Ras superfamily GEFs and GAPs: validated and tractable targets for cancer therapy? *Nat Rev Cancer*, 10 (12), 842-857.
69. M. Westwood, T. van Asselt, B. Ramaekers et al (2014). KRAS mutation testing of tumours in adults with metastatic colorectal cancer: a systematic review and cost-effectiveness analysis. *Health Technol Assess*, 18 (62), 1-132.
70. J. M. Ostrem, U. Peters, M. L. Sos et al (2013). K-Ras(G12C) inhibitors allosterically control GTP affinity and effector interactions. *Nature*, 503 (7477), 548-551.
71. M. J. Sorich, M. D. Wiese, A. Rowland et al (2015). Extended RAS mutations and anti-EGFR monoclonal antibody survival benefit in metastatic colorectal cancer: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Oncol*, 26 (1), 13-21.
72. L. A. Quilliam, S. Zhong, K. M. Rabun et al (1995). Biological and

structural characterization of a Ras transforming mutation at the phenylalanine-156 residue, which is conserved in all members of the Ras superfamily. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 92 (5), 1272-1276.

73. S. B. Steven (2009). Cancer signaling pathways. <<http://suffyabuzz.blogspot.com/2009/06/cancer-signaling-pathways.html>>, accessed 7/12/2015.
74. S. M. Anderson (2011). Laboratory methods for KRAS mutation analysis. *Expert Rev Mol Diagn*, 11 (6), 635-642.
75. H. Raskov, H. C. Pommergaard, J. Burcharth et al (2014). Colorectal carcinogenesis--update and perspectives. *World J Gastroenterol*, 20 (48), 18151-18164.
76. G. Bousquet, M. El Bouchtaoui, C. Leboeuf et al (2015). Tracking subclonal TP53 mutated tumor cells in human metastatic renal cell carcinoma. *Oncotarget*, 6 (22), 19279-19289.
77. M. Duman-Scheel (2009). Netrin and DCC: axon guidance regulators at the intersection of nervous system development and cancer. *Curr Drug Targets*, 10 (7), 602-610.
78. P. Mehlen, S. Tauszig-Delamasure (2014). Dependence receptors and colorectal cancer. *Gut*, 63 (11), 1821-1829.
79. L. Finci, Y. Zhang, R. Meijers et al (2015). Signaling mechanism of the netrin-1 receptor DCC in axon guidance. *Prog Biophys Mol Biol*, 118 (3), 153-160.
80. S. P. Malkoski, X. J. Wang (2012). Two sides of the story? Smad4 loss in pancreatic cancer versus head-and-neck cancer. *FEBS Lett*, 586 (14), 1984-1992.

81. H. B. Rezaei, D. Kamato, G. Ansari et al (2012). Cell biology of Smad2/3 linker region phosphorylation in vascular smooth muscle. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 39 (8), 661-667.
82. R. Fishel (2015). Mismatch repair. *J Biol Chem*, 290 (44), 26395-26403.
83. S. Shinozaki, Y. Hayashi, A. K. Lefor et al (2016). What is the best therapeutic strategy for colonoscopy of colorectal neoplasia? Future perspectives from the East. *Dig Endosc*, 28 (3), 289-295.
84. S. L. Campbell-Burk, J. W. Carpenter (1995). Refolding and purification of Ras proteins. *Methods Enzymol*, 255, 3-13.
85. O. I. Kit, D. I. Vodolazhsky (2015). Molecular biology of colorectal cancer in clinical practice. *Mol Biol (Mosk)*, 49 (4), 531-540.
86. W. M. Amado R.G., Peeters M., Cutsem E.V., Siena S., Freeman D.J. et al (2008). Wild-Type KRAS Is Required for Panitumumab Efficacy in Patients With Metastatic Colorectal Cancer. *JCO*, 26, 1626–34.
87. R. Fodde, R. Smits, H. Clevers (2001). APC, signal transduction and genetic instability in colorectal cancer. *Nat Rev Cancer*, 1 (1), 55-67.
88. W. Li, T. Qiu, Y. Ling et al (2015). Molecular pathological epidemiology of colorectal cancer in Chinese patients with KRAS and BRAF mutations. *Oncotarget*, 6 (37), 39607-39613.
89. G. Ponti, A. Tomasi, A. Maiorana et al (2016). BRAFp.V600E, p.V600K, and p.V600R Mutations in Malignant Melanoma: Do They Also Differ in Immunohistochemical Assessment and Clinical Features? *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 24 (1), 30-34.
90. T. B. O. Cancer (2013). Oncogenic mutations in ras genes prevent the protein from hydrolyzing GTP to GDP. As a result, the protein remains always in its active GTP-bound form, continually activating the MAP kinase cascade, leading to proliferation. <https://bioofcancer.files.wordpress.com/2013/03/large_428_2008_665_fig2_html-1.jpg>, accessed 7/12/2015.

91. NCBI (2016). KRAS Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog [Homo sapiens (human)] - NCBI Gene. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3845>>, accessed 7/12/2016.
92. H. Bando, T. Yoshino, K. Tsuchihara et al (2011). KRAS mutations detected by the amplification refractory mutation system-Scorpion assays strongly correlate with therapeutic effect of cetuximab. *Br J Cancer*, 105 (3), 403-406.
93. H. Bando, K. Tsuchihara, T. Yoshino et al (2011). Biased discordance of KRAS mutation detection in archived colorectal cancer specimens between the ARMS-Scorpion method and direct sequencing. *Jpn J Clin Oncol*, 41 (2), 239-244.
94. Generate high-quality Sanger sequencing data with our proven workflow. <http://www.thermofisher.com/vn/en/home/life-science/sequencing/sanger-sequencing/sanger_sequencing_method.html>, accessed 7/12/2016.
95. Sequencing Chemistries. <<http://www.appliedbiosystems.com/absite/us/en/home/applications-technologies/dna-sequencing-fragment-analysis/overview-of-dna-sequencing/sequencing-chemistries.html>>, accessed 7/12/2016.
96. A. I. Phipps, D. D. Buchanan, K. W. Makar et al (2013). KRAS-mutation status in relation to colorectal cancer survival: the joint impact of correlated tumour markers. *Br J Cancer*, 108 (8), 1757-1764.
97. S. Ogino, J. A. Meyerhardt, N. Irahara et al (2009). KRAS mutation in stage III colon cancer and clinical outcome following intergroup trial CALGB 89803. *Clin Cancer Res*, 15 (23), 7322-7329.
98. S. Tejpar, I. Celik, M. Schlichting et al (2012). Association of KRAS G13D tumor mutations with outcome in patients with metastatic

- colorectal cancer treated with first-line chemotherapy with or without cetuximab. *J Clin Oncol*, 30 (29), 3570-3577.
99. V. K. Morris, F. A. Lucas, M. J. Overman et al (2014). Clinicopathologic characteristics and gene expression analyses of non-KRAS 12/13, RAS-mutated metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol*, 25 (10), 2008-2014.
 100. T. Akman, I. Oztop, Y. Baskin et al (2016). The association of clinicopathological features and survival in colorectal cancer patients with kras mutation status. *J Cancer Res Ther*, 12 (1), 96-102.
 101. S. Tejpar, S. Stintzing, F. Ciardiello et al (2016). Prognostic and Predictive Relevance of Primary Tumor Location in Patients With RAS Wild-Type Metastatic Colorectal Cancer: Retrospective Analyses of the CRYSTAL and FIRE-3 Trials. *JAMA Oncol*,
 102. N. K. Dụ, T. T. Văn và T. V. Khánh (2011). Xây dựng qui trình xác định đột biến gen KRAS ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng. *Tạp chí y học Việt Nam*, 2 (382), 4.
 103. N. K. Dụ và T. T. Văn (2013). Phát hiện đột biến gen KRAS và bước đầu đánh giá hiệu quả điều trị đích ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng. *Tạp chí y học Việt Nam*. 2013;2:38–41.
 104. L. V. Thiệu (2013). *Nghiên cứu sự đột biến gen KRAS và mối liên quan đột biến gene KRAS với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng bệnh ung thư đại trực tràng*. Luận Án Tiến Sĩ Y học, Học viện Quân Y,
 105. T. J. George, Jr., C. J. Allegra, G. Yothers (2015). Neoadjuvant Rectal (NAR) Score: a New Surrogate Endpoint in Rectal Cancer Clinical Trials. *Curr Colorectal Cancer Rep*, 11 (5), 275-280.

106. T. V. Hợp và N. V. Thịnh (1997). Đặc điểm hình thái học của ung thư đại tràng tại bệnh viện Bưu điện 1/1997-5/2002. *Tạp chí y học Việt Nam*, 10-11, 3.
107. P. V. Hạnh (2004). *Nhận xét tổn thương ung thư đại tràng qua nội soi ống mềm đối chiếu với lâm sàng và giải phẫu bệnh tại bệnh viện K từ 2000 đến 2004*. Luận văn Bác sĩ chuyên khoa cấp II, Đại học Y Hà Nội 2004.
108. T. Q. Tiên (2007). *Đánh giá kết quả nội soi nhuộm màu Indigo Carmin để làm rõ tổn thương chỉ điểm sinh thiết trong ung thư và polyp đại trực tràng*. Luận văn Bác sĩ chuyên khoa cấp II, Đại học Y Hà Nội.
109. N. Q. Hùng (2006). *Nghiên cứu mức xâm lấn của ung thư trực tràng qua lâm sàng và chụp cộng hưởng từ tại Bệnh viện K*, Luận văn Bác sĩ nội trú, Đại học Y Hà Nội.
110. Nguyễn Văn Hiếu (2002). *Nghiên cứu độ xâm lấn của ung thư trực tràng qua lâm sàng, nội soi và siêu âm nội trực tràng*, Luận Án Tiến Sĩ Y học, Đại học Y Hà Nội.
111. M. E. McFarlane, A. Rhoden, P. R. Fletcher et al (2004). Cancer of the colon and rectum in a Jamaican population: diagnostic implications of the changing frequency and subsite distribution. *West Indian Med J*, 53 (3), 170-173.
112. P. Fuszek, H. C. Horvath, G. Speer et al (2006). Change in location of colorectal cancer in Hungarian patients between 1993-2004. *Orv Hetil*, 147 (16), 741-746.
113. A. B. Benson (2007). Epidemiology, disease progression, and economic burden of colorectal cancer. *J Manag Care Pharm*, 13 (6 Suppl C), S5-18.

114. M. R. J (2007). *Gastrointestinal tract cancer, Harrison's Principles of internal medicine*
115. Trần Thắng (2012). *Nghiên cứu áp dụng hóa trị hỗ trợ phác đồ FUFA trong điều trị ung thư biểu mô tuyến đại tràng*, Luận Án Tiến Sĩ Y học, Đại học Y Hà Nội.
116. Đ. T. K. Phương (2004). *Nhận xét một số đặc điểm lâm sàng, nội soi và mô bệnh học của ung thư trực tràng tại bệnh viện K*. Luận văn Thạc Sĩ Y học, Đại học Y Hà Nội .
117. Bùi Ánh Tuyết (2013). *Ứng dụng nội soi NBI (Narrow band imaging) trong chẩn đoán polyp và ung thư đại trực tràng tại bệnh viện K*. Đề tài nghiên cứu cơ sở khoa nội soi. 2013. Bệnh viện K.
118. Đ. T. T. Bình (2010). *Nhận xét đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và xác định một số yếu tố nguy cơ tái phát, di căn trong ung thư đại tràng tại bệnh viện K*, Luận văn Thạc Sĩ, Đại học Y Hà Nội 2010.
119. L. Q. Minh (2012). *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, nội soi mô bệnh học và biến đổi biểu hiện gen của ung thư biểu mô đại trực tràng bằng phương pháp Microarray*, Luận Án Tiến Sĩ Y học, Học viện Quân y.
120. A. Jemal, R. Siegel, J. Xu et al (2010). Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin*, 60 (5), 277-300.
121. C. C. Moreno, P. K. Mittal, P. S. Sullivan et al (2016). Colorectal Cancer Initial Diagnosis: Screening Colonoscopy, Diagnostic Colonoscopy, or Emergent Surgery, and Tumor Stage and Size at Initial Presentation. *Clin Colorectal Cancer*, 15 (1), 67-73.

122. Nguyễn Đại Bình (2010). Đánh giá thời gian sống thêm sau điều trị ung thư đại trực tràng tại Khoa ngoại Tam Hiệp Bệnh viện K. *Tạp chí Ung thư học Việt Nam*, 1, 369.
123. N. Q. Thái (2002). *Nghiên cứu một số phương pháp chẩn đoán và kết quả sau 5 năm điều trị phẫu thuật ung thư đại trực tràng*, Luận Án Tiến Sĩ Y học, Học viện Quân y.
124. V. T. Doanh và Nguyễn Văn Hiếu (2006). Nghiên cứu một số yếu tố nguy cơ di căn xa của ung thư đại trực tràng điều trị tại Bệnh viện K từ 2003 - 2004. *Tạp chí Y học thực hành*, 11.
125. N. V. Lê (2008). *Đánh giá kết quả PTNS điều trị ung thư đại tràng tại bệnh viện Việt Đức*, Luận văn Bác sĩ chuyên khoa cấp II, Đại học Y Hà Nội.
126. S. J. Laken, N. Papadopoulos, G. M. Petersen et al (1999). Analysis of masked mutations in familial adenomatous polyposis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96 (5), 2322-2326.
127. P. J. Pickhardt, C. Hassan, S. Halligan et al (2011). Colorectal cancer: CT colonography and colonoscopy for detection--systematic review and meta-analysis. *Radiology*, 259 (2), 393-405.
128. D. K. Rex, E. Y. Rahmani, J. H. Haseman et al (1997). Relative sensitivity of colonoscopy and barium enema for detection of colorectal cancer in clinical practice. *Gastroenterology*, 112 (1), 17-23.
129. B. Bressler, L. F. Paszat, Z. Chen et al (2007). Rates of new or missed colorectal cancers after colonoscopy and their risk factors: a population-based analysis. *Gastroenterology*, 132 (1), 96-102.

130. N. H. Minh và Nguyễn Văn Hiếu (2012). Đánh giá mức độ xâm lấn tại chỗ và di căn hạch của ung thư trực tràng bằng MRI 1.5 Tesla. *Tạp chí y học Việt Nam*, 2, 135–9.
131. R. F. Thoeni (1997). Colorectal cancer. Radiologic staging. *Radiol Clin North Am*, 35 (2), 457-485.
132. M. R. McAndrew, A. K. Saba (1999). Efficacy of routine preoperative computed tomography scans in colon cancer. *Am Surg*, 65 (3), 205-208.
133. A.O.S. Mathias L. (2010). *Magnetic Resonance Imaging of Rectal Cancer, MRI of Rectal Cancer, Springer:25 - 47,*
134. M. Torabi, S. L. Aquino, M. G. Harisinghani (2004). Current concepts in lymph node imaging. *J Nucl Med*, 45 (9), 1509-1518.
135. E. Al-Sukhni, L. Milot, M. Fruitman et al (2012). Diagnostic accuracy of MRI for assessment of T category, lymph node metastases, and circumferential resection margin involvement in patients with rectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Ann Surg Oncol*, 19 (7), 2212-2223.
136. T. X. Vĩnh (2014). *Đánh giá hiệu quả của phác đồ FOLFIRI trong điều trị ung thư đại trực tràng tái phát tại bệnh viện K.* Luận văn Thạc sỹ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
137. B. B. Su, H. Shi, J. Wan (2012). Role of serum carcinoembryonic antigen in the detection of colorectal cancer before and after surgical resection. *World J Gastroenterol*, 18 (17), 2121-2126.
138. R. M (2009). Epithelial neoplasms of large intestine. In *Surgical Pathology of GI tract, liver, biliary tract and pancreas*, second edition, edited by Odze RD and Goldblum JR, Sunuder Elsevier. 597-637.

139. L. Đ. Roanh, H. V. Kỳ , N. T. Thoa và cộng sự (1999). Nghiên cứu hình thái học ung thư đại trực tràng gặp tại bệnh viện K Hà Nội. *Tạp chí thông tin Y Dược*, 66–70.
140. C. V. Đức và Đ. T. Hoạt (2007). Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học và bộc lộ dấu ấn hóa mô miễn dịch CK7, CK20, f53 của ung thư trực tràng. *Tạp chí Y học thực hành*, 7.
141. M. R. Akbari, A. Mohammadkhani, H. Fakheri et al (2006). Screening of the adult population in Iran for coeliac disease: comparison of the tissue-transglutaminase antibody and anti-endomysial antibody tests. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 18 (11), 1181-1186.
142. P. G. Khánh và V. H. Nùng Ung thư đại tràng. Học viện Quân y. Nhà Xuất Bản Quân đội nhân dân; 148AD.
143. H. Masoomi, A. Ziogas, B. S. Lin et al (2012). Population-based evaluation of adenosquamous carcinoma of the colon and rectum. *Dis Colon Rectum*, 55 (5), 509-514.
144. U. Nitsche, A. Zimmermann, C. Spath et al (2013). Mucinous and signet-ring cell colorectal cancers differ from classical adenocarcinomas in tumor biology and prognosis. *Ann Surg*, 258 (5), 775-782; discussion 782-773.
145. R. Amri, L. G. Bordeianou và D. L. Berger (2016). Effect of High-Grade Disease on Outcomes of Surgically Treated Colon Cancer. *Ann Surg Oncol*, 23 (4), 1157-1163.
146. D. Alexander, N. Jhala, C. Chatla et al (2005). High-grade tumor differentiation is an indicator of poor prognosis in African Americans with colonic adenocarcinomas. *Cancer*, 103 (10), 2163-2170.

147. S. Shiovitz và W. M. Grady (2015). Molecular markers predictive of chemotherapy response in colorectal cancer. *Curr Gastroenterol Rep*, 17 (2), 431.
148. H. J. Andreyev, A. R. Norman, D. Cunningham et al (2001). Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the 'RASCAL II' study. *Br J Cancer*, 85 (5), 692-696.
149. G. M. Nash, M. Gimbel, J. Shia et al (2010). KRAS mutation correlates with accelerated metastatic progression in patients with colorectal liver metastases. *Ann Surg Oncol*, 17 (2), 572-578.
150. A. D. Roth, S. Tejpar, M. Delorenzi et al (2010). Prognostic role of KRAS and BRAF in stage II and III resected colon cancer: results of the translational study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 trial. *J Clin Oncol*, 28 (3), 466-474.
151. A. Lievre, J. B. Bachet, D. Le Corre et al (2006). KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res*, 66 (8), 3992-3995.
152. C. S. Karapetis, S. Khambata-Ford, D. J. Jonker et al (2008). K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med*, 359 (17), 1757-1765.
153. M. Peeters, T. J. Price, A. Cervantes et al (2010). Randomized phase III study of panitumumab with fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) compared with FOLFIRI alone as second-line treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*, 28 (31), 4706-4713.
154. C. Cunningham, M. G. Dunlop (1996). Molecular genetic basis of colorectal cancer susceptibility. *Br J Surg*, 83 (3), 321-329.

155. J. Breivik, G. I. Meling, A. Spurkland et al (1994). K-ras mutation in colorectal cancer: relations to patient age, sex and tumour location. *Br J Cancer*, 69 (2), 367-371.
156. K. Stefanius, L. Ylitalo, A. Tuomisto et al (2011). Frequent mutations of KRAS in addition to BRAF in colorectal serrated adenocarcinoma. *Histopathology*, 58 (5), 679-692.
157. N. K. Dụ (2017). *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và đột biến gen KRAS, BRAF ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng*, Luận văn tiến sỹ y học 2017, Đại học Y Hà Nội.
158. O. Zulhabri, J. Rahman, S. Ismail et al (2012). Predominance of G to A codon 12 mutation K-ras gene in Dukes' B colorectal cancer. *Singapore Med J*, 53 (1), 26-31.
159. Y. Shi, J. S. Au, S. Thongprasert et al (2014). A prospective, molecular epidemiology study of EGFR mutations in Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer of adenocarcinoma histology (PIONEER). *J Thorac Oncol*, 9 (2), 154-162.
160. J. M. Weiss, P. R. Pfau, E. S. O'Connor et al (2011). Mortality by stage for right- versus left-sided colon cancer: analysis of surveillance, epidemiology, and end results--Medicare data. *J Clin Oncol*, 29 (33), 4401-4409.
161. Z. Yunxia, C. Jun, Z. Guanshan et al (2010). Mutations in epidermal growth factor receptor and K-ras in Chinese patients with colorectal cancer. *BMC Med Genet*, 11, 34.
162. X. Liu, M. Jakubowski, J. L. Hunt (2011). KRAS gene mutation in colorectal cancer is correlated with increased proliferation and spontaneous apoptosis. *Am J Clin Pathol*, 135 (2), 245-252.

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

AJCC	: American Joint Committee on Cancer - Hiệp hội ung thư Mỹ
ARS	: Age Standardized Rate – Tỷ lệ mắc chuẩn theo tuổi
ARMS	: Amplification refractory mutation system (Hệ thống khuếch đại đột biến)
BMI	: Body Mass Index - Chỉ số cơ thể
BN	: Bệnh nhân
CEA	: Carcino-embryonnaire Antigen - Kháng nguyên ung thư bào thai
CLVT	: Cắt lớp vi tính
CS	: Cộng sự
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
ĐTT	: Đại trực tràng
EGFR	: Epidermal Growth Factor Receptor (Thụ thể yếu tố phát triển biểu mô)
IARC	: International Agency for Research on Cancer (Cơ quan nghiên cứu Ung thư quốc tế)
KRAS	: Kirsten rat sarcoma 2 viral oncogen homolog - Gen KRAS
PCR	: Polymerase Chain Reaction - Phản ứng khuếch đại gen
SA	: Siêu âm
UTBM	: Ung thư biểu mô
UTĐTT	: Ung thư đại trực tràng
WHO	: World Health Organization - Tổ chức Y tế thế giới

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN.....	3
1.1. DỊCH TỄ UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNG	3
1.1.1. Tình hình mắc bệnh ung thư đại trực tràng.....	3
1.1.2. Nguyên nhân và các yếu tố nguy cơ của ung thư đại trực tràng.....	3
1.2. CHẨN ĐOÁN UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNG.....	5
1.2.1. Triệu chứng lâm sàng.....	5
1.2.2. Cận lâm sàng	7
1.2.3. Chẩn đoán giai đoạn ung thư đại trực tràng.....	17
1.3. ĐIỀU TRỊ UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNG.....	18
1.3.1. Điều trị phẫu thuật ung thư đại tràng	19
1.3.2. Xạ trị trong ung thư đại trực tràng	20
1.3.3. Điều trị nội khoa ung thư đại trực tràng.....	21
1.4. GEN KRAS VÀ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC PHÂN TỬ UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNG	24
1.4.1. Đặc điểm sinh học phân tử.....	24
1.4.2. Các kỹ thuật xác định đột biến gen KRAS	31
1.4.3. Tình hình nghiên cứu gen KRAS trong nước và trên thế giới.....	36
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	42
2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU	42
2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân	42
2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ	42
2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	42
2.2.1. Phương pháp nghiên cứu: Mô tả tiến cứu.	42
2.2.2. Cỡ mẫu	42
2.2.3. Thu thập thông tin.....	43
2.2.4. Nội dung nghiên cứu.....	44

2.3. XỬ LÝ SỐ LIỆU	56
2.4. KHÍA CẠNH ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU	57
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ.....	59
3.1. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG VÀ CẬN LÂM SÀNG	59
3.1.1. Tuổi và giới	59
3.1.2. Thời gian từ khi có triệu chứng đầu tiên đến khi vào viện	60
3.1.3. Đặc điểm lâm sàng	61
3.1.4. Đặc điểm cận lâm sàng	62
3.2. ĐẶC ĐIỂM ĐỘT BIẾN GEN KRAS VÀ MỐI LIÊN QUAN VỚI CÁC ĐẶC ĐIỂM BỆNH HỌC	70
3.2.1. Tình trạng đột biến gen KRAS	70
3.2.2. Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và giới	72
3.2.3. Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và tuổi.....	73
3.2.4. Mối liên quan giữa gen KRAS với vị trí u.....	74
3.2.5. Mối liên quan giữa đột biến KRAS và kích thước khối u	77
3.2.6. Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và độ ác tính.....	80
3.2.7. Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và nồng độ CEA.....	81
3.2.8. Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và thời gian diễn biến bệnh. 82	
3.2.9. Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS và giai đoạn bệnh ...	83
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN	86
4.1. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG VÀ CẬN LÂM SÀNG	86
4.1.1. Tuổi và giới	86
4.1.2. Thời gian từ khi có triệu chứng đầu tiên đến khi nhập viện	89
4.1.3. Đặc điểm lâm sàng	90
4.1.4. Đặc điểm cận lâm sàng	92
4.1.5. Đặc điểm giai đoạn bệnh.....	104

4.2. TÌNH TRẠNG ĐỘT BIẾN GEN KRAS, MỐI TƯƠNG QUAN GIỮA ĐỘT BIẾN GEN KRAS VÀ MỘT SỐ YẾU TỐ	105
4.2.1. Bàn luận về vai trò gen KRAS trong ung thư đại trực tràng	105
4.2.2. Tình trạng đột biến gen KRAS	107
4.2.3. Mối liên quan giữa tình trạng đột biến KRAS và giới.....	108
4.2.4. Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS với tuổi	110
4.2.5. Mối liên quan giữa KRAS và vị trí khối u.....	111
4.2.6. Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và độ ác tính khối u.....	115
4.2.7. Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và nồng độ CEA.....	117
4.2.8. Mối liên quan giữa đột biến KRAS và giai đoạn bệnh	118
KẾT LUẬN	123
KIẾN NGHỊ	125
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 2.1:	Phân loại giai đoạn ung thư đại trực tràng theo AJCC 2010.....	48
Bảng 2.2:	Các nguyên liệu cần cho vào phản ứng giải trình tự gen	50
Bảng 2.3:	Bảng chuẩn bị Master mix cho phản ứng	54
Bảng 3.1:	Triệu chứng cơ năng	61
Bảng 3.2:	Triệu chứng thực thể.....	61
Bảng 3.3:	Triệu chứng toàn thân	62
Bảng 3.4:	Hình ảnh đại thể khối u trên nội soi.....	63
Bảng 3.5:	Đặc điểm kích thước u theo chu vi	64
Bảng 3.6:	Mức độ khó khăn khi nội soi	64
Bảng 3.7:	Tỉ lệ phát hiện u trên cận lâm sàng	65
Bảng 3.8:	Tỉ lệ phát hiện di căn hạch bằng chẩn đoán hình ảnh.....	65
Bảng 3.9:	Tỉ lệ phát hiện di căn xa bằng chẩn đoán hình ảnh.....	66
Bảng 3.10:	Hình ảnh đại thể khối u sau mổ	67
Bảng 3.11:	Đặc điểm thể mô bệnh học	68
Bảng 3.12:	Đặc điểm giai đoạn bệnh	69
Bảng 3.13:	Tỉ lệ các dạng đột biến KRAS ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng.	70
Bảng 3.14:	Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và giới	72
Bảng 3.15:	Mối liên quan giữa đột biến codon 12 gen KRAS và giới	72
Bảng 3.16:	Mối liên quan giữa đột biến codon 13 gen KRAS và giới	73
Bảng 3.17:	Bộ lộ đột biến gen KRAS ở trực tràng và đại tràng.....	74
Bảng 3.18:	Biểu hiện đột biến codon 12 gen KRAS ở trực tràng và đại tràng ..	75
Bảng 3.19:	Biểu hiện đột biến codon 13 gen KRAS ở trực tràng và đại tràng ..	75
Bảng 3.20:	Biểu hiện đột biến gen KRAS giữa đại tràng phải và trái	76
Bảng 3.21:	Biểu hiện đột biến codon 12 gen KRAS ở đại tràng phải và đại tràng trái	76

Bảng 3.22: Biểu hiện đột biến codon 13 gen KRAS ở đại tràng phải và đại tràng trái	77
Bảng 3.23: Môi liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS và độ ác tính	80
Bảng 3.24: Môi liên quan giữa tình trạng đột biến codon 12 gen KRAS và độ ác tính.....	80
Bảng 3.25: Môi liên quan giữa tình trạng đột biến codon 13 gen KRAS và độ ác tính.....	81
Bảng 3.26: Môi liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS và giai đoạn T ..	83
Bảng 3.27: Môi liên quan giữa tình trạng đột biến codon 12 gen KRAS và giai đoạn T	83
Bảng 3.28: Môi liên quan giữa tình trạng đột biến codon 13 gen KRAS và giai đoạn T	84
Bảng 3.29: Môi liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS và di căn hạch	85
Bảng 3.30: Môi liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS và di căn xa	85
Bảng 4.1: Phân loại typ mô học theo WHO	101

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1:	Phân bố tuổi của bệnh nhân nghiên cứu.....	59
Biểu đồ 3.2:	Phân bố bệnh nhân nghiên cứu theo giới	60
Biểu đồ 3.3:	Thời gian từ khi có triệu chứng đầu tiên đến khi nhập viện ..	60
Biểu đồ 3.4:	Vị trí u ở đại tràng hay trực tràng.....	62
Biểu đồ 3.5:	Vị trí u ở đại tràng phải hay đại tràng trái	63
Biểu đồ 3.6:	Nồng độ CEA huyết thanh bệnh nhân u.....	66
Biểu đồ 3.7:	Phân bố kích thước khối u.....	67
Biểu đồ 3.8:	Độ ác tính của ung thư đại trực tràng	68
Biểu đồ 3.9:	Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và tuổi.....	73
Biểu đồ 3.10:	Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và kích thước u....	77
Biểu đồ 3.11:	Phân bố kích thước khối u theo đột biến codon 12 gen KRAS	78
Biểu đồ 3.12:	Phân bố kích thước khối u theo đột biến codon 13 gen KRAS.	79
Biểu đồ 3.13:	Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và nồng độ CEA ..	81
Biểu đồ 3.14:	Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS và diễn biến bệnh	82

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1.	Phân loại giai đoạn ung thư đại trực tràng.....	18
Hình 1.2.	Mô hình cấu trúc gen KRAS	25
Hình 1.3.	Các con đường truyền tín hiệu nội bào khởi nguồn từ EGFR.....	29
Hình 1.4.	Vai trò của đột biến KRAS trong việc hoạt hóa gây ung thư các con đường truyền tín hiệu nội bào.....	31
Hình 1.5.	Nguyên tắc của kỹ thuật Scorpion ARMS.....	32
Hình 1.6.	Chu trình sequencing	33
Hình 1.7.	Chu trình sequencing sử dụng Dye Terminators	34
Hình 3.1.	Kết quả giải trình tự của một số đột biến gen KRAS	71
Hình 3.2.	Kết quả xác định đột biến KRAS bằng phương pháp Scorpion ARMS đối chiếu với phương pháp giải trình tự gen.....	71