

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

ĐẶNG HUỠNH ANH THU

KHẢO SÁT CÁC ĐỘT BIẾN GEN Ở BỆNH NHÂN UNG  
THƯ PHỔI KHÔNG TẾ BÀO NHỎ BẰNG PHƯƠNG PHÁP  
GIẢI TRÌNH TỰ GEN THỂ HỆ MỚI

Chuyên ngành: Hóa Sinh Y Học

Mã số: 62720112

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

TP. Hồ Chí Minh, năm 2023

Công trình được hoàn thành tại:  
Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Người hướng dẫn khoa học: PGS. TS. Lê Xuân Trường  
TS. Nguyễn Hoài Nghĩa

Phản biện 1: .....

Phản biện 2 .....

Phản biện 3: .....

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp trường  
hợp tại  
vào hồi      giờ      ngày      tháng      năm

Có thể tìm hiểu Luận án tại thư viện:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Thư viện Khoa học Tổng hợp TP. HCM
- Thư viện Đại học Y Dược TP. HCM

## GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

### 1. Lý do và tính cần thiết của nghiên cứu

Xét nghiệm các đột biến gen *EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF*, *KRAS*, *NRAS* có giá trị trong lựa chọn phương pháp điều trị đích và tiên lượng đáp ứng điều trị ở bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ (UTPKTBN). Giải trình tự gen thế hệ mới (NGS) là kỹ thuật hiện đại, khảo sát đồng thời nhiều gen, giá thành hợp lý, kết quả nhanh chóng, đặc biệt có thể thực hiện trên mẫu sinh thiết lỏng với độ phủ cao. Tại Việt Nam, các nghiên cứu hiện vẫn chủ yếu tập trung vào 2 loại đột biến *EGFR* và *KRAS*, chưa có công trình nào đánh giá đột biến của các gen *ALK*, *ROS1*, *BRAF*, *NRAS*. Vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài: “*Khảo sát các đột biến gen ở bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ bằng phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới*”.

### 2. Mục tiêu nghiên cứu

1. Xác định tỉ lệ đột biến của 6 gen (*EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*) bằng NGS mô u và mối liên quan giữa các đột biến gen này với một số đặc điểm lâm sàng của BN UTPKTBN.

2. So sánh sự tương đồng trong phát hiện đột biến *EGFR* giữa NGS mô u với ddPCR và *EGFR* Cobas V2.

3. So sánh sự tương đồng trong phát hiện các đột biến gen giữa NGS sinh thiết lỏng với NGS mô u, ddPCR và *EGFR* Cobas V2.

### 3. Những đóng góp mới của nghiên cứu về mặt lý luận và thực tiễn

Các kết quả nghiên cứu đã đóng góp cho việc mô tả tần suất các gen liên quan đến điều trị đích và sự phổ biến của các gen trong các phân nhóm bệnh nhân khác nhau để có chiến lược xét nghiệm phù hợp. Nghiên cứu cung cấp thông tin về sự tương đồng giữa xét nghiệm mới hiện đại là NGS trên mô u và sinh thiết lỏng với các xét nghiệm có độ

chính xác cao và được FDA chấp thuận trong phát hiện các đột biến gen ở BN UTPKTBN.

#### **4. Bố cục luận án**

Luận án dài 113 trang, trình bày theo qui chuẩn. Nội dung của luận án được minh họa bởi 27 bảng, 6 biểu đồ, 6 hình, 121 tài liệu tham khảo, 7 phụ lục và 3 bài báo được công bố đính kèm để minh chứng cho quá trình thực hiện cũng như kết quả nghiên cứu.

## **CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU**

### **1.1. UNG THƯ PHỔI**

Ung thư phổi (UTP) là một trong những bệnh ung thư phổ biến về tỷ lệ mắc và là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong liên quan đến ung thư. UTP chia làm 2 nhóm: ung thư phổi tế bào nhỏ và ung thư phổi không tế bào nhỏ, trong đó 80-85% là ung thư phổi không tế bào nhỏ (UTPKTBN).

### **1.2. VAI TRÒ CỦA ĐỘT BIẾN GEN TRONG UNG THƯ PHỔI KHÔNG TẾ BÀO NHỎ**

Hiệp hội Ung thư Lâm sàng Hoa Kỳ (ASCO) khuyến cáo xét nghiệm đột biến các gen *EGFR*, *ALK*, *ROS1* và *BRAF*, *KRAS* vì dự đoán tính nhạy của các thuốc tyrosine kinase (TKI) trong điều trị đích cho bệnh nhân UTPKTBN giai đoạn trễ. Đột biến gen *EGFR* đã được xác định trên bệnh UTPKTBN với tỉ lệ từ 10-20% trên bệnh nhân ở châu Âu, châu Mỹ và 30-60% trên bệnh nhân thuộc chủng tộc Đông Á, người Việt Nam có tỉ lệ đột biến *EGFR* chiếm 64,2%. Dung hợp *EML4-ALK* xuất hiện trong UTPKTBN với tần suất thấp 1-7%. Đột biến gen *ROS1* xuất hiện khoảng 2% ở BN UTPKTBN. *KRAS* được xác định chiếm khoảng 15 - 25%, chủ yếu gặp ở người da trắng và có tiền cá

nhân sử hút thuốc. *NRAS* chiếm khoảng 1% ở bệnh nhân UTPKTBN, thường được tìm thấy ở ung thư biểu mô (UTBM) tuyến và có tiền sử hút thuốc. *BRAF* đã được tìm thấy trong 1–4% của tất cả UTPKTBN, phổ biến nhất ở ở UTBM tuyến.

### 1.3. CÁC PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH ĐỘT BIẾN GEN

#### 1.3.1. Các kỹ thuật PCR.

##### ❖ Xét nghiệm *EGFR Cobas Version 2*

Xét nghiệm *EGFR Cobas V2* là phương pháp real-time PCR được cấp chứng nhận chất lượng CE-IVD cho phép sử dụng trong chẩn đoán, cho kết quả nhanh chóng, độ nhạy cao, có khả năng phát hiện định tính 42 đột biến *EGFR* khi số lượng tế bào mang đột biến là 5%. Đây là xét nghiệm *EGFR* đầu tiên và duy nhất hiện tại được FDA chấp thuận cho cả sinh thiết mô và sinh thiết lỏng.

##### ❖ Kỹ thuật PCR vi giọt kỹ thuật số (*ddPCR: digital droplet PCR*)

PCR vi giọt kỹ thuật số (*ddPCR*) là PCR thế hệ thứ ba, sau real-time PCR. *ddPCR* có độ nhạy cao có thể phát hiện đột biến có tần suất đột biến (MAF: mutant allele fraction) xuống thấp đến mức 0,025% - 0,04%. Chính vì thế *ddPCR* được sử dụng để thẩm định kết quả NGS cho những đột biến ở tần số thấp và xác định tỷ lệ của các cfDNA (DNA phóng thích từ tế bào bình thường) trong sinh thiết lỏng. Tuy nhiên chỉ phát hiện một số ít đột biến đã biết trước trên một số lượng gen giới hạn, không thể nhận biết đột biến mới và có giá thành cao.

#### 1.3.2. Giải trình tự gen

##### ❖ Giải trình tự gen Sanger

Giải trình tự Sanger không đủ độ nhạy để phát hiện những đột biến có tần suất thấp hơn 20% và không thể phát hiện những đột biến mất đoạn và chuyển đoạn, tốn nhiều thời gian và giá thành cao. Do đó phát

hiện đột biến ở BN UTPKTB dần được khuyến cáo sử dụng các phương pháp khác hiện đại hơn.

#### ❖ **Giải trình tự gen thế hệ mới (NGS)**

NGS là công nghệ giải trình tự gen tiên tiến, cho phép giải trình tự đồng thời hàng triệu mảnh DNA phân trong một phản ứng nên giúp giảm nhiều chi phí. NGS phát hiện đồng thời nhiều loại đột biến như: đột biến điểm, mất đoạn, chuyển đoạn, khuếch đại gen hay mất nhiều gen.

#### **1.3.3. Sinh thiết lỏng**

Sinh thiết lỏng khắc phục được các nhược điểm của sinh thiết mô u truyền thống như dễ dàng lấy mẫu và lập lại để theo dõi điều trị. Tuy nhiên, ctDNA (DNA phóng thích từ khối u) ở bệnh nhân ung thư chỉ chiếm tỷ lệ nhỏ trong tổng số cfDNA. Tần suất đột biến (MAF) có thể chỉ ở khoảng 1% (1 phân tử ctDNA mang đột biến được phóng thích từ tế bào ung thư trên 100 phân tử cfDNA) nên cần phải lựa chọn các phương pháp chính xác và tối ưu để phân tích ctDNA. Các phương pháp có thể sử dụng để phân tích ctDNA như real-time PCR, ddPCR và giải trình tự thế hệ mới với độ sâu lớn.

#### **1.3.4. Tình hình nghiên cứu đột biến đồng thời 6 gen (*EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*) và sự tương đồng của NGS với các phương pháp khác.**

Nghiên cứu MSK-IMPACT (2017) báo cáo đột biến *EGFR* là 24,5%, đột biến *KRAS* là 26,9%, đột biến *ALK* là 4,4%, đột biến *BRAF* là 5,2%, đột biến *ROS1* là 3,1%, đột biến *NRAS* là 1,2%. Steendam C.M.J (2019) cho thấy sự tương đồng giữa ddPCR và NGS sinh thiết lỏng là 86% ( $\kappa = 0,63$ ). Remon J (2019) nghiên cứu NGS sinh thiết mô và sinh thiết lỏng trong khảo sát các gen *EGFR* exon 18-21, *BRAF*, *KRAS*, *MET* exon 14, *ERBB2* exon 20, cho thấy sự tương đồng

giữa hai phương pháp là 95%; độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 72% và 97%.

Tại Việt Nam có nhiều nghiên cứu về tỉ lệ *EGFR* và *KRAS* trên BN UTPKTBN nhưng chưa có công trình nghiên cứu nào xác định tỉ lệ đồng thời 6 gen bằng phương pháp NGS trên mô u và sinh thiết lỏng.

## **CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. Thiết kế nghiên cứu**

Nghiên cứu cắt ngang mô tả.

### **2.2. Đối tượng nghiên cứu**

Dân số chọn mẫu: bệnh nhân UTP đến khám và điều trị tại Bệnh viện Phạm Ngọc Thạch

#### **Tiêu chí đưa vào nghiên cứu**

Bệnh nhân đã được chẩn đoán xác định UTPKTBN giai đoạn IIIB-IV (theo tiêu chuẩn của AJCC VII); bệnh nhân chưa điều trị đích, hóa trị, xạ trị; bệnh nhân đủ hoặc trên 18 tuổi; bệnh nhân tự nguyện tham gia nghiên cứu.

#### **Tiêu chí loại trừ khỏi nghiên cứu**

Bệnh nhân không có mô bệnh phẩm

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

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 9/2018 đến tháng 9/2020 tại khoa ung thư bệnh viện Phạm Ngọc Thạch

### **2.4. Cỡ mẫu nghiên cứu**

(1) *Ước lượng cỡ mẫu cho mục tiêu 1,2 nhằm khảo sát đồng thời các đột biến gen bằng NGS mô u và so sánh sự tương đồng trong phát hiện đột biến EGFR giữa NGS mô u với ddPCR và EGFR Cobas V2.*

Cỡ mẫu được tính theo công thức:

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

Trong đó:

n là cỡ mẫu nhỏ nhất phải đạt được.

$Z_{1-\alpha/2}$ : 1,96 với  $\alpha$ : Xác suất sai lầm loại I (mức ý nghĩa),  $\alpha = 0,05$ .

d: sai số cho phép là 0,1

Dựa trên tỉ lệ đột biến của 6 gen trong UTPKTBN và tỉ lệ tương đồng của NGS mô u và Cobas:

+ p: 42% là tỉ lệ đột biến *EGFR* từ nghiên cứu của Hoàng Anh Vũ.

+ p: 6,7% là tỉ lệ đột biến *ALK* từ nghiên cứu của Soda M.

+ p: 3,4% là tỉ lệ đột biến *ROS1* từ nghiên cứu của Kim H.R.

+ p: 3% là tỉ lệ đột biến *BRAF* từ nghiên cứu của Davies H.

+ p: 15,5% là tỉ lệ đột biến *KRAS* từ nghiên cứu Nguyễn Minh Hà.

+ p: 97,5% là tỉ lệ tương đồng giữa NGS mô u và *EGFR* Cobas V2

trong phát hiện đột biến gen *EGFR* từ nghiên cứu của Murakami S.

**→ Như vậy, cỡ mẫu chung cần ít nhất 94 BN có mẫu mô phù hợp.**

(2) Ước lượng cỡ mẫu cho mục tiêu 3 nhằm so sánh sự tương đồng trong phát hiện các đột biến gen giữa NGS sinh thiết lỏng với NGS mô u, ddPCR và *EGFR* Cobas V2

Cỡ mẫu được tính theo công thức:

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

Trong đó:

n là cỡ mẫu nhỏ nhất phải đạt được.

$Z_{1-\alpha/2}$ : 1,96 với  $\alpha$ : Xác suất sai lầm loại I (mức ý nghĩa),  $\alpha = 0,05$ .

d: sai số cho phép là 0,1

Dựa trên tỉ lệ tương đồng giữa NGS sinh thiết lỏng và các phương pháp

+ p: 95% là tỉ lệ tương đồng giữa NGS sinh thiết lỏng và mô u trong phát hiện đột biến *EGFR*, *BRAF*, *KRAS* từ nghiên cứu của Remon J.

+ p: 91% là tỉ lệ tương đồng giữa NGS sinh thiết lỏng và ddPCR trong phát hiện đột biến các gen *EGFR* lấy từ nghiên cứu của Stitz R.

+ p: 82% là tỉ lệ tương đồng giữa NGS sinh thiết lỏng và *EGFR* Cobas V2 trong phát hiện đột biến các gen *EGFR* lấy từ nghiên cứu của Papadopoulos E.

→ Như vậy, cỡ mẫu chung cần ít nhất 57 BN có mẫu máu.

## 2.5. Phương pháp, công cụ đo lường, thu thập số liệu

**2.5.1. Giải trình tự gen thế hệ mới xác định 6 đột biến gen (*EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*) trên mô u và sinh thiết lỏng.**

- Mẫu mô u là mẫu mô sinh thiết được đúc trong khối nền FFPE và 10 ml máu ngoại biên được thu nhận trong ống EDTA Vacutainer (Becton Dickinson).

- Tách chiết DNA ngoại bào: DNA từ mô u FFPE được tách chiết bằng bộ kit QiaAmp DNA FFPE kit (Qiagen); DNA từ huyết tương được tách chiết bằng bộ kit MagMax cell-free DNA kit.

- Chuẩn bị thư viện phục vụ bằng bộ kit NEBnext Ultra II library preparation kit và NEBnext Multiplex Oligos Dual (NEBnext).

- Làm giàu các phân mảnh DNA của 6 gen mục tiêu sử dụng kit xGen Lockdown reagent (IDT) và xGen panel (IDT).

- Xác định độ sâu tối thiểu và ngưỡng giới hạn phát hiện đột biến (LOD: limit of detection).

+ Với mẫu sinh thiết lỏng: DNA phân cắt có chứa đột biến và không chứa đột biến được trộn với nhau tại các nồng độ pha loãng: 5%; 2,5%,

1% để tạo nên những tần suất đột biến khác nhau và giải trình tự tại các độ sâu: 20.000X, 10.000X và 5.000X. Quy trình giải trình tự NGS với độ sâu lớn của sinh thiết lỏng được thiết lập tại độ sâu tối thiểu 10.000X và LOD là 1% (phát hiện 1 phân tử đột biến trên 100 phân tử DNA), ngoại trừ gen *EML4-ALK* (phát hiện ở 2,5%).

+ Với mẫu mô u: giới hạn phát hiện LOD là 10% để tránh các tín hiệu giả do quá trình cố định formalin làm tổn thương DNA và được giải trình tự ở độ sâu tối thiểu 100x.

- Giải trình tự gen thế hệ mới trên hệ thống máy giải trình tự Nextseq 550 (Illumina).

- Phân tích kết quả giải trình tự bằng phần mềm tin sinh học.

### **2.5.2. PCR vi giọt kỹ thuật số (ddPCR) xác định đột biến gen *EGFR* (L858R, T790M, mất đoạn exon 19).**

ddPCR sử dụng bộ kit phát hiện 3 loại đột biến chính trên gen *EGFR* (L858R, T790M, mất đoạn exon 19) của hãng Biorad (ddPCR *EGFR* exon 19 Deletions Screening kit; *EGFR* C797S T790M L858R Multiplex Tube 2) chạy trên thiết bị Biorad QX200 CE-IVD Droplet Digital PCR system.

### **2.5.3. *EGFR* Cobas V2 xác định đột biến gen *EGFR*.**

Thu thập kết quả *EGFR* Cobas V2 thực hiện trên hệ thống cobas 4800 thực hiện tại Bệnh viện Phạm Ngọc Thạch.

## **2.6. Phương pháp phân tích dữ liệu**

- Xử lý số liệu thống kê bằng phần mềm Stata 10.
- Sử dụng phép kiểm Chi bình phương để kiểm định mối liên hệ giữa các biến số rời hoặc định tính, có ý nghĩa thống kê khi  $p < 0,05$ .
- So sánh sự tương đồng giữa các phương pháp chẩn đoán sử dụng chỉ số Kappa với khoảng tin cậy 95%.

## **2.7. Đạo đức trong nghiên cứu**

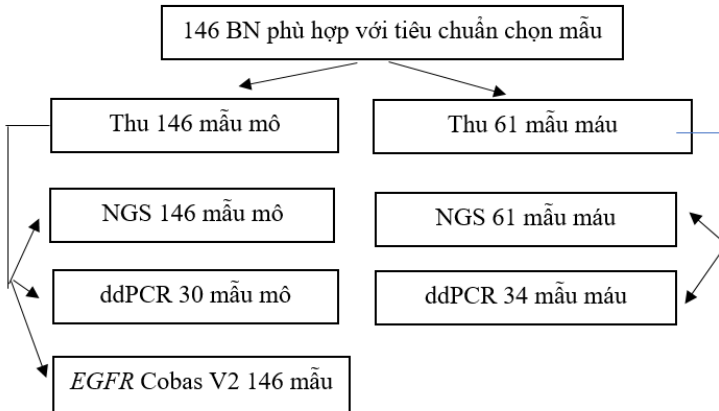
BN trong nghiên cứu đều hoàn toàn tự nguyện tham gia và không mất chi phí xét nghiệm giải trình tự gen thế hệ mới và ddPCR.

Nghiên cứu này đã được Hội đồng y đức Đại học Y dược TP.HCM (quyết định số 027/ĐHYD-HĐ).

### CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Qua nghiên cứu 146 bệnh nhân được chẩn đoán UTPKTBN giai đoạn cuối (IIIB-IV) điều trị tại Bệnh viện Phạm Ngọc Thạch từ 9/2018 đến 9/2020, chúng tôi thu nhận được 146 mẫu mô u và 61 mẫu máu

#### 3.1. MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG Ở BN



#### UTPKTBN

**Bảng 3.1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở BN UTPKTBN**

| Đặc điểm         |      | n = 146 | %    |
|------------------|------|---------|------|
| <b>Tuổi</b>      | ≤ 60 | 84      | 42,5 |
|                  | > 60 | 62      | 57,5 |
| <b>Giới tính</b> | Nam  | 98      | 67,1 |
|                  | Nữ   | 48      | 32,9 |

|                       |                    |     |      |
|-----------------------|--------------------|-----|------|
| <b>Giai đoạn bệnh</b> | IIIB               | 101 | 69,3 |
|                       | IV                 | 45  | 30,7 |
| <b>Hút thuốc lá</b>   | Không hút thuốc lá | 44  | 30,1 |
|                       | Có hút thuốc lá    | 102 | 69,9 |
| <b>Mô học khối u</b>  | UTBM tuyến         | 132 | 90,4 |
|                       | UTBM vảy           | 13  | 8,9  |
|                       | UTBM tế bào lớn    | 1   | 0,7  |

**Nhận xét:** Tuổi trung bình là  $61 \pm 11,7$ . BN > 60 tuổi chiếm tỉ lệ cao hơn nhóm  $\leq 60$  tuổi. Nam gặp nhiều hơn nữ và tỉ số nam/nữ là 2,04. BN thuộc giai đoạn IV cao hơn giai đoạn IIIB. Bệnh nhân hút thuốc lá chiếm tỉ lệ cao hơn không hút thuốc lá. Phần lớn là UTBM tuyến (90,4%), UTBM vảy và tế bào lớn chiếm tỉ lệ nhỏ.

### 3.2. XÁC ĐỊNH TỈ LỆ CÁC ĐỘT BIẾN GEN (*EGFR, ALK, ROS1, BRAF, KRAS, NRAS*) BẰNG NGS MÔ U VÀ MỐI LIÊN QUAN GIỮA CÁC ĐỘT BIẾN GEN VỚI MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG Ở BN UTPKTBN.

#### 3.2.1. Tỉ lệ các loại gen đột biến

**Bảng 3.2. Tỉ lệ các đột biến gen trong UTPKTBN.**

| <b>Gen đột biến</b> | <b>Số bệnh nhân</b> | <b>Tỷ lệ (%)</b> |
|---------------------|---------------------|------------------|
| EGFR                | 61                  | 41,7             |
| KRAS                | 18                  | 12,3             |
| ALK                 | 2                   | 1,4              |
| BRAF                | 2                   | 1,4              |
| ROS1                | 0                   | 0                |
| NRAS                | 0                   | 0                |
| EGFR + KRAS         | 5                   | 3,4              |
| Không đột biến      | 58                  | 39,7             |
| <b>Tổng</b>         | <b>146</b>          | <b>100</b>       |

**Nhận xét:** Có 60,3% BN có ít nhất 1 đột biến gen. Trong đó *EGFR* là gen bị đột biến thường gặp nhất, tiếp theo là *KRAS*. Có 3,4% BN

mang đồng thời 2 đột biến là *EGFR* và *KRAS*. *ALK* và *BRAF* chiếm tỉ lệ nhỏ. Chưa phát hiện đột biến *ROS1* và *NRAS*.

### 3.2.2. Tỉ lệ các loại đột biến của gen *EGFR*

**Bảng 3.3. Tỉ lệ các đột biến theo exon của gen *EGFR***

| Exon bị đột biến        | Tần số (n) | Tỷ lệ (%)  |
|-------------------------|------------|------------|
| Exon 21                 | 26         | 42,6       |
| Exon 19                 | 23         | 37,7       |
| Exon 20                 | 9          | 14,7       |
| Exon 18 + exon 20       | 1          | 1,6        |
| Exon 18+ exon 21        | 2          | 3,3        |
| <b>Tổng số đột biến</b> | <b>61</b>  | <b>100</b> |

**Nhận xét:** Đột biến *EGFR* chủ yếu được phát hiện ở exon 21 và exon 19. Đột biến ở exon 21 và 19 chiếm phần lớn các trường hợp.

**Bảng 3.4. Tỉ lệ các đột biến của gen *EGFR***

| Loại          | Tần số (n) | Tỷ lệ (%)  |
|---------------|------------|------------|
| L858R         | 26         | 42,6       |
| Del19         | 23         | 37,7       |
| Ins20         | 7          | 11,5       |
| H773A         | 1          | 1,6        |
| L768C         | 1          | 1,6        |
| G719C + S768I | 1          | 1,6        |
| G719A + L861Q | 2          | 3,3        |
| <b>Tổng</b>   | <b>61</b>  | <b>100</b> |

**Nhận xét:** Đột biến L858R và del19 chiếm phần lớn trong các đột biến *EGFR*. Đột biến ins20 chiếm 11,5%. Phát hiện các đột biến hiếm gặp khác như H773A, L768C, G719A, G719C, S768I, G719D, L861Q với tần suất thấp.

### 3.2.3. Tỉ lệ các loại đột biến của gen *KRAS*

Đột biến gen *KRAS* xảy ra ở exon 2 chiếm 16/18 trường hợp (88,9%). Đột biến ở exon 3 có 2 trường hợp chiếm 11,1%.

**Bảng 3.5. Tỉ lệ các đột biến theo exon của gen *KRAS***

| Loại | Tần số (n) | Tỷ lệ (%) |
|------|------------|-----------|
|------|------------|-----------|

|             |           |            |
|-------------|-----------|------------|
| G12V        | 5         | 27,8       |
| G12C        | 4         | 22,2       |
| G12D        | 3         | 16,7       |
| G12A        | 1         | 5,6        |
| G12S        | 1         | 5,6        |
| G13C        | 1         | 5,6        |
| G13S        | 1         | 5,6        |
| Q61H        | 1         | 5,6        |
| Q61R        | 1         | 5,6        |
| <b>Tổng</b> | <b>18</b> | <b>100</b> |

**Nhận xét:** Đột biến G12V (exon 2) chiếm tỉ lệ cao nhất (27,8%), tiếp đó đến đột biến G12C (22,2%) và G12V (16,7%).

### 3.2.4. Tỉ lệ các loại đột biến đồng thời của hai gen *EGFR* và *KRAS*

**Bảng 3.6.** Tỉ lệ các loại đột biến đồng thời của gen *EGFR* và *KRAS*

| Loại         | Tần số (n) | Tỷ lệ (%)  |
|--------------|------------|------------|
| del19 + G12D | 1          | 20         |
| del19 + G13S | 1          | 20         |
| L858R + G12V | 1          | 20         |
| L858R + G13S | 1          | 20         |
| Ins20 + G12C | 1          | 20         |
| <b>Tổng</b>  | <b>5</b>   | <b>100</b> |

**Nhận xét:** Có 5 trường hợp đồng đột biến *EGFR* và *KRAS* với tỉ lệ như nhau

### 3.2.5. Tỉ lệ các loại đột biến của gen *BRAF*

**Bảng 3.7.** Tỉ lệ các loại đột biến của gen *BRAF*

| Loại        | Tần số (n) | Tỷ lệ (%)  |
|-------------|------------|------------|
| G649R       | 1          | 50         |
| K483N       | 1          | 50         |
| <b>Tổng</b> | <b>2</b>   | <b>100</b> |

**Nhận xét:** 1 trường hợp exon 11 (G649R) và 1 trường hợp exon 12 (K483N) với tỉ lệ bằng nhau 50%.

### 3.2.6. Mối liên quan giữa các đột biến gen và giới tính

**Bảng 3.8. Mối liên quan giữa các loại đột biến và giới tính**

|      | Đột biến       | Nữ |      | Nam |      | Tổng |      | p      |
|------|----------------|----|------|-----|------|------|------|--------|
|      |                | n  | %    | n   | %    | n    | %    |        |
| EGFR | Không đột biến | 18 | 37,5 | 67  | 68,4 | 85   | 58,2 | < 0,01 |
|      | Đột biến       | 30 | 62,5 | 31  | 31,6 | 61   | 41,8 |        |
| KRAS | Không đột biến | 44 | 91,7 | 84  | 85,7 | 128  | 87,7 | > 0,05 |
|      | Đột biến       | 4  | 8,3  | 14  | 14,3 | 18   | 12,3 |        |

**Nhận xét:** Tỷ lệ đột biến gen *EGFR* ở nhóm BN nữ (62,5%) cao hơn nhóm BN nam (31,6%) có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$

### 3.2.7. Mối liên quan giữa các đột biến gen và tuổi

**Bảng 3.9. Mối liên quan giữa các loại đột biến và tuổi.**

|      | Đột biến       | ≤ 60 |      | > 60 |      | Tổng |      | p      |
|------|----------------|------|------|------|------|------|------|--------|
|      |                | n    | %    | n    | %    | n    | %    |        |
| EGFR | Không đột biến | 31   | 50   | 54   | 64,3 | 85   | 58,2 | > 0,05 |
|      | Đột biến       | 31   | 50   | 30   | 35,7 | 61   | 41,8 |        |
| KRAS | Không đột biến | 53   | 85,5 | 75   | 89,3 | 128  | 87,7 | > 0,05 |
|      | Đột biến       | 9    | 14,5 | 9    | 10,7 | 18   | 12,3 |        |

**Nhận xét:** Chưa ghi nhận mối liên quan giữa đột biến gen *EGFR*, *KRAS* và tuổi.

### 3.2.8. Mối liên quan giữa các đột biến gen và hút thuốc lá

**Bảng 3.10. Mối liên quan giữa các loại đột biến và hút thuốc lá**

|      | Đột biến       | Không hút thuốc |      | Hút thuốc |      | Tổng |      | p      |
|------|----------------|-----------------|------|-----------|------|------|------|--------|
|      |                | n               | %    | n         | %    | n    | %    |        |
| EGFR | Không đột biến | 15              | 34,1 | 70        | 68,6 | 85   | 58,2 | < 0.01 |
|      | Đột biến       | 29              | 65,9 | 32        | 31,4 | 61   | 41,8 |        |
| KRAS | Không đột biến | 40              | 90,9 | 88        | 86,3 | 128  | 87,7 | > 0.05 |
|      | Đột biến       | 4               | 9,1  | 14        | 13,7 | 18   | 12,3 |        |

**Nhận xét:** Tỷ lệ đột biến gen *EGFR* ở nhóm BN không hút thuốc lá (65,9%) cao hơn nhóm BN hút thuốc lá (31,4%) có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .

### 3.2.9. Mối liên quan giữa các đột biến gen và phân loại mô học

**Bảng 3.11. Mối liên quan giữa các loại đột biến và phân loại mô học**

| Đột biến | Ung thư biểu mô tuyến |     | Ung thư biểu mô vảy |    | Ung thư tế bào lớn |   | Tổng |     | p    |        |
|----------|-----------------------|-----|---------------------|----|--------------------|---|------|-----|------|--------|
|          | n                     | %   | n                   | %  | n                  | % | n    | %   |      |        |
| EGFR     | Không đột biến        | 71  | 53,8                | 11 | 84,6               | 1 | 100  | 85  | 58,2 | < 0.05 |
|          | Đột biến              | 61  | 46,2                | 2  | 15,4               | 0 | 0    | 61  | 41,8 |        |
| KRAS     | Không đột biến        | 115 | 87,1                | 12 | 92,3               | 1 | 100  | 128 | 87,7 | > 0.05 |
|          | Đột biến              | 17  | 12,9                | 1  | 7,7                | 0 | 0    | 18  | 12,3 |        |

**Nhận xét:** Tỷ lệ đột biến gen *EGFR* ở nhóm BN UTBM tuyến (46,2%) cao hơn nhóm BN UTBM vảy (15,4%) có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

### 3.3. SO SÁNH SỰ TƯƠNG ĐỒNG TRONG PHÁT HIỆN ĐỘT BIẾN *EGFR* GIỮA NGS MÔ U VỚI ddPCR VÀ *EGFR* COBAS V2

Trong phương pháp NGS, nghiên cứu áp dụng giới hạn phát hiện LOD đối với sinh thiết mô u là 10% và đối với sinh thiết lỏng 1% (riêng *EML4-ALK* là 2,5%).

### 3.3.1. So sánh sự tương đồng giữa NGS mô u và ddPCR trong phát hiện đột biến *EGFR* (L858R, del19, T790M)

**Bảng 3.12.** So sánh sinh thiết mô NGS và ddPCR

| ddPCR mô u            | NGS mô u       |             |      |                                   |
|-----------------------|----------------|-------------|------|-----------------------------------|
|                       | Không đột biến | Có đột biến | Tổng |                                   |
| <b>Không đột biến</b> | 25             | 0           | 25   | Tỉ lệ tương đồng:<br>96,7%        |
| <b>Có đột biến</b>    | 1              | 4           | 5    | Hệ số Kappa:<br>$k=0,86 \pm 0,18$ |
| <b>Tổng</b>           | 26             | 4           | 30   |                                   |

**Nhận xét:** Kết quả chẩn đoán giữa NGS và ddPCR trên mô u tương đồng 96,7% với chỉ số tương đồng Kappa ở mức độ rất tốt ( $k=0,86$ )

### 3.3.2. So sánh sự tương đồng giữa NGS mô u và *EGFR* Cobas V2

**Bảng 3.13.** So sánh sinh thiết mô NGS và *EGFR* Cobas V2

| Cobas                 | NGS            |             |      |                                   |
|-----------------------|----------------|-------------|------|-----------------------------------|
|                       | Không đột biến | Có đột biến | Tổng |                                   |
| <b>Không đột biến</b> | 80             | 6           | 86   | Tỉ lệ tương đồng: 92,5%           |
| <b>Có đột biến</b>    | 5              | 55          | 60   | Hệ số Kappa:<br>$k=0,84 \pm 0,08$ |
| <b>Tổng</b>           | 85             | 61          | 146  |                                   |

**Nhận xét:** Kết quả chẩn đoán giữa NGS mô u và *EGFR* Cobas V2 trên mô u tương đồng 92,5% với chỉ số tương đồng Kappa ở mức độ rất tốt ( $k=0,84$ )

## 3.4. SO SÁNH SỰ TƯƠNG ĐỒNG TRONG PHÁT HIỆN CÁC

## ĐỘT BIẾN GEN GIỮA NGS SINH THIẾT LÔNG VỚI NGS MÔ U, ddPCR VÀ *EGFR* COBAS V2

### 3.4.1. So sánh sự tương đồng giữa NGS sinh thiết lỏng và ddPCR trong phát hiện đột biến *EGFR* (L858R, del19, T790M)

**Bảng 3.14.** So sánh NGS sinh thiết lỏng và ddPCR

| ddPCR sinh thiết lỏng | NGS sinh thiết lỏng |             |      | Tỉ lệ tương đồng:<br>97%<br>Hệ số Kappa:<br>$k=0,87 \pm 0,17$ |
|-----------------------|---------------------|-------------|------|---|
|                       | Không đột biến      | Có đột biến | Tổng |   |
| Không đột biến        | 29                  | 0           | 29   |   |
| Có đột biến           | 1                   | 4           | 5    |   |
| <b>Tổng</b>           | 30                  | 4           | 34   |   |

**Nhận xét:** Kết quả chẩn đoán giữa NGS và ddPCR trên sinh thiết lỏng tương đồng 97% với chỉ số tương đồng Kappa ở mức độ rất tốt ( $k=0,87$ )

### 3.4.2. So sánh sự tương đồng giữa NGS sinh thiết lỏng và *EGFR* Cobas V2

**Bảng 3.15.** So sánh sinh thiết mô NGS và *EGFR* Cobas V2

| <i>EGFR</i> Cobas V2 mô u | NGS sinh thiết lỏng |             |      | Tỉ lệ tương đồng:<br>86,9%<br>Hệ số Kappa:<br>$k=0,63 \pm 0,12$ |
|---------------------------|---------------------|-------------|------|---|
|                           | Không đột biến      | Có đột biến | Tổng |   |
| Không đột biến            | 43                  | 4           | 47   |   |
| Có đột biến               | 4                   | 10          | 14   |   |
| <b>Tổng</b>               | 47                  | 14          | 61   |   |

**Nhận xét:** Kết quả chẩn đoán giữa NGS sinh thiết lỏng và *EGFR* Cobas V2 mô u cho thấy sự tương đồng 86,9% với chỉ số tương đồng Kappa

ở mức độ tốt ( $k=0,63$ ).

### 3.4.3. So sánh sự tương đồng giữa NGS sinh thiết lỏng và sinh thiết mô trong phát hiện 6 gen *EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*

**Bảng 3.16.** So sánh sinh thiết lỏng NGS và sinh thiết mô

| Sinh thiết mô         | Sinh thiết lỏng |             |      | Tỉ lệ tương đồng:<br>86,9%<br>Hệ số Kappa:<br>$k=0,73 \pm 0,12$ |
|-----------------------|-----------------|-------------|------|---|
|                       | Không đột biến  | Có đột biến | Tổng |   |
| <b>Không đột biến</b> | 31              | 1           | 32   |   |
| <b>Có đột biến</b>    | 7               | 22          | 29   |   |
| <b>Tổng</b>           | 38              | 23          | 61   |   |

**Nhận xét:** Kết quả chẩn đoán giữa NGS sinh thiết lỏng và sinh thiết mô u cho thấy sự tương đồng 86,9% với chỉ số tương đồng Kappa ở mức độ tốt ( $k=0,73$ ). Sinh thiết lỏng NGS có độ nhạy là 75,9%, độ đặc hiệu là 96,9% so với sinh thiết mô NGS.

## CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

### 4.1. ĐẶC ĐIỂM CHUNG CỦA ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Trong 146 đối tượng tham gia vào nghiên cứu, tuổi trung bình là  $61 \pm 11,7$ ; tỉ số nam/nữ = 2,04; phần lớn BN ở giai đoạn IV (69,3%). Kết quả tương đồng với nghiên cứu của Vũ Văn Thịnh (2014) báo cáo tuổi trung bình là  $61,6 \pm 11,1$ ; tỉ số nam/nữ là 2 và 82,3% BN ở giai đoạn IV. Trong số 146 BN nghiên cứu chỉ gặp 3 loại mô bệnh học là UTBM tuyến (90,4%), UTBM vảy và UTBM tế bào lớn chiếm tỉ lệ rất ít (8,9% và 0,7%). Mai Trọng Khoa (2016) báo cáo kết quả tương tự với tỉ lệ UTBM tuyến là 93,9%. Như vậy, nhìn chung nhóm đối tượng nghiên cứu của chúng tôi có nhiều điểm tương đồng với các nghiên cứu khác.

## **4.2. TỈ LỆ CÁC ĐỘT BIẾN GEN (*EGFR*, *ALK*, *ROSI*, *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*) BẰNG NGS MÔ U VÀ MỐI LIÊN QUAN GIỮA CÁC ĐỘT BIẾN GEN VỚI MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG Ở BN UTPKTBN.**

### **4.2.1. Tỉ lệ các loại gen đột biến.**

Kết quả nghiên cứu ghi nhận có 60,3% BN có ít nhất 1 đột biến gen trong 6 gen khảo sát. Trong đó *EGFR* là gen bị đột biến thường gặp nhất, tiếp theo là *KRAS*. Đột biến gen *EGFR* chiếm 41,7% tương đồng với nghiên cứu của Kosaka (2009) là 49%, của Hoàng Anh Vũ (2014) là 40,7%. Đột biến gen *EGFR* trong nghiên cứu cao hơn đáng kể so với nhóm bệnh nhân da trắng ở nghiên cứu MSK-IMPACT (2017) (41,7% so với 29,1%), do đó khẳng định lại các báo cáo trước đây rằng đột biến *EGFR* phổ biến hơn ở BN châu Á so với BN da trắng. Tỉ lệ đột biến *KRAS* trong nghiên cứu thấp hơn nhóm BN da trắng ở nghiên cứu MSK-IMPACT (12,3% so với 26,9%) và cao hơn nhóm Đông Á trong nghiên cứu của Wang (2015) (12,3% so với 8,0%). Tỉ lệ đột biến *ALK* và *BRAF* trong nghiên cứu được phát hiện với tỉ lệ 1,4%, đây là phát hiện mới của nghiên cứu. Không phát hiện được đột biến *NRAS* và *ROSI* trong nghiên cứu, có thể do số lượng mẫu chưa đủ lớn để phát hiện các đột biến hiếm này. Tuy nhiên ở nghiên cứu thực hiện trên 350 BN UTPKTBN đa trung tâm của nhóm nghiên cứu chúng tôi công bố vào năm 2020 phát hiện được tỉ lệ đột biến *ROSI* là 2,3% và đột biến *NRAS* là 0,6%. Có 3,4% BN mang đồng thời 2 đột biến là *EGFR* và *KRAS*. Việc xác định những BN có các đồng đột biến có tầm quan trọng trong lâm sàng vì những đột biến đồng thời này có thể có tác động đáng kể đến kết quả điều trị.

### **4.2.2. Tỉ lệ các loại đột biến của gen *EGFR***

Kết quả nghiên cứu ghi nhận đột biến *EGFR* chủ yếu được phát hiện ở exon 21 (42,6%) và exon 19 (37,7%). Đột biến L858R (42,6%) và del19 (37,7%) chiếm phần lớn trong các đột biến *EGFR*. Kết quả nghiên cứu phù hợp với đa số các nghiên cứu như của Nguyễn Minh

Hà (2014) cho thấy đột biến L858R (44,3%) và del19 (37,7%), của Mitsudomi T. (2010) báo cáo đột biến L858R (42,2%) và del19 (48,2%). Ngoài ra, các đột biến hiếm gặp khác cũng được phát hiện như H773A, L768C, G719A, G719C, S768I, G719D, L861Q với tỉ lệ lưu hành 1,6 đến 3,3%. Đột biến ins20 còn được gọi là đột biến kháng thuốc và được phát hiện ở 7 trường hợp (11,5%) và không cùng tồn tại với bất kỳ đột biến *EGFR* kích hoạt nào như đột biến L858R và del19, cho thấy rằng đột biến ins20 có khả năng là đột biến bất hoạt chính hơn là đột biến kháng thuốc mắc phải. Kết quả không phát hiện đột biến T790M do nghiên cứu được thực hiện trên các bệnh nhân chưa được điều trị đích.

#### **4.2.3. Tỉ lệ các loại đột biến của gen KRAS**

Kết quả nghiên cứu cho thấy đột biến *KRAS* xảy ra phổ biến ở exon 2 (88,9%). Đột biến tại codon 12 chiếm đa số (77,7%), cao gấp 7 lần đột biến tại codon 13 (11,1%). Tỉ lệ này tương đồng nghiên cứu của Nguyễn Minh Hà (2014) cho thấy đột biến codon 2 chiếm 82,2% và codon 3 chiếm 17,8%. Trong số những trường hợp mang đột biến, loại đột biến G12V (exon 2) chiếm tỉ lệ cao nhất (27,8%), tiếp đó đến đột biến G12C (22,2%) và G12D (16,7%). Nghiên cứu phát hiện thêm đột biến hiếm khác trên exon 3 như Q61H, Q61R chiếm tỉ lệ thấp (5,6%).

#### **4.2.3. Tỉ lệ các loại các loại đột biến đồng thời của hai gen EGFR và KRAS.**

Nghiên cứu phát hiện 3,4% trường hợp có kết hợp đột biến *KRAS* và *EGFR*. Đây là một yếu tố được quan tâm đặc biệt, vì hai đột biến này luôn được coi là loại trừ lẫn nhau. Kết quả nghiên cứu cho thấy BN UTPKTBN Việt Nam có tần suất đột biến *EGFR* và *KRAS* cao nhưng 2 đột biến này không loại trừ lẫn nhau và quan trọng để giúp chọn lựa BN phù hợp cho điều trị đích bằng erlotinib và gefitinib.

#### **4.2.3. Tỉ lệ các loại đột biến của gen BRAF**

Nghiên cứu cho thấy đột biến BRAF chiếm 1,4%, đều là phụ nữ, không hút thuốc lá. Điều này phù hợp với sự các công bố hiện nay là

đột biến *BRAF* là đột biến hiếm gặp, chiếm khoảng 2% trong UTPKTBN và thường xuyên xảy ra hơn ở những người không hút thuốc, phụ nữ. Trong đó 1 trường hợp exon 11 (G649R) và 1 trường hợp exon 12 (K483N) với tỉ lệ bằng nhau 50%, là những đột biến được phân loại không phải V600. Đây là phát hiện cần thiết vì vemurafenib đặc biệt nhắm trúng đích vào các đột biến *BRAF* V600 nhưng không hiệu quả ở những bệnh nhân có đột biến *BRAF* không phải V600.

#### **4.2.3. Mối liên quan giữa các đột biến gen và các đặc điểm lâm sàng.**

Trong nghiên cứu, do đột biến *BRAF* và *ALK* chỉ có 2 trường hợp cho mỗi loại đột biến, nên chúng tôi tập trung vào tìm mối liên quan của hai đột biến gen thường gặp trong hơn 50% bệnh nhân UTPKTBN là *EGFR* và *KRAS* với một số đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân. Tỉ lệ đột biến gen *EGFR* ở nhóm BN nữ (62,5%) cao hơn nhóm BN nam (31,6%); ở nhóm BN không hút thuốc lá (65,9%) cao hơn nhóm BN hút thuốc lá (31,4%), ở nhóm BN UTBM tuyến (46,2%) cao hơn UTBM vảy (15,4%) có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

### **4.3. SO SÁNH SỰ TƯƠNG ĐỒNG TRONG PHÁT HIỆN ĐỘT BIẾN GEN *EGFR* GIỮA NGS MÔ U VỚI ddPCR VÀ *EGFR* COBAS V2.**

#### **4.3.1. So sánh sự tương đồng giữa NGS mô u và ddPCR trong phát hiện đột biến *EGFR* (L858R, del19, T790M) .**

Khi so sánh với kết quả ddPCR, sự tương đồng giữa NGS mô u và ddPCR là 96,7% với chỉ số tương đồng Kappa ở mức độ rất tốt ( $k = 0,86 \pm 0,18$ ) trong phát hiện 3 loại đột biến thường gặp của *EGFR* (L85R, del19, T790M). Sự tương đồng cao giữa NGS mô u và ddPCR trong nghiên cứu phù hợp với nghiên cứu của Jing (2018) cho thấy độ nhạy và độ đặc hiệu của NGS mô u so với ddPCR rất cao là 97,8% và 98,1%. Trong 30 ca chỉ có 1 trường hợp phát hiện đột biến del19 bởi ddPCR nhưng bị bỏ sót bởi xét nghiệm NGS do có MAF là 3,9% dưới

giới hạn phát hiện (LOD) của quy trình NGS (10%) nên được ghi nhận là âm tính với NGS.

#### **4.3.2. So sánh sự tương đồng giữa NGS mô u và *EGFR* Cobas V2**

Khi so sánh với xét nghiệm *EGFR* Cobas V2 được FDA chấp thuận, nghiên cứu cho thấy NGS mô u và Cobas trên mô u có tỉ lệ tương đồng 92,5% với chỉ số tương đồng Kappa ở mức độ rất tốt ( $k=0,84$ ). Có 6 trường hợp được phát hiện đột biến với NGS nhưng bị bỏ sót bởi Cobas là do nằm ngoài 42 loại đột biến có thể phát hiện bởi Cobas. Như vậy NGS mô u giúp phát hiện thêm 6/146 BN, tăng lên 4% BN được hưởng lợi từ liệu pháp điều trị đích trên đột biến gen *EGFR*. Các trường hợp phát hiện đột biến với Cobas nhưng bị bỏ sót bởi NGS hầu hết do MAF thấp hơn LOD (10%) trong quy trình NGS mô.

### **4.4. SO SÁNH SỰ TƯƠNG ĐỒNG TRONG PHÁT HIỆN ĐỘT BIẾN GEN GIỮA NGS SINH THIẾT LỒNG VỚI NGS MÔ U, ddPCR VÀ *EGFR* COBAS V2.**

#### **4.4.1. So sánh sự tương đồng giữa NGS sinh thiết lỏng và ddPCR**

Tỉ lệ phù hợp giữa hai phương pháp trong phát hiện 3 loại đột biến chính của gen *EGFR* là 97% với chỉ số tương đồng Kappa ở mức độ rất tốt ( $k=0,87 \pm 0,17$ ). Kết quả này phù hợp với Stitz R (2021) cho thấy sự phù hợp 91% giữa NGS và ddPCR sinh thiết lỏng. Kết quả này cho thấy NGS sinh thiết lỏng có thể được sử dụng để theo dõi ở bệnh nhân đang điều trị EGFR TKI.

#### **4.4.2. So sánh sự tương đồng giữa NGS sinh thiết lỏng và *EGFR* Cobas V2 mô u trong phát hiện đột biến gen *EGFR***

Kết quả chẩn đoán giữa NGS sinh thiết lỏng và *EGFR* Cobas V2 mô u cho thấy sự tương đồng 86,9% với chỉ số tương đồng Kappa ở mức độ tốt ( $k=0,63 \pm 0,12$ ). Kết quả này phù hợp với Papadopoulou E (2019) cho thấy tỉ lệ phù hợp 82% giữa cobas và NGS đối với đột biến nhạy cảm EGFR (ở exons 18, 19, 21). Có 4 trường hợp bỏ sót đột biến với Cobas mô u nhưng được phát hiện với NGS sinh thiết lỏng nên nếu như xem sinh thiết lỏng là phương pháp bổ sung trong trường hợp

không thể sinh thiết mô thì có thêm 6,5% (4/61) bệnh nhân được hưởng lợi từ liệu pháp điều trị nhắm trúng đích trên đột biến *EGFR*.

#### **4.4.3. So sánh sự tương đồng giữa NGS sinh thiết lỏng và NGS mô u trong phát hiện 6 gen *EGFR, ALK, ROS1, BRAF, KRAS, NRAS***

Kết quả chẩn đoán giữa NGS sinh thiết lỏng và sinh thiết mô u cho thấy sự tương đồng 86,9% với chỉ số tương đồng Kappa ở mức độ tốt ( $k = 0,73 \pm 0,12$ ). Sử dụng kết quả NGS mô u làm tiêu chuẩn tham chiếu, chúng tôi ghi nhận được độ nhạy là 75,9%, độ đặc hiệu là 96,9% cho quy trình sinh thiết lỏng với độ sâu lớn. Kết quả này phù hợp với Hanibuchi M (2019) ghi nhận sự tương đồng là 64%, độ nhạy là 67%, độ đặc hiệu là 98%. Các trường hợp chỉ phát hiện đột biến trên mẫu mô u, nhưng lại không quan sát thấy đột biến ở mẫu sinh thiết lỏng là do lượng ctDNA trong huyết tương thấp dưới ngưỡng LOD. Ngược lại có 1 trường hợp phát hiện đột biến trên cfDNA nhưng không tìm thấy ở mẫu mô u được giải thích do sự không đồng nhất của khối u. Nhiều nghiên cứu cho thấy, khối u có đặc tính đa dạng di truyền rất lớn do có nhiều dòng tế bào với những tập hợp đột biến khác nhau được phân bố ở những vị trí khác nhau trên mô u. Các hướng dẫn hiện tại của ASCO khuyến nghị rằng kết quả xét nghiệm dương tính trong huyết tương sẽ cho phép đưa ra kết luận cuối cùng về sự hiện diện của đột biến và kết quả xét nghiệm kiểu hoang dã trong sinh thiết lỏng được kiểm tra lại bằng sinh thiết mô.

## **KẾT LUẬN**

### **1. Tỷ lệ các đột biến gen liên quan đến điều trị đích (*EGFR, ALK, ROS1, BRAF, KRAS, NRAS*) ở BN UTPKTBN và mối liên quan của các đột biến gen và đặc điểm lâm sàng UTPKTBN**

- Có 60,2% BN có ít nhất 1 đột biến gen. *EGFR* là gen đột biến thường gặp nhất chiếm 41,7%; đột biến *KRAS* chiếm 12,3%; *ALK* chiếm 1,4%; *BRAF* chiếm 1,4%; đột biến kép *EGFR* và *KRAS* chiếm

3,4%. Chưa tìm thấy đột biến gen *ROS1* và *NRAS* trong nghiên cứu này.

- Trong đột biến *EGFR*, L858R chiếm tỉ lệ cao nhất là 42,6%, del19 chiếm tỉ lệ 37,7%, ins20 chiếm 11,5%.

- Trong đột biến *KRAS*, G12V chiếm tỉ lệ cao nhất (27,8%), đột biến G12C (22,2%) và G12V (16,7%).

- Tỷ lệ đột biến gen *EGFR* ở nhóm BN nữ (62,5%) cao hơn nhóm BN nam (31,6%) có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ . Tỷ lệ đột biến gen *EGFR* ở nhóm BN không hút thuốc lá (65,9%) cao hơn nhóm BN hút thuốc lá (31,4%) có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ . Tỷ lệ đột biến gen *EGFR* ở nhóm BN UTBM tuyến (46,2%) cao hơn nhóm BN UTBM vảy (15,4%) có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

## **2. Sự tương đồng giữa NGS mô u với ddPCR, *EGFR* Cobas V2**

- Tỷ lệ tương đồng giữa NGS mô u với ddPCR trong phát hiện ba đột biến chính của gen *EGFR* (L858R, del19, T790M) là 96,7% với chỉ số kappa là 0,86.

- Tỷ lệ tương đồng giữa NGS mô u với *EGFR* Cobas V2 trong phát hiện đột biến *EGFR* là 92,5% với chỉ số kappa là 0,84.

## **3. Sự tương quan giữa NGS sinh thiết lỏng với NGS mô u ddPCR, *EGFR* Cobas V2.**

- Tỷ lệ tương đồng giữa NGS sinh thiết lỏng với ddPCR trong phát hiện ba đột biến chính của gen *EGFR* (L858R, del19, T790M) là 97% với chỉ số kappa là 0,87.

- Tỷ lệ tương đồng giữa NGS sinh thiết lỏng với *EGFR* Cobas V2 trong phát hiện đột biến *EGFR* là 86,9% với chỉ số kappa là 0,63.

- Tỷ lệ tương đồng giữa NGS sinh thiết lỏng với NGS mô u trong phát hiện đột biến *EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF*, *KRAS*, *NRAS* là 86,9% với chỉ số kappa là 0,73. Sử dụng kết quả NGS mô u làm tiêu chuẩn tham chiếu, NGS sinh thiết lỏng có độ nhạy 75,9%, độ đặc hiệu 96,9%.

## KIẾN NGHỊ

1. Qua các kết quả của nghiên cứu, chúng tôi có một số kiến nghị:  
Cần xét nghiệm tìm đột biến gen *EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF*, *KRAS* để định hướng điều trị đích bước 1 tốt nhất cho bệnh nhân UTPKTBN giai đoạn muộn.
2. Nên sử dụng giải trình tự gen thế hệ mới nhằm khảo sát đồng thời các gen liên quan đến điều trị đích và giảm chi phí xét nghiệm cho bệnh nhân.
3. Nên sử dụng giải trình tự gen thế hệ mới từ sinh thiết lỏng khi không thể sinh thiết mô u và theo dõi điều trị cho bệnh nhân.

**DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ  
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

- 1. Đặng Huỳnh Anh Thư, Vũ Trần Thiên Quân, Lê Xuân Trường, Nguyễn Hoài Nghĩa (2020), “Áp dụng sinh thiết lỏng phát hiện đột biến gen *EGFR* trên bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ” (2020), Y học TP. Hồ Chí Minh, 24(2), tr.101-107..**
- 2. Đặng Huỳnh Anh Thư, Nguyễn Hoài Nghĩa, Lê Xuân Trường (2020), “Khảo sát tỉ lệ đột biến gen *ALK* và *ROS1* trên bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ” (2020), Y học TP. Hồ Chí Minh, 24(2), tr.108-113.**
- 3. Dang Anh-Thu Huynh, Tran VU, Tran TT et al (2020). “Actionable Mutation Profiles of Non-Small Cell Lung Cancer patients from Vietnamese population.” *Scientific reports*, 10(1):2707. doi: 10.1038/s41598-020-59744-3.**