ĐẶT VẤN ĐỀ

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 chết cao thứ 4 trong các bệnh UT. Ở Việt Nam, theo IARC 2012, mỗi năm có khoảng 8.768 bệnh nhân mắc mới, 4.131 bệnh nhân chết do UTĐTT. UTĐTT được chẩn đoán xác định bằng nội soi kết hợp với sinh thiết chẩn đoán mô bệnh học.

Trên thực tế có khoảng 60% bệnh nhân được chẩn đoán ở giai đoạn muộn, phương pháp điều trị chính là hóa trị và điều trị trúng đích giúp cải thiện chất lượng cuộc sống và kéo dài thời gian sống thêm. Tuy nhiên, trên lâm sàng, nhiều trường hợp bệnh nhân UTĐTT có biểu hiện quá mức EGFR nhưng không đáp ứng với kháng thể chống EGFR (cetuximab, panitumumab). Tình trạng gen KRAS có liên quan gì đến kết quả điều trị UTĐTT. Trên thế giới và ở Việt Nam đã có một số nghiên cứu về các đột biến gen KRAS, và dự báo tình trạng kháng thuốc có liên quan đến đột biến tại exon 2 ở vị trí codon 12 và 13. Tuy nhiên chưa có một nghiên cứu nào mô tả đồng thời đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và gen KRAS trong UTĐTT. Do đó, chúng tôi tiến thực hiện đề tài:"Nghiên cứu 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 UTĐTT*
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.*

1. Tính cấp thiết của đề tài

UTĐTT là bệnh ung thư phổ biến. Điều trị toàn thân bao gồm hoá trị và điều trị trúng 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 trong điều trị như kháng thể chống EGFR (cetuximab, panitumumab) đối với bệnh nhân không có đột biến gen KRAS, các thuốc nhắm trúng 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. 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 cetuximab, panitumumab. Trên thế giới và ở Việt Nam đã có một số nghiên cứu về các đột biến gen KRAS và dự báo tình trạng kháng thuốc có liên quan đến đột biến tại exon 2 ở

vị trí codon 12 và 13. Tuy nhiên, 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. Đó cũng là những những lý do chúng tôi thực hiện đề tài này.

2. Đóng góp mới của luận án

Qua nghiên cứu 65 bệnh nhân UTĐTT, 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%). Loét sùi và sùi là hình thái u hay gặp nhất trên đại thể khi soi. U chiếm từ 3/4 chu vi trở nên chiếm ưu thế, chiếm 84,6%. Tỉ lệ không đưa được ống soi qua chiếm 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%. Đặc điểm giải phẫu bệnh, 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%.

Gen KRAS biểu hiện trên UTĐTT gặp ở một ti lệ tương đối phổ biến. 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. U đại tràng phải, mức độ xâm lấn khối u có xu hướng làm tăng tỉ lệ đột biến gen KRAS. Không có mối liên quan giữa kích thước khối u và đột biến gen KRAS.

3. Bố cục luận án

Luận án gồm 125 trang. Đặt vấn đề (2 trang), phần kết luận (2 trang) và phần kiến nghị (1 trang). Có 4 chương bao gồm chương 1: Tổng quan 40 trang; chương 2: Đối tượng và phương pháp nghiên cứu 16 trang; chương 3: Kết quả nghiên cứu 27 trang; chương 4: Bàn luận 37 trang. Luận án gồm 34 bảng, 14 biểu đồ, 9 hình, 162 tài liệu tham khảo (Tiếng Việt: 29, Tiếng Anh: 133).

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

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. Shuji Ogino và cộng sự công bố tỉ lệ đột biến gen KRAS là 35%, trong khi Li W và Tejpar ghi nhận tỉ lệ 36,6% và 39%. 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%.

Wenbin Li và CS xét nghiệm đột biến gen KRAS trên mẫu khối u cố định trong parafin của 762 bệnh nhân UTĐTT, 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.

Akman T và CS báo cáo tỉ lệ đột biến gen KRAS là 38,3%, trong đó 88,7% bệnh nhân đột biến codon 12 và 11,3% đột biến codon 13 exon 2.

Teipar và cộng sự khảo sát tình trạng đột biến từng codon (codon12, 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. Trong đó 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 trạng sigma và trực tràng. Gen KRAS tự nhiên ở đại tràng trái có tiên lượng tốt hơn đại tràng phải.

Morris VK và cộng sự khảo sát tình trạng đột biến KRAS codon 12/13 là 47,7%. 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.

Tình hình nghiên cứu ở Việt Nam

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%.

Nghiên cứu của Lê Văn Thiệu và CS (2013) trên 79 bệnh nhân UTĐTT, tỉ lệ đột biến gen KRAS trong ung thư đại trực tràng là 58,2%, trong đó tất cả đều là đột biến codon. Trong nghiên cứu này, tỉ lệ bệnh nhân ung thư đại trực tràng có đột biến gen *KRAS* ở nam giới chiếm 63% và nữ giới là 37% (p > 0,05). Tình trạng đột biến gen KRAS có liên quan đến một số yếu tố như: kích thước khối u, tình trạng thiếu máu.

CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân

- Bệnh nhân UTĐTT được chẩn đoán UTĐTT bằng giải phẫu bệnh
- Khai thác đủ bệnh sử, tiền sử và các thông tin theo mẫu
- Được tiến hành nội soi và được mô tả chi tiết thương tổn
- Được tiến hành sinh thiết qua nội soi làm xét nghiệm mô bệnh học
- 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: Phương pháp mô tả tiến cứu.

2.2.2. Cỡ mẫu: được tính theo công thức:

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

n: cỡ mẫu Z1-α/2: 1,96 ε: 0,3

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

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

2.2.3. Phương pháp tiến hành: Bệnh nhân đủ tiêu chuẩn được lựa chọn vào nghiên cứu. Tất cả các bệnh nhân được ghi nhận thông tin đầy đủ theo mẫu bệnh án thống nhất, được trực tiếp tiến hành nội soi ĐTT đánh giá tổn thương và sinh thiết qua nội soi. Các đặc điểm cận lâm sàng được ghi nhận. Các mẫu bệnh phẩm được lấy từ bệnh phẩm sinh thiết qua nội soi hoặc từ bệnh phẩm sau phẫu thuật, được cố định bảo quản chuyển đến khoa giải phẫu bệnh và phòng xét nghiệm sinh học phân tử để tiến hành xét nghiệm chẩn đoán xác định bệnh và xét nghiệm gen KRAS bằng kỹ thuật giải trình tự gen hoặc Scorpion ARMs.

2.3. Phân tích số liệu:

Sử dụng phần mềm SPSS 24.0 và thống kê R để phân tích số liệu.

Phương pháp thống kê được sử dụng bao gồm:

- Tính tỉ lệ phần trăm, giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, giá trị nhỏ nhất, lớn nhất.
- Test ANOVA, Test Chi square, hiệu chỉnh Fisher-Exact Test.
- OR (CI 95%) trong đó OR = ac/bd, biểu hiện mối tương quan giữa 2 đại lượng.

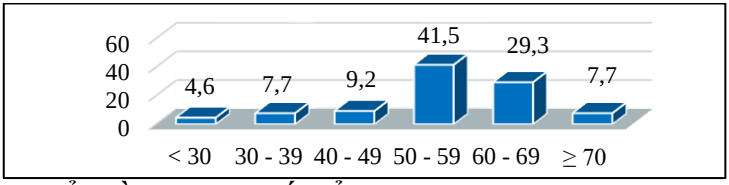
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ

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

3.1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng

3.1.1. Tuổi và giới

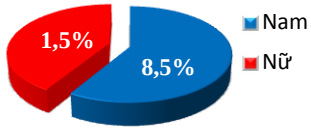
3.1.1.1. Tuổi



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

Nhận xét: Tuổi bệnh nhân 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: Nam giới chiếm tỉ lệ 58,5% và nữ giới chiếm 41,5%.

3.1.2. Đặc điểm lâm sàng

3.1.2.1. Triệu chứng cơ năng

Bảng 3.1: Triệu chứng cơ năng

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

Nhận xét: Triệu chứng lâm sàng hay gặp là đi ngoài ra máu (72,3%), đau bụng (75,4%), đi ngoài máu nhày mũi (60%)

3.1.2.2 Triệu chứng thực thể

Bảng 3.2: Triệu chứng thực thể

Triệu chứng	n	Tỉ lệ (%)
U bụng	***22***	***33,8***
Bán tắc ruột	***16***	***24,6***
Tắc ruột	4	6,2
Hạch ngoại vi	5	7,6

Nhận xét: Triệu chứng hay gặp nhất là sờ thấy u bụng, chiếm 33,8%, triệu chứng bán tắc ruột gặp ở 24,6%, triệu chứng tắc ruột gặp ở 6,2%.

3.1.2.3 Triệu chứng toàn thân

Bảng 3.3: Triệu chứng toàn thân

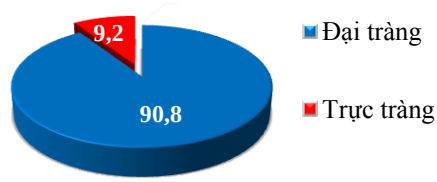
Triệu chứng	n	Tỉ lệ (%)
Gày sút cân	***21***	***32,2***
Thiếu máu	16	24,6
Khác	6	9,2

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%. Triệu chứng khác 9,2%.

3.1.3. Đặc điểm cận lâm sàng

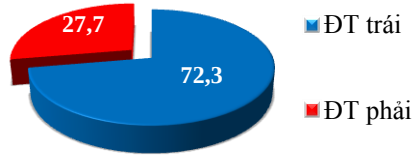
3.1.3.1. Nội soi

❖ ***Vị trí u***



Biểu đồ 3.3: Vị trí u ở đại tràng hay trực tràng

Nhận xét: U đại tràng chiếm tỉ lệ 90,8%, u trực tràng chiếm 9,2%.



Biểu đồ 3.4: Vị trí u ở đại tràng phải hay đại tràng trái

Nhận xét: U ĐT trái chiếm tỉ lệ 72,3%, trong khi ĐT phải 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 (%)
Loét sùi	***23***	***35,4***
Sùi	***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: Thể sùi và loét sùi và loét sùi thâm nhiễm là 33,8%, 35,4% và 16,9%. 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 ≥ 1/3 chu vi	7	10,8
Chiếm ≥ 3/4 chu vi	***32***	***49,2***
Chiếm toàn bộ chu vi	***23***	***35,4***
Tổng	65	100,0

Nhận xét: U chiếm từ 3/4 chu vi trở nên, chiếm 84,6%.

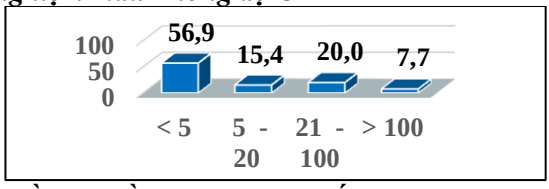
❖ ***Mức độ khó khăn khi nội soi***

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%.

3.1.3.2. Xét nghiệm máu - nồng độ CEA

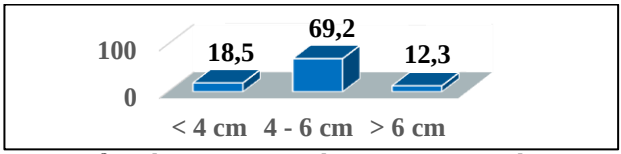


Biểu đồ 3.5: Nồng độ CEA huyết thanh bệnh nhân u

Nhận xét: Có 43,1% số bệnh nhân có nồng độ CEA > 5ng/ml.

3.1.3.3. Đặc điểm giải phẫu bệnh

❖ ***Kích thước khối u***



Biểu đồ 3.6: Phân bố kích thước khối u

Nhận xét: Kích thước khối u dao động từ 2-10 cm, giá trị trung bình là 5,01 ± 1,69 cm, phổ biến nhất trong khoảng 4-6 cm, chiếm 69,2%.

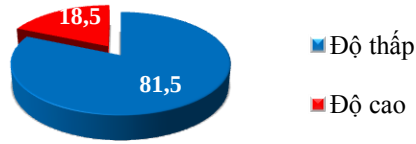
❖ ***Hình ảnh vi thể ung thư đại trực tràng***

Bảng 3.7: 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 chiếm 84,6%, 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 3.7: 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 (81,5%) bệnh nhân là độ ác tính thấp.

3.1.3.4. Giai đoạn bệnh

Bảng 3.8: Đặc điểm giai đoạn bệnh

	n	Tỉ lệ (%)
Giai đoạn T1	1	1,5
T2	8	12,3
T3	20	30,8
T4	36	55,4
Giai đoạn N0	40	61,5

N1	13	20,0
N2a	6	9,25
N2b	6	9,25
Giai đoạn 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: 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 chiếm 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 3.9: Tỉ lệ các dạng đột biến KRAS

Đột biến KRAS	n	Tỉ lệ (%)
Có đột biến KRAS	***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
Không có đột biến KRAS	***41***	***63,1***
Tổng	**65**	**100,0**

Nhận xét: Tỉ lệ đột biến gen KRAS là 36,9% trong đó đột biến tại codon 12 là 9,2%, tại codon 13 là 20,0% và gặp ở cả 2 codon là 7,7%.

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

Bảng 3.10: 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 3.11: 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		

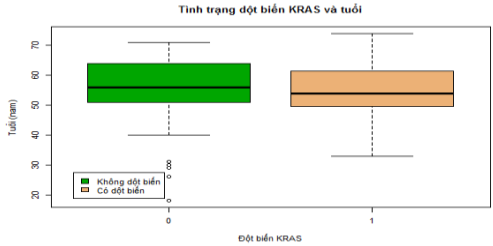
Nhận xét: Tỉ lệ đột biến KRAS tại codon 12 ở nam giới cao gấp 6,93 lần ở nữ giới, p = 0,07.

Bảng 3.12: 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 nữ với tỉ lệ cao gấp 2,2 lần ở nam giới. Sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê, p = 0,16

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



Biểu đồ 3.8: Mối liên quan giữa đột biến gen KRAS và tuổi

Nhận xét: Tuổi trung bình nhóm không có đột biến là 55,5 tuổi, nhóm có đột biến KRAS là 53,3 tuổi. Không có sự khác biết về biểu hiện đột biến 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 3.13: Bộc lộ đột biến gen KRAS ở trực tràng và đại tràng

			ĐB KRAS		Tổng	OR	p
			Có	Không			
Ví 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		

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

Bảng 3.14: Biểu hiện đột biến codon 12 gen KRAS ở TT và đại tràng

			ĐB codon 12		**Tổng số**	**OR**	**p**
			Có	**Không**			
Ví 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		

Nhận xét: Tỉ lệ đột biến codon 12 tại trực tràng cao hơn đại tràng 3,71 lần, p = 0,17.

Bảng 3.15: Biểu hiện đột biến codon 13 gen KRAS ở TT và đại tràng

			ĐB codon 13		**Tổng số**	**OR**	**p**
			Có	**Không**			
Ví 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: Tại đại tràng tỉ lệ đột biến KRAS tại codon 13 hay gặp hơn tại trực tràng, cao gấp 6,43 lần so với khối u tại đại tràng và sự khác biệt có ý nghĩa thông kê với p < 0,05.

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

Bảng 3.16: Biểu hiện đột biến gen KRAS giữa đại tràng phải và trái

			Đột biến KRAS		Tổng	OR	p
			Có	Không			
Vị trí u	Đại tràng phải	n	7	11	18	1,12 CI 95% (0,36- 3,44)	0,83
		Tỉ lệ %	38,9	61,1	100,0		
	Đại tràng 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: Tỉ lệ đột biến gen KRAS ở đại tràng phải cao hơn đại tràng trái, khoảng 12%, p = 0,83.

Bảng 3.17:Biểu hiện đột biến codon 12 gen KRAS ở ĐT phải và trái

			ĐB codon 12		Tổng	OR	p
			Có	Không			
Ví trí u	ĐT phải	n	4	14	18	2,4 CI 95% (0,56 - 10,20)	0,24
		Tỉ lệ %	22,2	77,8	100,0		
	ĐT 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 tỉ lệ 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 3.18:Biểu hiện đột biến codon 13 gen KRAS ở ĐT phải và trái

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

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 gen KRAS và độ ác tính

Bảng 3.19: Mối liên quan giữa tình trạng đột biến 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 3.20: Mối liên quan giữa tình trạng đột biến codon 12 gen KRAS và độ ác tính

			ĐB 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 độ ác tính thấp, p = 0,22

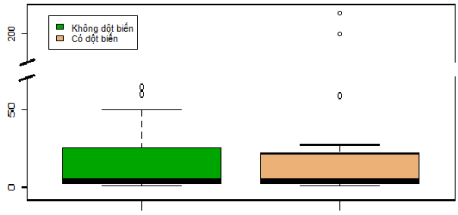
Bảng 3.21: Mối liên quan giữa tình trạng đột biến codon 13 gen KRAS và độ ác tính

			ĐB 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 gen KRAS cao hơn ở nhóm có độ ác tính thấp, tăng 2,16 lần nguy cơ đột biến gen KRAS codon 13, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê, p = 0,35.

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



Biểu đồ 3.9: Mối liên quan giữa đột biến KRAS và nồng độ CEA

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

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

Bảng 3.22: Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS và T

			ĐB 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. p = 0,38.

Bảng 3.23: Mối liên quan giữa đột biến codon 12 gen KRAS và T

			ĐB 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 T 1,2,3. p = 0,057.

Bảng 3.24: Mối liên quan giữa đột biến codon 13 gen KRAS và T

			ĐB 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: Tỉ lệ đột biến ở codon 13 của gen KRAS ngặp nhiều ở giai đoạn T1,2,3 hơn giai đoạn T4 với OR = 1,35 tuy nhiên p = 0,59

Bảng 3.25: Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS và N

			ĐB KRAS		Tổng số	OR	p
			Có	Không			
Giai đoạn N	N2	n	6	6	12	1,94 CI 95% (0,54-6,89)	0,3
		Tỉ lệ %	50,0	50,0	100,0		
	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 3.26: Mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen KRAS và M

			ĐB KRAS		Tổng số	OR	p
			Có	Không			
Giai đoạn di căn xa	có	n	14	24	38	0,99 CI 95% (0,36 - 2,75)	0,98
		Tỉ lệ %	36,8	63,2	100,0		
	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 giữa đột biến gen KRAS theo tình trạng di căn xa, p = 0,98.

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng

4.1.1. Tuổi và giới

Tuổi: Trong nghiên cứu này chúng tôi có tới trên 90% UT ĐTT gặp ở tuổi sau 50. Theo Thomas J George kết quả cũng tương tự như vậy. Tỉ lệ bệnh nhân trẻ trước tuổi 30 chỉ gặp 4,6%. 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. Các tác giả nước ngoài cho kết quả tương tự. Theo McFarlane và CS (2004), tuổi mắc bệnh trung bình là 65,5. Theo kết quả nghiên cứu Fuszek và CS (2006), tuổi mắc bệnh trung bình là 65,2 tuổi. 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: Nghiên cứu của chúng tôi, tỉ lệ mắc ở nam và nữ giới không có sự khác biệt. Tuy nhiên, 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. 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.

4.1.2. Đặc điểm lâm sàng

Trong phạm vi nghiên cứu của mình, về triệu chứng cơ năng, 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%, kế 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. 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%. Trong nghiên cứu này tỉ lệ gày sút gặp ở 32,2% số bệnh nhân.

4.1.3. Đặc điểm cận lâm sàng

4.1.3.1. 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%. Thực tế, 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. 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.

Thể u: 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%. 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 nhẫn 0,9%. 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%; 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 gặp là thể sùi và thể sùi kết hợp với loét.

Đặc điểm kích thước u theo chu vi: 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%.

Giá trị của nội soi trong chẩn đoán UTĐTT: 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.

4.1.3.2. Xét nghiệm máu – nồng độ CEA

Bệnh nhân có nồng độ dưới 5 ng/mL chiếm tỉ lệ 56,9%.

4.1.3.3. Mô bệnh học

Thể giải phẫu bệnh: UTBM tuyến gặp chủ yếu, chiếm 84,6%; UTBM tuyến chế nhày 13,9%; UTBM tuyến không biệt hóa 1,5%. Theo Thomas, với UTĐTT thể mô bệnh học chính là UTBM tuyến khoảng trên 90%. Nitsche U và CS tiến hành nghiên cứu trên 3.479 bệnh nhân ung thư đại trực tràng đã được phẫu thuật, UTBM tuyến vẫn là thể mô bệnh học hay gặp nhất, chiếm 88%, UTBM tuyến chế nhầy chỉ gặp 375 trường hợp, chiếm 11%. Tuy nhiên theo Trần Thắng thì tỉ lệ UTBM tuyến chiếm 77,4%, UTBM chế nhày 22,6%.

Độ ác tính: 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. 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%. 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. 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. 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.

4.1.3.4. 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. 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%. 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, 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 đặc điểm mô bệnh học.

4.2.1. Tình trạng đột biến gen KRAS

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. Trong đó, codon 12 và 13 nằm trên exon này có vai trò quan trọng nhất. 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 43%. Shuji Ogino và cộng sự công bố tỉ lệ đột biến gen KRAS là 35% trong khi Li W và Tejpar ghi nhận tỉ lệ 36,6%, 39%, Nguyễn Kiến Dụ và Tạ Thành Văn (2013) là 33,3%. Tỉ lệ đột biến tại codon 12, 13 và cả 2 codon lần lượt là 9,2%, 20,0% và 7,7% được ghi nhân 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%.

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

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. Ở Việt Nam chưa có tác giả nào phân tích mối liên quan này. Tác giả Li W và CS cho thấy tỉ lệ đột biến gen KRAS là 47,7% ở nữ giới so với 37,1% ở nam giới, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p = 0,004. Khi phân tích sâu hơn, Li và CS cho thấy 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. 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. 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

4.2.3. 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 cho thấy sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với p >0,05, độ tuổi trung bình của bệnh nhân không đột biến KRAS là 55,5 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. 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).

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

4.2.4.1. 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. Trong nghiên cứu của chúng tôi, Khối u trực tràng có biểu hiện đột biến KRAS nhiều hơn khối u đại tràng, p = 0,02, sự khác biệt 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. Từ 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 ung thư đại trực tràng. 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.

4.2.4.2. Tỉ lệ đột biến KRAS ở khối u đại tràng phải và đại tràng trái.

Chúng tôi không thấy sự khác biệt về tần suất đột biến gen KRAS giữa đại tràng phải và trái , với ước lượng tỉ suất chênh OR = 1,12 và p = 0,83,. Tuy nhiên khi chúng tôi phân tích dưới nhóm, 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. 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. 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.

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

Chúng tôi thấy có tới 81,5% số bệnh nhân có giải phẫu bệnh độ ác tính thấp, và có 18,5% số bệnh nhân có giải phẫu bệnh độ ác tính cao. tỉ lệ đột biến gen KRAS ở nhóm độ ác tính cao lớn hơn 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 tỉ lệ đột biến codon 12, 13 exon 2 gen KRAS ở nhóm độ ác tính cao và ở nhóm có độ ác tính thấp với p = 0,210 và p = 0,35. Tác giả Lê Văn Thiệu (2013) cũng nghiên cứu trên 79 bệnh nhân ung thư đại trực tràng, khi phân tích tỉ 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 tỉ lệ 73,9%; với khối u có độ ác tính cao có 12 trường hợp chiếm tỉ lệ 26,1%, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê

với p > 0,05. Tác giả Wenbin Li và CS (2015) nghiên cứu trên 761 bệnh nhân cũng thấy không có sự khác biệt giữa tỉ lệ đột biến gen KRAS ở nhóm bệnh nhân có độ ác tính thấp và tỉ lệ đột biến gen KRAS ở nhóm bệnh nhân có độ ác tính cao. 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.

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

CEA thường được dùng để tiên lượng, cũng như theo dõi kết quả điều trị. Li W và cộng sự ghi nhận, chỉ điểm khối u CEA có liên quan đến tỉ lệ đột biến KRAS, nồng độ CEA > 5 ng/ml tăng tỉ lệ đột biến KRAS lên 2,34 lần với p lần lượt là 0,02, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. 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. Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho kết quả tương tự với tác giả Lê Văn Thiệu.

4.2.7. Mối liên quan giữa đột biến KRAS và giai đoạn bệnh

4.2.7.1. Mức độ xâm lấn của khối u

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 (T3,2,1), 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 là khối u càng xâm lấn sâu vào thành ĐTT thì tỉ lệ đột biến gen KRAS càng cao. Đối chiếu với kết quả của Li W, nghiên cứu trên 792 BN UTĐTT, đột biến tại codon 12 có liên quan chặt chẽ đối với giai đoạn T3,T4, với OR = 1,27, ý nghĩa của chỉ số OR = 1,27 là tỉ lệ đột biến exon 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 nên 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 exon 13 gen KRAS, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa nhóm T1,2,3 và T4**.**

4.4.7.2. 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. 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 đinh ở nghiên cứu trên 972 BN 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. Tuy nhiên cũng có những quan điểm trái chiều, 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 UTĐTT với tình trạng đột biến gen KRAS, p >0,05. 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.

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, tuổi hay gặp là 50-69 (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 ≥ 3/4 chu vi (84,6%).
- 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%.
- 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 cao gấp 6,93 lần ở nữ, p = 0,077.
- Tỉ lệ gặp đột biến ở codon 13 ở nữ cao gấp 2,2 lần ở nam, 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.

INTRODUCTION

Colorectal cancer (CRC) is the third most commonly diagnosed cancer in men, the second in women and the fourth leading cause of cancer-related deaths worldwide. According to the data from IARC (2012), 8,768 new cases and 4,131 deaths with CRC were estimated in Viet Nam. CRC is diagnosed by colonoscopy, the most accurate diagnostic test in symptomatic individuals since it can locate lesions for biopsy.

Clinically, about 60% patients with CRC are diagnosed at advanced stage, in which chemotherapy and targeted therapy are the main treatments. However, many patients with overexpressed epidermal growth factor receptor (EGFR) do not respond with targeted antibodies such as cetuximab and panitumumab. The mutations in exon 2, codons 12, 13 of KRAS gene have been demonstrated as a strong negative predictive marker to indicate whether a CRC patient will respond to anti-EGFR treatment. In Vietnam, there are no studies that reflect both manifestation in patient's characteristics and KRAS mutations in CRC. Therefore, we carry out the study, "Research patient's characteristics and KRAS mutation in colorectal cancer at K hospital" with two objectives:

1. *Research on patient's characteristics in colorectal cancer*
2. *Assessment of KRAS mutation and its correlation with epidemiological findings, pathological features in colorectal cancer.*

1. Necessity of topics

CRC is one of the most common cancers worldwide. Colonoscopy plays an important role in diagnosis CRC. In recent years, latest breakthroughs in molecular biology have brought many hopes for cancer patients, especially with colorectal cancer. With the emergence of two anti-epidermal growth factor receptor (EGFR)-targeted antibodies, cetuximab and panitumumab, the treatment of metastatic CRC has entered the era of personalized treatment. The presence of mutations in the KRAS gene is a predictor of a poor clinical response for EGFR-targeted agents in patients affected by CRC. In Viet Nam, there is no current study to assess KRAS mutations and its correlation with epidemiological finding and pathological features in colorectal cancer. There are reasons why we carry out this study.

2. New contributions of the thesis

We studied 65 patients with CRC, the median age was 54,5 years. The most common age group in men, from 50 to 69 years, accounted for 58,5%. The most common clinical features were abdominal pain (75,4%) and haematochezia (72,3%). The most common macroscopic types in colonoscopy were ulceration and protuberant ulceration. The rates of tumors that invaded more than ¾ circumference was 84,6%. The rate of patients which can not take optic through tumor was 55,4%. The rate of giving right diagnosis by colonoscopy was 100%, whereas its ultrasound and CT scanner were 67,7% and 86,1%, respectively. The proportions of detections metastasized to lymph nodes of ultrasound and CT scanner were 24,0% and 44,0%. Tumors located in colon accounted for 90,8% and 9,2% in rectum. Adenocarcinoma was the main pathology of CRC (84,6%). Patients diagnosed in stage IV account for 58,5% and in stage III, 21,5%.

KRAS mutations in CRC were popular. The incidence of exon 2 KRAS mutation status was 36,9%, in either codon 12 or 13 and in both locations 9,2%, 20%, 7,7%, respectively. The codon 12 KRAS mutation rate in men was 6,93 times higher than in women, and the codon 13 KRAS mutation rate in women was 2,2 times higher than in men with $p = 0,16$. Tumors in the rectum increased the mutated rate by 10,53 times, $p = 0,004$. For tumors in the right colon, the levels of located invasion and stage tend to rise the proportions of KRAS mutations. There was no relationship between dimension of tumors and the mutations.

3. Thesis layout

The thesis consists of 125 pages: Introduction (2 pages), Conclusion (2 pages) and Recommendations (1 page); Four chapters: Chapter 1: Overview (40 pages); Chapter 2: Objects and methods (16 pages); Chapter 3: Results (27 pages); Chapter 4: Discussion (37 pages). The thesis consists of 34 tables, 14 charts, 9 pictures and 162 references (Vietnamese: 29, English: 133).

CHAPTER 1: LITERATURE REVIEW

International article review

KRAS mutation proportion is 30-40%, the KRAS mutations induced the cell proliferation and inhibit the apoptosis. Shuji Ogino et al reported the KRAS mutations rate is 35%, Li W and Tejpa published thee rate is 36,6 and 39% respectively. In MD Anderson Cancer Center, Moris V.K found that the mutation rate of KRAS on both codon 12 and 13 is 48%

colorectal cases.

Wenbin Li et al analyzed KRAS mutation in paraffin-emballed tumor samples from 762 patients with colorectal cancer, the results showed that KRAS gen mutated more frequency in men (47,7%) than in women (37,1%) who had colorectal cancer, p = 0,004.

Akman T et al reported that the KRAS mutation rate is 38,3% in which 88,7% mutations located in codon 12 and 11,3% mutation is in codon 13 of exon 2.

In two clinical trials CRYSTAL (1378 patients) and OPUS (533 patients), Teipar et al studied each mutation type and reported that KRAS mutation rate is 39%, including 16% missense mutation G13D, 23% G12V mutation and 61% other mutations in codon 12. When the authors identified the patients in two group with tumor located in proximal colon, or right colon and defined the colon from appendix, cecum, ascending colon, hepatic flexure and transverse colon, and in distal colon (left colon) including splenic flexure, descending colon and sigmoid colon, KRAS wild type gene in left colon have better prognosis than right colon.

Morris VK et al reported 47,7% KRAS mutations in codon 12 and/or 13 in exon 2, metastatic patients have higher rate of KRAS mutations than early stage colon cancer, cancer patient of mucinous subtype have higher frequency of KRAS mutations than other histopathologic subtypes, p <0,001.

Viet Nam article review

A few articles on KRAS mutation have been published in Viet Nam, especially on its relationship with clinical pathology characteristics. Ta Thanh Van et al established a protocol analysis of KRAS mutation since 2011 and reported KRAS mutation rate of 33,3%, including 20,8% mutations in codon 12 and 12,5% mutation in codon 13. Le Van Thieu et al studied 79 colorectal cancer patients and reported a mutation rate of 58,2% of population. Some clinical characteristics and pathologic features are associated with higher frequency of KRAS mutation, such as adenocarcinoma, older patients, anemia, big tumor and men patients however the p value >0.05 could be caused by small sample size study.

CHAPTER 2: METHODOLOGY

2.1. Patients

2.1.1. Inclusion criteria

- Patients had been diagnosed with CRC by pathology
- Given the past history, medical history, and information according to standard samples
- Patients had carried out colonoscopy and had lesions fully described
- Patients had been biopsied through endoscopy
- All pathological samples had been checked for KRAS mutations

2.1.2. Exclusion criteria

- Patients did not match with any of selected criteria
- Patients did not have enough information to collect

2.2. Methods

2.2.1. Research design: Prospective study

2.2.2. Sample size: The number of patients was calculated by formula

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

n: the number of patients Z1-α/2: 1,96 ε: 0,3

p: the rate of KRAS mutation in CRC, p=0,477

N > 46. N = 65

2.2.3. Data collection and genetic technical analyses:

Patients matched with the criteria were selected for our research. All patients were recorded all information according to standard samples. Patients were followed with colonoscopy to evaluate macroscopic features and biopsy. Clinicopathological manifestations were collected. The tissue samples were collected after the colonoscopy biopsies or after surgery, and delivered to department of pathology to analyze KRAS gene by sequencing or Scropion ARMs technical gene analysis.

2.3. Statistical analysis

Statistical analysis was performed using the statistical package SPSS 24.0 and R statistic system

- Descriptive analysis: mean, standard deviation, min, max
- The test ANOVA, $\chi 2$ test or Fisher exact test was performed for categorical data.
- OR=ac/bd, a measure of association between two variables.

CHAPTER 3: RESULTS

In this study, 65 colorectal cancer cases were included from 2012 to 2016. data were collected and analyzed for the following results:

3.1. Patients characteristics

3.1.1. Age and gender

3.1.1.1. Age

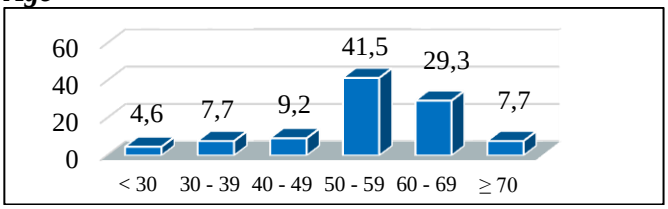


Chart 3.1: Age distribution in patients with CRC

Comment: The age of patients ranged from 18 to 74 years old, average age was 54,5 years old. Aged 50-69 are the most common accounting for 70,8% rate. The least common age is under 30 years old, accounted for 4,6%.

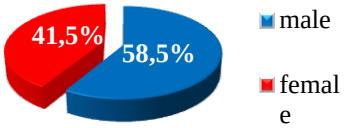


Chart 3.2: Gender distribution of patients with CRC

Comment: Men accounted for 58,5%, and women accounted for 41,5%

3.1.2. Clinical features

3.1.2.1. Functional symptoms

Table 3.1: *Functional symptoms*

Symptoms	N	(%)
Abdominal pain	***49***	***75,4***
Bloody diarrhea	***47***	***72,3***
Diarrhea stools	***39***	***60,0***
Nasal mucous stool	29	44,6
Constipation	19	29,2

Comment: The common clinical symptoms are bloody diarrhea (72,3%), abdominal pain (75,4%), nasal mucus bloody diarrhea (60%)

3.1.2.2.Physical symptoms

Table 3.2: Physical symptoms

Symptoms	N	%
Abdominal tumors	***22***	***33,8***
Subacute intestinal obstruction	***16***	***24,6***
Intestinal obstruction	4	6,2
Peripheral ganglion	5	7,6

Comment: The most common physical symptom is palpable abdominal tumor, accounted for 33,8%, subacute intestinal obstruction symptoms accounted for 24,6%.

3.1.2.3 Systemic symptoms

Table 3.3: Systemic symptoms

Symptoms	N	%
Weight loss	***21***	***32,2***
Anemia	16	24,6
Others	6	9,2

Comment: The most common of systemic symptoms are weight loss (32,2%), anemia (24,6%).

3.1.3. Para-clinical features

3.1.3.1. Endoscopic findings

❖ ***Location of tumor***

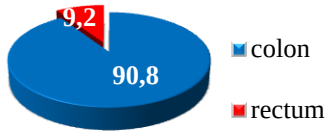


Chart 3.3: Tumor locations in the colon or rectum

Comment: The rate of colon cancer is 90,8%, with proportion of rectal cancer accounted for 9,2%.

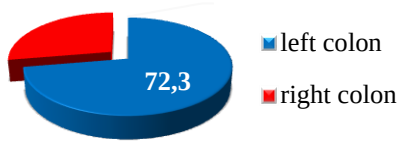


Chart 3.4: Position in the right colon tumor or the left colon tumor

Comment: The left colon tumor makes up for the majority 72,3% while other accounted for 27,7%.

❖ **Marcoscopic type in colorectal cancer**

Table 3.4: Macroscopic type in colorectal cancer

Type of tumors	n	%
Protuberant tumor with ulcer	***23***	***35,4***
Protuberant tumor	***22***	***33,8***
Irregular ulceration	11	16,9
Diffuse infiltration	5	7,7
Ulcers	4	6,2
Total	65	100,0

Comment: Protuberant tumor, protuberant tumor with ulcers, irregular ulceration type accounted for 33,8%, 35,4%, 16,9 %,

❖ ***Size of tumors characteristics by circumferential invasion***

Table 3.5: Size of tumors characteristics by circumferential invasion

Size's tumors by circumferential	n	%
¼ circumferential colon	3	4,6
1/3 circumferential colon	7	10,8
3/4 circumferential colon	***32***	***49,2***
Total circumferential colon	***23***	***35,4***
Total	65	100,0

Comment: Most patients (84.6%) are with tumors invaded over ¾ circumference of the colon.

3.1.3.2. Serum CEA concentration

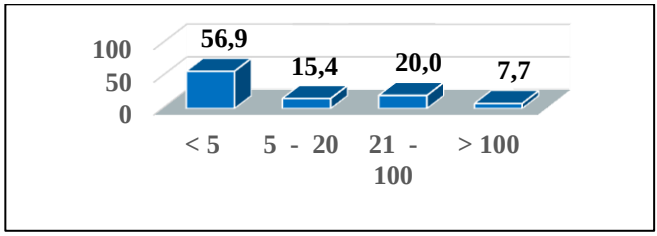


Chart 3.5: Serum CEA concentration

Comment: CEA serum concentration of patients in the study ranged from 0,5 ng/mL to 1001 ng/mL. 43,1% of patients are with CEA concentrations > 5 ng/ml.

3.1.3.3. Histopathologic features

❖ ***Tumor size***

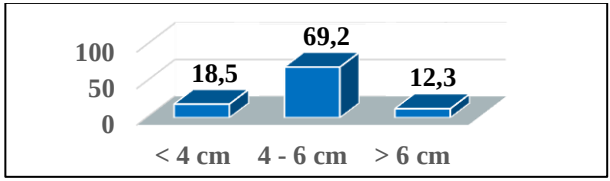


Chart 3.6: Distribution of tumor size

Comment: Tumor size in the group of study's patients ranged from 2-10 cm, and the mean is 5.01 cm ± 1,69 cm. The size of the most common tumors is 4-6 cm, accounting for 69,2%

❖ ***Microscopic classification of colorectal cancer***

Table 3.6: Features of histopathology

Histopathology	n	%
Adenocarcinoma	***55***	***84,6***
Mucous Adenocarcinoma	9	13,9
Carcinoma undifferentiated	1	1,5
Total	65	100,0

Comment: Adenocarcinoma accounted for 84,6%, mucinous adenocarcinoma and undifferentiated carcinoma were accounted for 13,9% and 1,5% of population.

❖ **The tumor grade**

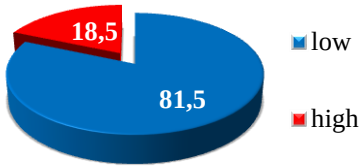


Chart 3.7: The tumor grade of colorectal cancer

Comment: Of 65 patients, 12 were with high tumor grade, accounted for 18,5%, and 53 patients were with low level of malignancy, accounted for 81,5%.

3.1.3.4. Stage of disease

Table 3.7: Staging classification of colorectal cancer

	n	(%)
Stage T		
1	1	1,5

2	8	12,3
3	20	30,8
4	36	55,4
Stage N		
0	40	61,5
1	13	20,0
2a	6	9,25
2b	6	9,25
Stage M		
M0	27	41,5
M1	38	58,5
Stage TNM		
I	2	3,1
II	11	16,9
III	14	21,5
IV	38	58,5
Total	65	100,0

Comment: Most patients were with tumors in stage T3, T4, accounted for 86,2%. The percentage of patients with lymph node metastasis was 38,5%. The number of patients with stage IV (distant metastasis) accounted for the majority 58,5%.

3.2. KRAS MUTATION CHARACTERISTICS AND THE RELATIONSHIP WITH PATHOLOGICAL FEATURES

3.2.1. KRAS mutation status

Table 3.8: Percentage of KRAS mutations in patients with colorectal cancer

KRAS Mutation Status	n	(%)
KRAS mutations	***24***	***36,9***
Codon 12 mutations	6	9,2
Codon 13 mutations	13	20,0
Both codon mutations	5	7,7
No KRAS mutations	***41***	***63,1***
Total	**65**	**100,0**

Comment: Percentage of KRAS mutations in studied patients is 36,9%, while mutations in codon 12 took 9,2%, and codon 13 mutations were 20.0%, and mutations in both codon is 7,7%

3.2.2. Relationship between KRAS gene mutations and gender

Table 3.9: Relationship between KRAS gene mutations and gender

			KRAS mutations		Total	OR	P
			Yes	No			
Sex	Female	n	11	16	27	1,32 CI 95% 0,477 - 3,663	0,59
		Ratio %	40,7	59,3	100,0		
	Male	n	13	25	38		
		Ratio %	34,2	65,8	100,0		
Total		n	24	41	65		
		Ratio %	36,9	63,1	100,0		

Comment: Women are at higher risk of KRAS gene mutation than men by up to 32%, but the difference was not statistically significant.

Table 3.10: Relationship between KRAS mutations in codon 12 with gender

			Codon 12 mutation		Total	OR	P
			Yes	No			
Sex	Female	n	8	30	38	6,93 CI 95% (0,81-59,18)	0,07
		Ratio %	21,1	78,9	100,0		
	Male	n	1	26	27		
		Ratio %	3,7	96,3	100,0		
Total		n		56	65		
		Ratio %		86,2	100,0		

Comment: Percentage of KRAS gene mutation at codon 12 in men is 6,93 times higher than in women, p = 0,07.

Table 3.11: The relationship between codon 13 KRAS mutation with gender

			Codon 13 mutation		Total	OR	P
			Yes	No			
Sex	Female	n	10	17	27	2,20 CI 95% (0,73-6,65)	0,16
		Ratio %	37,0	63,0	100,0		
	Male	n	8	30	38		
		Ratio %	21,1	78,9	100,0		
Total		n		47	65		
		Ratio %		72,3	100,0		

Comment: Mutations in KRAS codon 13 common in women patients with a high rate 2,2 times in men. The difference is not statistically significant (p = 0,16).

3.2.3. The relationship between KRAS gene mutations and age

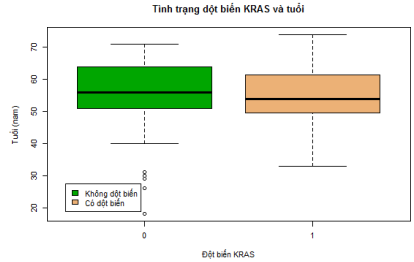


Chart 3.8:The relationship between KRAS gene mutations and age

Comment: Age distribution in patients without KRAS mutations tends to be higher in those with KRAS mutations, with the average age at 55,5 years old in wild type group, and at 53,3 in KRAS mutant group. However, the age distribution between the two groups is relatively uniform, p > 0.05.

3.2.4. The relationship between KRAS gene with tumor location

3.2.4.1. KRAS gene mutations expressed in rectum and colon

Table 3.12: KRAS gene mutations expressed in rectum and colon

			KRAS mutations		Total	OR	P
			Yes	Yes			
Tumor location	Rectal	N	5	1	6	10,53 CI 95% (1,14-96,47)	0,004
		Ratio %	83,3	16,7	100,0		
	Colon	N	19	40	59		
		Ratio %	32,2	67,8	100,0		
Total			24	41	65		
		Ratio %	36,9	63,1	100,0		

Comment: Proportion of KRAS mutations is higher in rectal cancer patient (83,3%), and lower in colon cancer patients (32.2%). Estimated rate of KRAS mutation in rectal cancer is 10.53 times higher than in the colon cancer, with p = 0.004 statistical significance**.**

Table 3.13: Codon 12 KRAS gene mutations expressed in rectum and colon

			Codon 12 mutation		total	OR	P
			Yes	No			
Tumor location	Rectal	n	2	4	6	3,71 CI 95% (0,57 - 24,14)	0,17
		Ratio %	33,3	66,7	100,0		
	Colon	n	7	52	59		
		Ratio %	11,9	88,1	100,0		
Total		n	9	56	65		
		Ratio %	83	86,2	100,0		

Comment: Percentage of codon 12 mutations in rectal cancer is 3,71 times higher than in colon cancer (OR = OR = 3,7), but the difference was not statistically significant with p = 0,17.

Table 3.14: Codon 13 KRAS gene mutations expressed differently between the rectum and colon

			Codon 13 mutation		total	OR	P
			Yes	No			
Tumor location	Rectal	n	4	2	6	6,43 CI 95% (1,06-38,9)	0,043
		Ratio %	66,7	33,3	100,0		
	Colon	n	14	45	59		
		Ratio %	23,7	76,3	100,0		
Total			18	47	65		
		Ratio %	27,7	72,3	100,0		

Comment: In colorectal KRAS mutation rate at codon 13 in the rectum is more common, with 6,43 times higher than in colon, p <0,05.

3.2.4.2. KRAS mutation expressed differently between the right and left colon

Table 3.15: ***KRAS mutation expressed in right and left colon*** **colon**

			KRAS gene mutations		total	OR	P
			Yes	No			
Tumor location	Right colon	n	7	11	18	1,12 CI 95% (0,36 - 3,44)	0,83
		Ratio %	38,9	61,1	100,0		
	Left colon	n	17	30	47		
		Ratio %	36,2	63,8	100,0		
Total				41	65		
		Ratio %		36,9	100,0		

Comment: The risk of KRAS gene mutations in the right colon must be higher than the left colon, with a ratio of about 12%, but the difference was not statistically significant with p = 0,83.

Table 3.16: Expression KRAS mutations at codon 12 in right and left colon

			Codon 12 mutation		total	OR	P
			Yes	No			
Tumor location	Right colon	n	4	14	18	2,4 CI 95% (0,56 - 10,20)	0,24
		Ratio %	22,2	77,8	100,0		
	Left colon	n	5	42	47		
		Ratio %	10,6	89,4	100,0		
Total				56	65		
		Ratio %		86,2	100,0		

Comment: The KRAS mutation at codon 12 expressed higher in the right colon cancer by 2,4 times than left colon cancer. But the difference was not statistically significant with 95% CI (0.56 to 10.20) and p = 0,24.

Table 3.17: Expression KRAS codon 13 mutations in right and left colon

			Codon 13 mutation		total	OR	P
			Yes	No			
Tumor location	Left colon	n	14	33	47	1,48 CI 95% (0,41-5,31)	0,54
		Ratio %	29,8	70,2	100,0		
	Right colon	n	4	14	18		
		Ratio %	22,2	77,8	100,0		
Total				47	65		
		Ratio %		72,3	100,0		

Comment: The left colon cancer expressed KRAS mutation at codon 13 more frequently than the right colon by1,48 times, but the difference was not statistically significant with 95% CI (0.41 to 5,31) and p = 0,54.

3.2.5. Relationship between KRAS mutations and tumor grade

Table 3.18: Relationship between KRAS mutation and tumor grade

			KRAS Mutation		Total	OR	P
			Yes	No			
Tumor grade	Low	n	20	33	53	1,21 CI95% (0,32-4,55)	0,77
		Ratio %	37,7	62,3	100,0		
	High	n	4	8	12		
		Ratio %	33,3	66,7	100,0		
Total		n	24	41	65		
		Ratio %	36,9	63,1	100,0		

Comment: High-grade tumor expressed higher KRAS gene mutations than low grade group. High grade tumor like a predictive factor and increased 21% the risk of KRAS mutations, but the difference is not statistically significant, p = 0,77.

Table 3.19: Relationship between KRAS codon 12 mutation and tumor grade

			Codon 12		Total	OR	P
			Yes	No			
Tumor grade	Low	n	6	47	53	0,38 CI95% (0,08-1,82)	0,22
		Ratio %	11,3	88,7	100,0		
	High	n	3	9	12		
		Ratio %	25	75	100,0		
Total		n		56	65		
		Ratio %		86,2	100,0		

Comment: There is no statistical difference in patients with or without mutations at codon 12 of exon 2 in KRAS gene between these tumor grade groups, p = 0,22.

Table 3.20: Relationship between codon 13 KRAS mutation and tumor grade

			Codon 13		Total	OR	P
			Yes	No			
Tumor grade	Low	n	16	37	53	2,16 CI95 % (0,42-11,0)	0,35
		Ratio %	30,2	69,8	100,0		
	High	n	2	10	12		
		Ratio %	16,7	83,3	100,0		
Total		n		47	65		
		Ratio %		72,3	100,0		

Comment: In the group of high grade tumor, there are 2,16 times higher mutation rate of KRAS gen at codon 13 exon 2 than in the low grade tumor group, p = 0,35.

3.2.6. Relationship between KRAS mutations and serum CEA concentration

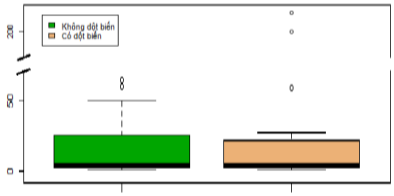


Chart 3.9: Relationship between KRAS mutation and serum CEA concentration

Comment: No association between KRAS gene mutation status and serum CEA concentration is detected, with p > 0.05.

3.2.7. The relationship between KRAS gene mutation status and cancer stage

Table 3.21: The relationship between KRAS mutation and T staging

			KRAS mutations		Total	OR	P
			Yes	No			
T	4	n	15	21	36	1,59 CI 95% (0,57-4,44)	0,38
		Ratio %	41,7	58,3	100,0		
	1,2,3	n	9	20	29		
		Ratio %	31,0	69,0	100,0		
Total		n	24	41	65		
		Ratio %	36,9	63,1	100,0		

Comment: At stage T4, KRAS mutation rate is 1,59 times higher than early stages (T1, 2, 3), but the difference is not statistically significant, with p = 0,38.

Table 3.22: The relationship between KRAS mutation in codon 12 and T staging

			Codon 12		Total	OR	P
			Yes	No			
Phase T	4	n	8	28	36	8,0 CI 95%	0,057
		Ratio %	22,2	77,8	100,0		

1,2,3	n	1	28	29	(0,94 - 68,25)	
	Ratio %	3,5	96,5	100,0		
Total	n		56	65		
	Ratio %		86,2	100,0		

Comment: In stage T4 patients**,** KRAS gene mutation rates in codon 12 increased 8,0 times higher than at early stages T 1,2,3. The difference is not statistically significant with p = 0,057.

Table 3.23: The relationship between KRAS mutation in codon 13 and T staging

			Codon 13		Total	OR	P
			Yes	No			
Phase T	1,2,3	N	9	20	29	1,35 CI 95% (0,45 – 4,02)	0,59
		Ratio %	3,5	96,5	100,0		
	4	N	9	27	36		
		Ratio %	25,0	75,0	100,0		
Total		N	47	18	65		
		Ratio %	72,3	27,7	100,0		

Comment: For those who had mutations in codon 13 of KRAS gene, T4 tumor stage was more prevalent than T1-3 tumor stages with OR = 1,35 (95% CI 0.45 to 402) and p = 0,59, and this difference was not statistically significant.

Table 3.24: Relationship between KRAS mutation and N stage

			KRAS mutations		Total	OR	P
			Yes	No			
Stage N	N2	n	6	6	12	1,94 CI 95% (0,54-6,89)	0,3
		Ratio %	50,0	50,0	100,0		
	N0,1	n	18	35	53		
		Ratio %	34,0	66,0	100,0		
Total		n	24	41	65		
		Ratio %	36,9	63,1	100,0		

Comment: KRAS gene mutations expressed more frequently in patients with over 3 metastatic lymph nodes, OR = 1,94; however, the difference is not statistically significant with 95% CI (0,54 to 6,89) and p = 0,30.

Table 3.25: The relationship between KRAS mutation and distant metastasis

			KRAS mutations		Total	OR	P
			Yes	No			
Distant metastasis	Yes	n	14	24	38	0,99 CI 95% (0,36 - 2,75)	0,98
		Ratio %	36,8	63,2	100,0		
	No	n	10	17	27		
		Ratio %	37,0	63,0	100,0		
Total		n	24	41	65		
		Ratio %	36,9	63,1	100,0		

Comment: There are no differences between KRAS gene mutation status in accordance with distant metastases, with p = 0,98.

CHAPTER 4: DISCUSSION

4.1. The clinical and para-clinical findings

4.1.1. Age and gender

Age: In this study, we have more than 90% colorectal cancer at over 50 years old. According to Thomas J George, the results were also similar. The percentage of patients with under 30 years old is only 4,6%. Tran Van Hop et al conducted a study on 140 cases of colorectal cancer and reported that a high proportion (92,9%) of colorectal cancer patients were at the age of 40 or older in both sexes, generally. According to McFarlane et al (2004), the average age was 65,5 years old. Fuszek et al (2006) found that the average age of colorectal patients was 65,2 years old. Age is an important factor in the colorectal cancer risks. This result serves as a database to setup a colorectal cancer screening strategy in our country, which mainly focuses on targeted groups from 50-69 years old.

Gender: From our study, colorectal cancer incidence has no difference between men and women. However, many authors generally identified a higher incidence of colorectal cancer in men. Tran Thang studied 137 colorectal cancer cases at the National Cancer Institute and reported a ratio in men and women, at 1,3/1 respectively. The reason for this difference is due to recent studies which were conducted on a small scale, with first assessment being the main aim, and the sample size is not enough to achieve a significant difference.

4.1.2. Clinical Features

In our study, we found that bloody diarrhea and abdominal pain were the most common symptoms consistent with the rate of 72,3% and 75,4%, followed by constipation, subacute obstruction and intestinal

obstruction with 29,2%, 24,6% and 6,2% patients, respectively. We found that although many studies and the results do not reach uniform conclusion, it is justified in that abdominal pain in colorectal cancer is a variable symptom which has not been defined exactly as a criterion. Symptoms of abdominal tumor palpation were found commonly in relatively late stage of the disease, and in our study, the rate of abdominal tumors was 33,8%.

4.1.3. Para-clinical findings

4.1.3.1. Endoscopic findings

Tumor Location: In our study, we found that most patients (90,2%) have tumor in the colon and only 9,2% of patients have tumor in the rectum. We defined that the right colon is a segment including the appendix, cecum, ascending colon, hepatic flexure, and the right part of transverse colon, while the left colon includes the splenic flexure, descending colon, sigmoid colon and rectum. We found that 72,3% of patients had tumor in the left colon while the rate of patients with right colon tumors is 27,7%. Detection by colonoscopy was difficult to determine the exact position of the colon because the colon is long and inflexible. However, in this study, endoscopy was carried out by a team of experienced researchers, and the results were determined after operation.

Macroscopic tumor: The results of our study showed that protuberant tumor with ulcer was reported in 32,3% of patients, the other types including protuberant tumor, irregular ulceration, diffuse infiltration, and ulcers exhibited in 23,1%, 20%, 15,4% and 9,2%, of the case respectively. According to Le Quang Minh, protuberant tumor was the most common type of colorectal cancer, accounted for 53,6%, followed by protuberant tumor with ulcer type (32,7%), diffuse infiltration (7,3%), ulcer (5,5%) and ring tumor (0,9%). Thus, the results of the study also varied, however, the most common type of colorectal tumor remains protuberant tumor and maybe with ulcers. When we define tumor size by its invasion to the circumference of the colon, we have four types: invasion at 1/4, 1/3, 3/4 and total invasion to circumference, and these types were reported in 4,6%, 10,8%, 49,2% and 35,4% of patients, respectively. Almost our patients in this study had big tumors in advanced stage, such that 84,6 % of patients had ¾ or total circumferential invasion.

Endoscopy in colorectal cancer diagnosis: Endoscopy plays an important role not only in macroscopic diagnosis of colorectal cancer, but it is routinely used as an instrument to sample biopsies of the tumor for diagnosis in histopathology. In our study, cancer was diagnosed in 100% patients.

4.1.3.2. Serum CEA concentration

The proportion of patients with a level below 5 ng/mL was 56,9%.

4.1.3.3. Histopathology

Histopathologic type: The most common type of carcinoma colorectal cancer is adenocarcinoma with 84,6% of patients, followed by mucinous adenocarcinoma, 13,9% and undifferentiated carcinoma with 1,5%. Thomas el al also reported the most common histopathology type is adenocarcinoma, which is in 90% colorectal cancer patients. A clinical trial by U Nitsche et al recruited 3479 patients with colorectal cancer who already had surgery, and found out that adenocarcinoma was most common type in 88% patients, and mucinous carcinoma in 375 cases, or 11%.

Tumor grade: In our study, 81,5% patients after operation is classified with low grade, and 18,5% with high grade. Le Van Thieu (2013) reported that the proportion of patients with a low grade was 73,9%, and with high grade, 26,1%. Ramzi Amri et al (2015) studied on 974 colorectal cancer patients, among which 191 patients were with high grade (19,6%), and 80,4% of patients with low grade. Tumor grade plays an important role in the prognosis of colorectal carcinoma. High grade tumor is a poor prognostic factor, inducing invasion, proliferation and metastases of colorectal cancer cells.

4.1.3.4. Colorectal cancer staging

Because the study was conducted with the main objective to determine the KRAS gene status, we recruited more patients in advanced stage than early stage, specifically 58,5% of patients with stage IV, followed by stage I, II, III at 3,1%, 16,9% and 21,5%, respectively. However, the National Program for cancer prevention researched on 1,266 patients in some provinces and reported that 67,85% of patients with colon cancer was diagnosed at stage III and IV.

4.2 Current epidemiological findings and correlation between KRAS mutations and histopathological features

4.2.1 Statistical findings on KRAS mutation

Expression of the KRAS proto-oncogene has a significant role in the network of signal transduction pathways that promote growth of cancer cells. Mutations that associate with drug resistance and poor prognosis often accumulate in exon 2. Mutations concentrated in codons 12 and 13 within this exon of reading frame are the most common. Studies of KRAS expression on our colon patients have demonstrated similar findings: 36,9% of mutations on the KRAS gene are located on exon 2, corresponding to other studies which found a mutation rate between 35-43%. Shuji Ogino et al. previously published a KRAS mutation rate of 35%, while studies of Li W. and Tejpar resulted in a 36,6-39% of mutation rate, Nguyen Kien Du and Ta Thanh Van (2013) 33%. Our studies have demonstrated that mutations on codons 12, 13 and both are at 9,2%, 20% and 7,7%, respectively, which varies from the studies by Nguyen Kien Du and Ta Thanh Van that showed mutation frequencies on codons 12 and 13 at 20,8% and 12,5%, and earlier by Morris V.K at 27,6% and 10,1%, respectively.

4.2.2. Correlation between KRAS mutation and gender

A risk ratio between characteristics of KRAS gene and associated gender reflects a 40,7% mutation rate in women patients, compared to 34,2% in men (OR = 1,3221, CI 95%: 0,477-3,663), which means women have 32% higher risk for KRAS mutation compared to men (p=0,59). No similar studies in Vietnam have investigated this correlation. However, according to Li W. and C.S., mutation rate on KRAS is 47,7% in women and 37/1% in men (p=0,004). Additional data have also demonstrated that women have 60% more mutation frequency compared to men (p=0,0001, the difference is therefore highly significant).

Our study on the correlation between gender and mutations at each codon shows that in men, mutation rate at codon 12 is 6,93 times higher than women (p=0,077). Mutations on codon 13 is 2,2 times more frequent on women patients than men, similar to Li W. et al. However, our finding does not meet a statistical significance (p=0,16) and requires a larger sample size to assess the associated difference.

4.2.3. Correlation between KRAS mutation and age

Our studies found no significant relevance between KRAS mutation and age (p>0,05). The average ages in patients with and without KRAS mutations are 53,1 and 55,5, respectively. On a survey with patients older than 60, we similarly found no statistical significance. A study by Le Van Thieu (2013) has found no statistical significance on the correlation between age and KRAS mutations in patients with colorectal cancer (p>0,05) even with findings of 5,1% mutation rate in age ≤ 40, and 53,1% in age >40. According to Zulhabri O. and C.S. (2012), mutation rate of KRAS gene in colorectal cancer patients > 60 years old is 13%, and 23% in patients < 60 years old (p>0,05).

4.2.4. Correlation between KRAS and location of tumor

4.2.4.1. Rectal cancer has a higher frequency of KRAS mutations than colon cancer

The location of the tumor in colorectal cancer has a significant role in determining the appropriate treatment and assessing patient prognosis. Rectal cancer has worse prognosis than colon cancer while colon cancer on the left has worse prognosis than the right. A statistical value p= 0.02 demonstrated a significant difference in the two tumors. An odd ratio (OR) of 10.5, and a calculate incidence (CI) = 95%; 1.15-96.47 (p=0.004) associates rectal cancer with a 10 times higher risk factor than colon cancer. To assess the risk factor associated with each of mutated codons 12 and 13 and each of the two locations, we found that rectal cancer with mutations at codon 12 has 3.71 times higher risk without a statistical significance (p=0.17). Mutations at residue 13 of exon 2 on KRAS gene is more common in colon cancer patients than rectal cancer, risk ratio (RR) = 6.43 (p=0.043). A similar result (RR=1.6) published by Feng Q. also demonstrates that in patients with mutations of codon 13 have a 1.6 times higher risk factor for colon cancer than rectal cancer (p=0.041). Indicated mutation frequency of KRAS gene in colon and rectal cancers, especially at codon 13, is associated with better prognosis for colon cancer compared to rectal cancer. Teipar S. et al. has demonstrated that a mutation at codon 13 of KRAS gene is an independent prognostic indicator for treatment result in colon cancer. Patients with mutations on codon 13 have the same treatment outcome compared to the control group, while other mutations on codon 12 have worse prognosis and develop resistance for monoclonal antibody medications such as cetuximab or panitumumab.

4.2.4.2. KRAS mutation rate in ascending and descending colon cancers

When analyzing the mutation frequency of KRAS between cancers of the ascending and descending colons, our research found no significant difference and no statistical significance in the two locations (OR = 1.12 and p = 0.83).

4.2.5. The relationship between KRAS gene mutations and tumor grade

In this study of 65 patients, our results show that 81,5% of cases had low grade tumor and 18,5% were high grade tumor. KRAS gene mutations rates among high grade tumor cases seems to be greater than those with low grade tumor, but this difference is not statistically significant with p = 0.77. High grade tumor patients do not appear to have greater mutational rate for KRAS at exon 2 codon 12 than low grade tumor group, p = 0.210. The same result was found with KRAS gene mutation of codon 13 (p = 0.35). In the study of L.V. Thieu (2013), that includes 79 colorectal cancer patients, the KRAS mutation is also not associated with tumor grade, p > 0,05. Wenbin Li et al (2015) studied 761 colorectal cancer patients, including 618 patients with low grade tumor and 143 patients with high grade tumor. There was no difference in KRAS gene mutations rate by tumor grade. Thus, the authors agree, the aggressiveness of the colorectal tumor has no relation to KRAS gene mutation status.

4.2.6. The relationship between KRAS gene mutations and CEA

Carcinoembryonic antigen (CEA) is a glycoprotein, which is present in normal mucosal cells but at increased amounts, it is associated with adenocarcinoma, especially colorectal cancer. CEA therefore has a role as a tumor marker. CEA levels are useful in assessing prognosis, detecting recurrence and monitoring treatment in patients with colorectal cancer. Li W et al studied a series of 945 patients with colorectal cancer in order to evaluate the relationship between KRAS gene mutations and clinicopathologic characteristics of colorectal cancer patients. These authors noted that the high level of CEA (>5 ng/ml) associated likely with the presence of KRAS gene mutations (RR=2.34, p = 0.02). However, the study of L.V. Thieu (2013) and our result do not agree with this finding. We did not find any difference in CEA levels between KRAS mutant and KRAS wild type colorectal cancer at initial presentation.

4.2.7. The relationship between KRAS gene mutations and tumor stage

4.2.7.1. The extent of tumor invasion

In our study, KRAS gene mutations, specifically codon 12 mutations, are more common in patients with locally advanced tumors (T4), OR = 1,59 and OR = 8 with codon 12 mutations. L.V. Thieu's study showed the same result that the KRAS mutations associated with extent of tumor invasion. In the research of Li.W et al, mutational rates for KRAS at codon 12 were significantly more common in patients with T3, T4, OR = 1,27. We can not confirm this relationship in our study, likely due to our small sample size. There is also no difference in mutational rate for KRAS at codon 13 by extent of tumor invasion.

4.2.7.2. Lymph node metastasis

Regional lymph nodes are one of the most important prognostic factors in colorectal cancer. There is discordance among studies on the impact of KRAS mutational status on lymph node metastasis at the time of initial mCRC presentation. In our study, patients with more than 4 positive nodes have KRAS mutation rate of 1,94-fold higher than the others, but this difference is not statistically significant (p = 0,3). The presence of KRAS mutations is often correlated to lymph node metastasis as presented in the study by Li. W. This author noted an elevated rate of KRAS mutations in patients with lymph node metastasis, p = 0,02. But in contrast to the current result, Liu. X et al did not find an association between KRAS mutation with lymph node metastasis and others clinical characteristics at the time of presentation. We also analyzed distant metastasis in patients with or without KRAS gene mutations and found out no association between KRAS mutations and the spread of colorectal cancer. This finding corresponds to the studies by Liu.W and Li.W.

CONCLUSIONS

In this study, 65 colorectal cancer cases were recorded from 2012 to 2016. Data were collected and analyzed for the following results:

Clinical and para-clinical findings

- Median age was 54,5 years-old, patients were commonly diagnosed between 50 – 69 years-old (70,8%).Men/women rate was 58,5%.
- Common symptoms were abdominal pain (75,4%), bloody diarrhea (72,3%), mucous diarrhea (60%) and diarrhea (44,6%).

- Macroscopic type of colorectal tumor: protuberant tumor, protuberant tumor with ulcers and irregular ulceration were 33,8%, 35.4% and 16,9 %. Ulcer and diffuse infiltration type had 7,7% and 6,2%.
- Most patients with tumors invade over ¾ circumference of colon with 84.6%.
- Colon cancer was 90,8% and rectal cancer was 9,2% patients.
- Most common histopathologic type was adenocarcinoma (84,6% patients) and mucinous adenocarcinoma was 13,8%.
- Patients in stage IV was 58,5% and stage III was 21,5%.

KRAS mutation characteristics and the relationship with pathological features

- KRAS mutation rate was 39,9%
- KRAS mutation in codon 12, 13 and both 2 codons were 9,2%, 20% and 7,7%.
- In men, KRAS mutation rate was higher in codon 12 than in codon 13 (OR = 6,93, p = 0,077)
- In women, KRAS mutation rate was higher in codon 13 than in codon 12 (OR = 2,2 and p =0.16)
- KRAS mutation rate was higher in rectal cancer than in colon, OR =10,53, p = 0,004, the difference was significant and KRAS codon 13 mutation was also significantly higher in rectal than in colon OR = 6,43 and p=0,043
- The right colon cancer had more frequency of KRAS mutation rate than the left colon cancer, however difference was not significant with p = 0,24
- The advanced tumor stage (T4) had a higher codon 12 KRAS mutation rate than early tumor stage, OR = 8,0, p =0,057.
- There was no relationship between tumor size and KRAS mutation status.

RECOMMENDATION

We recommend that mutation of KRAS gene should be evaluated before treatment of colorectal cancer proceeds. KRAS mutation is common genetic damage and can predict a poor reponse of cancer cells to EGFR-targeted mono antibodies. Some pathological features are associated with KRAS mutation status but with no statistical significance due to small sample size and limited time. We need to carry out the study in a larger scale to validate our results.