

Mối liên quan giữa đột biến gen *BRAF* V600E với một số đặc điểm tiến triển trong ung thư biểu mô tuyến giáp thể nhú $\leq 1,5$ cm

Trần Thị Lan¹, Nguyễn Thị Trang², Phạm Văn Tuyền¹, Phạm Cẩm Phương¹, Nguyễn Thuận Lợi¹, Đào Thị Huyền Trang², Dương Danh Bộ³, Hoàng Xuân Cường⁴, Biện Văn Hoàn^{5*}

¹Bệnh viện Bạch Mai, 78 Giải Phóng, phường Phương Mai, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Đại học Y Hà Nội, 1 Tôn Thất Tùng, phường Trung Tự, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

³Bộ Y tế, 138A Giảng Võ, phường Kim Mã, quận Ba Đình, Hà Nội, Việt Nam

⁴Học viện Quân y, 160 Phùng Hưng, phường Phúc La, quận Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

⁵Bệnh viện Tai Mũi Họng Trung ương, 78 Giải Phóng, phường Phương Mai, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 2/4/2024; ngày chuyển phản biện 5/4/2024; ngày nhận phản biện 23/4/2024; ngày chấp nhận đăng 26/4/2024

Tóm tắt:

Mục tiêu: Xác định mối liên quan giữa đột biến *BRAF* V600E trong vi ung thư biểu mô tuyến giáp thể nhú (PTMC) và ung thư biểu mô tuyến giáp thể nhú (PTC) kích thước nhỏ 1-1,5 cm (PTC 1-1,5 cm) với các đặc điểm tiến triển của khối u. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả hồi cứu 104 bệnh nhân PTMC được chẩn đoán xác định bằng mô bệnh học và có kết quả xét nghiệm đột biến gen *BRAF* V600E được chia thành 2 nhóm PTMC (có kích thước $\leq 1,0$ cm) và PTC (1-1,5 cm), được đánh giá các yếu tố tiến triển (tình trạng xâm lấn ngoài tuyến giáp trên đại thể, di căn hạch, biến thể nguy cơ cao). **Kết quả:** Đột biến gen *BRAF* V600E được phát hiện trong 72,8% PTMC và 76,5% PTC 1-1,5 cm. Tỷ lệ khối u có đặc điểm tiến triển trong PTMC có đột biến và không có đột biến lần lượt là 66,7 và 52,63% ($p=0,28$). Tỷ lệ khối u có đặc điểm tiến triển trong PTC 1-1,5 cm có đột biến và không có đột biến lần lượt là 80,7 và 100% ($p=0,309$). Trong nhóm PTMC, tỷ lệ xâm lấn ngoài tuyến giáp cao hơn ở những khối u có đột biến *BRAF* V600E ($p<0,05$). Không nhận thấy có mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen *BRAF* V600E và di căn hạch, biến thể tế bào cao, >1 yếu tố tiến triển ở cả 2 nhóm bệnh nhân PTMC và PTC 1-1,5 cm. **Kết luận:** Trong nhóm PTMC, tỷ lệ xâm lấn ngoài tuyến giáp cao hơn ở những bệnh nhân có đột biến *BRAF* V600E. Không thấy mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen *BRAF* V600E và đặc điểm tiến triển khác ở bệnh nhân PTMC và PTC 1-1,5 cm.

Từ khóa: đặc điểm tiến triển, đột biến *BRAF* V600E, ung thư biểu mô tuyến giáp thể nhú, vi ung thư biểu mô tuyến giáp thể nhú.

Chỉ số phân loại: 2.6, 3.1

1. Đặt vấn đề

Ung thư biểu mô tuyến giáp là bệnh lý ác tính phổ biến nhất của các cơ quan nội tiết. Trong đó, PTC là tít mô bệnh học thường gặp nhất, chiếm đến 80-85% các trường hợp ung thư của tuyến giáp [1].

Nhờ có những cải tiến lớn trong siêu âm tuyến giáp và chọc hút tế bào bằng kim nhỏ tuyến giáp dưới hướng dẫn của siêu âm, PTC ngày càng được phát hiện sớm, từ đó dẫn đến sự gia tăng của PTMC. PTMC nguy cơ thấp được xem như là các khối u chậm tiến triển có thể được điều trị bằng phẫu thuật hoặc theo dõi tích cực [2]. Tuy nhiên, có một tỷ lệ nhỏ PTMC có đặc điểm tiến triển, xâm lấn ra ngoài tuyến giáp, di căn hạch và di căn xa. Vì vậy, xác định các bệnh nhân có nguy cơ tiến triển cao là rất quan trọng để đưa ra hướng theo dõi, điều trị hợp lý. Nhiều yếu tố dự báo đã được đưa ra, tuy nhiên phần lớn chỉ có thể xác định được sau phẫu thuật.

Gần đây, các dấu ấn phân tử để dự đoán PTC đã được nghiên cứu rộng rãi nhằm cải thiện việc phân tầng rủi ro của PTC. Xác định các dấu ấn phân tử có thể nhận biết các khối u

tiến triển, đặc biệt là ở giai đoạn trước phẫu thuật, rất hữu ích trong việc hướng dẫn điều trị lâm sàng PTC. *BRAF* V600E là đột biến được báo cáo phổ biến nhất ở bệnh nhân PTC và PTMC. Tỷ lệ đột biến *BRAF* V600E thay đổi đáng kể tùy theo biến thể mô học của PTC (30-90%), cao nhất trong biến thể tế bào cao của PTC (lên tới 95%) - là biến thể tiến triển phổ biến nhất của PTC [3]. Mặc dù vẫn còn nhiều tranh cãi về mối liên quan giữa đột biến *BRAF* V600E và đặc điểm tiến triển bệnh cũng như tiên lượng xấu của PTC, nhiều nghiên cứu đã báo cáo rằng, PTC với *BRAF* V600E đột biến có liên quan đến tiên lượng xấu hơn. Một số nghiên cứu trên thể giới trên đối tượng PTMC và PTC 1-1,5 cm ghi nhận mối liên quan giữa tình trạng đột biến và các đặc điểm tiến triển của khối u, từ đó đề xuất sử dụng xét nghiệm phân tử đánh giá đột biến *BRAF* V600E như một yếu tố độc lập giúp xác định PTMC, PTC nhỏ có nguy cơ cao cần can thiệp phẫu thuật hơn là theo dõi lâm sàng [4]. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm mục tiêu xác định mối liên quan giữa đột biến *BRAF* V600E trong PTMC, PTC 1-1,5 cm và các đặc điểm tiến triển của khối u trên đối tượng người Việt Nam.

*Tác giả liên hệ: Email: bienvanhoan@gmail.com

Relationship between *BRAF* V600E and some aggressive features in papillary thyroid carcinoma ≤ 1.5 cm

Thi Lan Tran¹, Thi Trang Nguyen², Van Tuyen Pham¹, Cam Phuong Pham¹, Thuan Loi Nguyen¹, Thi Huyen Trang Dao², Danh Bo Duong³, Xuan Cuong Hoang⁴, Van Hoan Bien^{5*}

¹Bach Mai Hospital, 78 Giai Phong Street, Phuong Mai Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

²Hanoi Medical University, 1 Ton That Tung Street, Trung Tu Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

³Ministry of Health, 138A Giang Vo Street, Kim Ma Ward, Ba Dinh District, Hanoi, Vietnam

⁴Vietnam Military Medical University, 160 Phung Hung Street, Phuc La Ward, Ha Dong District, Hanoi, Vietnam

⁵National Otorhinolaryngology Hospital, 78 Giai Phong Street, Phuong Mai Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

Received 2 April 2024; revised 23 April 2024; accepted 26 April 2024

Abstract:

Objectives: Determine the association between *BRAF* V600E mutation in papillary thyroid microcarcinoma (PTMC), small papillary thyroid carcinoma (PTC 1-1.5 cm), with tumour-aggressive characteristics. **Subjects and methods:** Retrospective descriptive study of 104 patients with PTMC diagnosed by histopathology and with *BRAF* V600E gene mutation testing results. Study subjects were divided into 2 groups: PTMC (tumour size ≤ 1.0 cm) and PTC 1-1.5 cm (tumour size 1-1.5 cm) and evaluated aggressive features (macroscopic extrathyroidal invasion, lymph node metastasis, high-risk variants). **Results:** *BRAF* V600E gene mutation was detected in 72.8% of PTMC and 76.5% of PTC 1-1.5 cm. The proportion of tumours with aggressive features in PTMC with and without mutations was 66.7 and 52.63%, respectively ($p=0.28$). The proportion of tumours with aggressive features in PTC 1-1.5 cm with and without mutations was 80.7 and 100%, respectively ($p=0.309$). In the PTMC group, the rate of extrathyroidal invasion was higher in tumours with *BRAF* V600E mutation ($p<0.05$). No association was found between *BRAF* V600E gene mutation and lymph node metastasis, high cell variation, and more than one aggressive feature in both PTMC and PTC 1-1.5 cm patient groups. **Conclusions:** In the PTMC group, the rate of extrathyroidal invasion was higher in patients with the *BRAF* V600E mutation. No association was found between *BRAF* V600E gene mutation and other aggressive features in patients with PTMC and PTC 1-1.5 cm.

Keywords: aggressive features, *BRAF* V600E mutation, papillary thyroid carcinoma, papillary thyroid microcarcinoma.

Classification numbers: 2.6, 3.1

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

104 bệnh nhân được chẩn đoán xác định PTC bằng mô bệnh học và có kết quả xét nghiệm đột biến gen *BRAF* V600E tại Trung tâm Y học Hạt nhân và Ung bướu, Bệnh viện Bạch Mai từ tháng 8/2021 đến tháng 3/2022.

Đối tượng nghiên cứu chia thành 2 nhóm dựa vào kích thước khối u sau phẫu thuật: Nhóm PTMC ($\leq 1,5$ cm) gồm 70 bệnh nhân và nhóm PTC nhỏ (1-1,5 cm) gồm 34 bệnh nhân.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang, hồi cứu dữ liệu.

Cờ mẫu và chọn mẫu: Chọn mẫu thuận tiện.

Công cụ nghiên cứu và kỹ thuật thu thập thông tin: Các bệnh nhân được thu thập các thông tin bao gồm tuổi, giới, kích thước khối u, tình trạng xâm lấn ngoài tuyến giáp trên đại thể, tình trạng di căn hạch, đặc điểm mô học có nguy cơ cao (tế bào cao, tế bào cột, hobnail, rắn/trabecular, xơ cứng lan toả) và kết quả xét nghiệm đột biến gen *BRAF* V600E bằng phương pháp PCR kết hợp lai đầu dò phân tử đặc hiệu (bộ kit *BRAF* 600/601 StripAssay® của Hãng ViennaLab) (xét nghiệm thực hiện tại Đơn vị Gen - Tế bào gốc, Trung tâm Y học Hạt nhân và Ung bướu, Bệnh viện Bạch Mai).

Quy trình xét nghiệm đột biến gen *BRAF* V600E gồm 4 bước: (1) Tách DNA từ mô cố định formalin - vùi paraffin; (2) Khuếch đại đoạn gen mục tiêu bằng phản ứng PCR theo kit *BRAF* 600/601 StripAssay®; (3) Lai sản phẩm khuếch đại với đầu dò đặc hiệu được phân bố trên Test strip theo kit *BRAF* 600/601 StripAssay®; (4) Phân tích kết quả bằng cách so sánh các vạch trên teststrip với thang chuẩn.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm STATA 15.0.

2.4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tiến hành hồi cứu thông tin bệnh án với sự tuân thủ về mặt y đức. Các thông tin thu thập chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu, không sử dụng cho mục đích khác và hoàn toàn được giữ bí mật, không ảnh hưởng đến sức khỏe và lợi ích của đối tượng nghiên cứu.

3. Kết quả

Trong 70 trường hợp PTMC có 51 trường hợp (72,8%) có đột biến *BRAF* V600E và trong 34 trường hợp PTC kích thước nhỏ, 26 trường hợp có đột biến gen *BRAF* V600E chiếm 76,5%.

Kết quả bảng 1 cho thấy, trong PTMC và PTC 1-1,5 cm, tuổi trung bình của các bệnh nhân mang đột biến gen *BRAF* V600E cao hơn so với các trường hợp không mang gen đột biến. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ở nhóm PTC 1-1,5 cm ($p=0,043$). Tỷ lệ mắc ở nữ cao hơn nam trong cả PTMC và PTC 1-1,5 cm, tuy nhiên không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giới giữa nhóm mang gen đột biến và nhóm không mang gen đột biến.

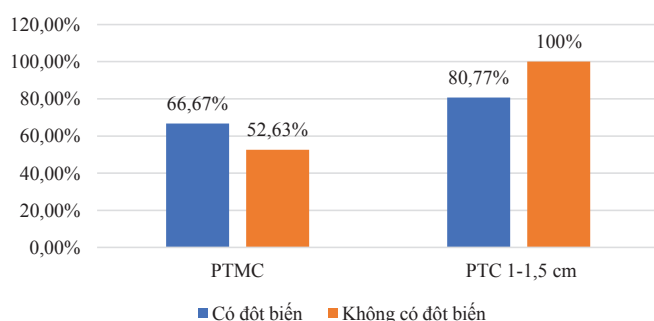
Bảng 1. Đặc điểm tuổi, giới của đối tượng nghiên cứu.

	<i>BRAF</i> V600E	Tuổi trung bình	Nữ/nam
PTMC (n=70)	Có đột biến	50,67	4,10
	Không có đột biến	47,84	3,75
PTC 1-1,5 cm (n=34)	Có đột biến	44,88*	1,67
	Không có đột biến	31,75	2,71

*: giá trị p có ý nghĩa thống kê $<0,05$.

Kết quả biểu đồ 1 cho thấy, không ghi nhận mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen *BRAF* V600E và yếu tố tiến triển trong cả 2 nhóm bệnh nhân PTMC và PTC 1-1,5 cm ($p=0,309$).

% bệnh nhân có ít nhất 1 đặc điểm tiến triển



Biểu đồ 1. Tình trạng đột biến gen *BRAF* V600E và yếu tố tiến triển ở 2 nhóm bệnh nhân PTMC và PTC 1-1,5 cm.

Kết quả bảng 2 cho thấy, trong PTMC, tỷ lệ xâm lấn ngoài tuyến giáp cao hơn ở những bệnh nhân có đột biến *BRAF* V600E ($p=0,01$); không nhận thấy có mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen *BRAF* V600E và tình trạng di căn hạch ($p=0,313$), biến thể tế bào cao ($p=1,00$), có >1 yếu

Bảng 2. Mối liên quan giữa tình trạng đột biến *BRAF* V600E và các đặc điểm tiến triển trong PTMC và PTC 1-1,5 cm.

Đặc điểm	PTMC		PTC 1-1,5 cm	
	Có đột biến (n=51)	Không có đột biến (n=19)	Có đột biến (n=26)	Không có đột biến (n=8)
Xâm lấn ngoài tuyến giáp	23 (45,10%)*	2 (10,53%)	9 (34,62%)	1 (12,50%)
Di căn hạch	20 (39,22%)	10 (52,63%)	18 (69,23%)	8 (100,00%)
Biến thể tế bào cao	1 (1,96%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	2 (25,00%)
>1 đặc điểm	10 (19,61%)	2 (10,53%)	6 (23,08%)	2 (25,00%)

*: giá trị p có ý nghĩa thống kê $<0,05$.

tổ tiến triển ($p=0,491$). Trong nhóm PTC 1-1,5 cm, không có sự khác biệt giữa tình trạng đột biến gen *BRAF* V600E và đặc điểm xâm lấn ngoài tuyến giáp ($p=0,385$), di căn hạch ($p=0,152$), biến thể tế bào cao ($p=0,05$), có >1 yếu tố tiến triển ($p=1,00$).

4. Bàn luận

Đột biến gen *BRAF* V600E có vai trò như một gen sinh ung thư trong ung thư biểu mô tuyến giáp. Đột biến *BRAF* V600E làm tăng hoạt tính enzyme kinase lên gấp 10 lần và hoạt hóa mạnh con đường tín hiệu MAPK, làm cho tế bào có tốc độ tăng trưởng nhanh hơn nhiều lần so với dòng tế bào tuyến giáp không mang đột biến. Có thể nói *BRAF* V600E là một mắt xích phân tử quan trọng trong cơ chế phân tử của PTC. Nhiều nghiên cứu được tiến hành ở trong nước và trên thế giới cho thấy, tỷ lệ đột biến gen *BRAF* V600E không đồng nhất giữa các quốc gia và vùng lãnh thổ [5, 6]. Các nước phương Tây có nhiều báo cáo chỉ ra tỷ lệ lưu hành đột biến *BRAF* V600E là 35-60% [5]; nghiên cứu của các nhà khoa học trong nước cho thấy tỷ lệ đột biến trong khoảng 46,2-77,6% [6].

Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận tỷ lệ đột biến gen *BRAF* V600E cao ở nhóm bệnh nhân PTMC và PTC 1-1,5 cm lần lượt là 72,8 và 76,5%. Không thấy có sự khác biệt về tỷ lệ đột biến giữa nhóm PTMC và nhóm u kích thước nhỏ. Tuổi trung bình của các trường hợp có đột biến gen cao hơn so với nhóm không có đột biến gen, tuy nhiên khác biệt này chỉ có ý nghĩa thống kê ở nhóm bệnh nhân PTC 1-1,5 cm. Không có sự khác biệt về tỷ lệ nam/nữ giữa 2 nhóm. Kết quả này tương đồng với kết quả của một số nghiên cứu trên thế giới và tại Việt Nam cho thấy không có sự khác biệt về tuổi, giới, kích thước u ở nhóm bệnh nhân có đột biến và nhóm bệnh nhân không có đột biến [4, 6].

Vai trò yếu tố tiên lượng tiến triển của đột biến *BRAF* V600E đã được nghiên cứu rộng rãi trong các nghiên cứu trước đây nhưng đến thời điểm hiện tại, luận điểm này vẫn còn nhiều tranh cãi. Nhiều nghiên cứu đã mô tả mối liên quan giữa đột biến *BRAF* V600E với các đặc điểm tiến triển của PTC, bao gồm xâm lấn ngoài tuyến giáp trên đại thể, di căn hạch, giai đoạn muộn và tái phát bệnh [1]. Trong các nghiên cứu trên đối tượng PTMC và PTC 1-1,5 cm cũng ghi nhận thấy mối liên quan giữa tình trạng đột biến và các đặc điểm tiến triển của khối u. Từ đó, các nhà nghiên cứu đề xuất sử dụng xét nghiệm phân tử đánh giá đột biến *BRAF* V600E như một yếu tố độc lập giúp hướng dẫn việc ra quyết định điều trị và xác định PTMC, PTC 1-1,5 cm nhỏ có nguy cơ cao cần can thiệp phẫu thuật hơn là theo dõi lâm sàng [4]. Tuy nhiên, một số nghiên cứu cho thấy chưa có mối liên quan giữa đột biến gen *BRAF* V600E và yếu tố tiên lượng xấu trong PTC [7]. Hiện nay, xét nghiệm phân tử vẫn chưa được đưa vào trong phân tầng nguy cơ và quyết định điều trị ở các bệnh nhân PTC.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi phân tích dữ liệu từ 2 nhóm nốt tuyến giáp nhỏ: PTMC ($\leq 1,0$ cm) và PTC 1-1,5 cm dựa theo cách phân nhóm được lựa chọn trong nghiên cứu của J.A. Silver và cs (2021) [4]. Kết quả nghiên cứu chỉ ghi nhận thấy ở nhóm PTMC, tỷ lệ xâm lấn ngoài tuyến giáp cao hơn ở những bệnh nhân có đột biến *BRAF* V600E so với nhóm không có đột biến. Chưa thấy có mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa tình trạng đột biến gen *BRAF* V600E và các yếu tố: di căn hạch, biến thể tế bào cao ở cả 2 nhóm PTMC và PTC 1-1,5 cm. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của I. Sugitani và cs (2021) [8] khi kiểm tra các mẫu bệnh phẩm PTMC được cắt bỏ sau theo dõi tích cực cho thấy tỷ lệ đột biến gen *BRAF* V600E không khác biệt đáng kể giữa các nhóm bệnh ổn định, nhóm tăng kích thước khối u và nhóm biểu hiện di căn hạch. Nghiên cứu của C. Yan và cs (2019) [7] trên 2048 bệnh nhân PTC cũng không tìm thấy mối liên quan giữa đột biến *BRAF* V600E và sự xâm lấn ngoài tuyến giáp, di căn xa và tình trạng kháng trị hoặc tái phát. Nghiên cứu của chúng tôi vẫn còn một số hạn chế: tính chất đơn trung tâm, phương pháp chọn mẫu thuận tiện, chưa theo dõi được hiệu quả điều trị. Do đó, cần thêm nhiều nghiên cứu trên nhóm đối tượng PTMC và PTC 1-1,5 cm nhằm đánh giá khả năng sử dụng đột biến gen *BRAF* V600E như một yếu tố tiên lượng trước phẫu thuật cho bệnh nhân u tuyến giáp nhỏ.

5. Kết luận

Tỷ lệ đột biến gen *BRAF* V600E ở nhóm bệnh nhân PTMC và PTC 1-1,5 cm lần lượt là 72,8 và 76,5%. Tuổi trung bình của nhóm có đột biến gen cao hơn so với nhóm không có đột biến gen. Ở bệnh nhân PTMC, tỷ lệ xâm lấn ngoài tuyến giáp cao hơn ở những bệnh nhân có đột biến

BRAF V600E so với nhóm không có đột biến. Không thấy mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen *BRAF* V600E và tình trạng di căn hạch, biến thể tế bào cao ở cả 2 nhóm PTMC và PTC 1-1,5 cm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] X. Wei, X. Wang, J. Xiong, et al. (2022), "Risk and prognostic factors for *BRAF*^{V600E} mutations in papillary thyroid carcinoma", *BioMed Res. Int.*, **2022**, DOI: 10.1155/2022/9959649.
- [2] B.R. Haugen, E.K. Alexander, K.C. Bible, et al. (2016), "2015 American thyroid association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer", *Thyroid*, **26**(1), pp.1-133, DOI: 10.1089/thy.2015.0020.
- [3] M. Xing (2005), "BRAF mutation in thyroid cancer", *Endocr. Relat. Cancer*, **12**(2), pp.245-262, DOI: 10.1677/erc.1.0978.
- [4] J.A. Silver, M. Bogatchenko, M. Pusztaszeri, et al. (2021), "BRAF V600E mutation is associated with aggressive features in papillary thyroid carcinomas ≤ 1.5 cm", *Journal of Otolaryngology - Head & Neck Surgery*, **50**(1), DOI: 10.1186/s40463-021-00543-9.
- [5] The Cancer Genome Atlas Research Network (2014), "Integrated genomic characterisation of papillary thyroid carcinoma", *Cell*, **159**(3), pp.676-690, DOI: 10.1016/j.cell.2014.09.050.
- [6] M.T. Khoa, P.C. Phuong, N.T. Trung, et al. (2018), "The relationship between the *BRAF*V600E mutation in differentiated thyroid cancer and clinicopathologic factors in Vietnam", *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, **9**(1), pp.6890-6894, DOI: 10.26717/BJSTR.2018.09.001748.
- [7] C. Yan, M. Huang, X. Li, et al. (2019), "Relationship between *BRAF* V600E and clinical features in papillary thyroid carcinoma", *Endocr. Connect.*, **8**(7), pp.988-996, DOI: 10.1530/EC-19-0246.
- [8] I. Sugitani, Y. Ito, D. Takeuchi, et al. (2021), "Indications and strategy for active surveillance of adult low-risk papillary thyroid microcarcinoma: Consensus statements from the Japan Association of Endocrine Surgery task force on management for papillary thyroid microcarcinoma", *Thyroid*, **31**(2), pp.183-192, DOI: 10.1089/thy.2020.0330.