

RELATIONSHIP BETWEEN SIMULTANEOUS EXPRESSION OF ALDH AND KRAS WITH HISTOPATHOLOGICAL FEATURES IN GASTRIC CANCER

Le Viet An^{1*}, Duong Hong Thai², Nguyen Phu Hung³

¹Tien Du District Medical Center, Bac Ninh, ²TNU – University of Medicine and Pharmacy,

³TNU - Center for Interdisciplinary Science and Education

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 26/02/2023 Revised: 10/7/2023 Published: 10/7/2023	The study aims to analyze the relationship between the simultaneous expression of ALDH and KRAS with histopathological characteristics in gastric cancer. A cross-sectional study was used on 103 patients with confirmed diagnosis of gastric cancer and surgical resection at K Hospital. The relationship between the simultaneous expression of ALDH, KRAS and other histopathological features was analyzed. Research results showed that the rate of gastric cancer in men and women was most common in the age group 60-69, accounting for 34.4% and 35.7%, respectively. Simultaneous expression of ALDH and KRAS has a rate of 71.4% with $p < 0.05$. Patients with poorly differentiated gastric cancer had the highest rate of simultaneous expression of both markers with 62.0%. There is a difference in the simultaneous expression of both markers according to the degree of differentiation, $p < 0.05$. Concurrent expression of ALDH KRAS is associated with low differentiation according to histopathology.
KEYWORDS Immunohistochemical markers ALDH KRAS Immunohistochemistry Gastric cancer Histopathological features	

MỐI LIÊN QUAN GIỮA SỰ BIỂU LỘ ĐỒNG THỜI ALDH VÀ KRAS VỚI ĐẶC ĐIỂM MÔ BỆNH HỌC TRONG UNG THƯ DẠ DÀY

Lê Việt An^{1*}, Dương Hồng Thái², Nguyễn Phú Hùng³

¹Trung tâm y tế huyện Tiên Du, Bắc Ninh, ²Trường Đại học Y Dược - ĐH Thái Nguyên,

³Trung tâm Khoa học và Giáo dục liên ngành - ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 26/02/2023 Ngày hoàn thiện: 10/7/2023 Ngày đăng: 10/7/2023	Nghiên cứu được tiến hành nhằm phân tích mối liên quan giữa sự biểu lộ đồng thời ALDH và KRAS với đặc điểm mô bệnh học trong ung thư dạ dày. Phương pháp nghiên cứu cắt ngang được thực hiện trên 103 bệnh nhân được chẩn đoán xác định ung thư dạ dày và được phẫu thuật cắt u tại Bệnh viện K. Phân tích mối liên quan giữa sự biểu lộ đồng thời ALDH, KRAS và các đặc điểm mô bệnh học. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ UTDD ở nam và nữ gặp nhiều nhất ở nhóm tuổi 60-69, chiếm tỷ lệ lần lượt là 34,4% và 35,7%. Sự biểu lộ đồng thời của ALDH và KRAS có tỷ lệ là 71,4%, $p < 0,05$. Bệnh nhân UTDD biệt hóa thấp có tỷ lệ biểu hiện đồng thời cả 2 dấu ấn cao nhất với 62,0%. Có sự khác biệt về sự biểu hiện đồng thời cả 2 dấu ấn theo độ biệt hóa, $p < 0,05$. Sự biểu lộ đồng thời ALDH KRAS có mối liên quan đến độ biệt hóa thấp theo mô bệnh học.
TỪ KHÓA Dấu ấn hóa mô miễn dịch ALDH KRAS Hóa mô miễn dịch Ung thư dạ dày Đặc điểm mô bệnh học	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.7362>

* Corresponding author. Email: bs.an.bn@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Trên toàn cầu, ung thư dạ dày (UTDD) là nguyên nhân thứ tư gây tử vong liên quan đến ung thư trên toàn thế giới và là nguyên nhân gây ra khoảng 769.000 ca tử vong ước tính vào năm 2020. Một số yếu tố nguy cơ đối với UTDD, chẳng hạn như nhiễm *Helicobacter pylori*, cũng đã được xác nhận bởi hầu hết các nghiên cứu [1].

ALDH là một enzyme có tác dụng xúc tác phản ứng chuyển acetaldehyde thành acetate, làm loại bỏ chất độc aldehyde ảnh hưởng đến cơ thể. ALDH có tác dụng oxy hóa hơn 90% acetaldehyde được tạo ra từ phản ứng chuyển hóa đầu tiên của ethanol. ALDH được biểu hiện quá mức trong quần thể tế bào ung thư có đặc điểm giống tế bào gốc, nơi chúng tham gia vào một số quá trình bao gồm tăng sinh tế bào, biệt hóa, giải độc và tham gia vào chuyển hóa lipid, axit amin, tổng hợp axit retinoic [2].

Có nhiều bằng chứng liên quan đến việc ALDH tự bảo vệ chống lại các mối đe dọa nội sinh và ngoại sinh trong các tế bào ung thư. Sự bất hoạt các chất chống oxy hóa và các thuốc có cơ chế đặc hiệu là một trong số các cơ chế kiểm soát khả năng này. Hơn nữa, ALDH có khả năng kháng các thuốc và các chất tương tự như doxorubicin, cisplatin, arabinofuranosyl citidine (Ara-C), temozolomide và taxanes mặc dù cơ chế vẫn chưa thực sự rõ ràng [2].

KRAS mã hóa một guanosine triphosphatase nhỏ và đột biến điểm ở codon 12 và 13 của KRAS đã được phát hiện trong nhiều bệnh ung thư ở người. Các protein KRAS là thành phần của con đường MAPK/ERK. Theo các nghiên cứu đã có về UTDD, tỷ lệ trung bình của đột biến KRAS là 6,5%, dao động từ 0-29%. Do tỷ lệ mắc bệnh thấp và quy mô nghiên cứu thường nhỏ, nhiều nghiên cứu đã công bố không đủ sức thống kê để phát hiện mối quan hệ tiềm ẩn giữa tình trạng đột biến KRAS và các biến số lâm sàng bao gồm cả sự sống sót của bệnh nhân [3].

Tỷ lệ đột biến KRAS ở UTDD thấp hơn nhiều so với ung thư đại tràng và đường như không có sự khác biệt theo sắc tộc của bệnh nhân. Đột biến KRAS và khuếch đại KRAS dường như loại trừ lẫn nhau cho thấy cần phải sàng lọc bệnh nhân UTDD cho cả yếu tố di truyền. Tóm lại, tài liệu hiện tại về ALDH và KRAS trong UTDD vẫn còn hạn chế và rất không đồng nhất khiến cho việc so sánh giữa các nghiên cứu khác nhau trở nên khó khăn [4]-[6].

Sự biểu lộ đồng thời của ALDH và KRAS trên bệnh nhân UTDD tại Việt Nam cho đến nay vẫn chưa có nghiên cứu công phu nào được công bố. Ngoài ra xét nghiệm hóa mô miễn dịch hiện nay vẫn rất ít cơ sở y tế có thể thực hiện do kỹ thuật phức tạp và kinh phí cao. Do đó cần có thông tin thêm về mối liên quan giữa sự biểu lộ đồng thời của ALDH và KRAS với đặc điểm mô bệnh học để làm cơ sở phát triển các nghiên cứu về liệu pháp điều trị cho bệnh nhân UTDD. Từ thực tiễn đó, nhóm tác giả tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu phân tích mối liên quan giữa sự biểu lộ đồng thời ALDH và KRAS với đặc điểm mô bệnh học trong ung thư dạ dày.

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là 103 bệnh nhân được chẩn đoán xác định ung thư dạ dày.

- Tiêu chuẩn chọn đối tượng: Bệnh nhân được chẩn đoán xác định ung thư dạ dày dựa trên kết quả mô bệnh học bằng nhuộm HE Hematoxylin - Eosin (HE) theo tiêu chuẩn ESMO năm 2016, bệnh phẩm là khối u dạ dày sau khi được phẫu thuật [5].

- Tiêu chuẩn loại trừ: UTDD di căn từ cơ quan khác đến, đã được điều trị bằng các liệu pháp hóa trị, bệnh phẩm sau mổ không đạt yêu cầu khi xử lý và khi nhuộm HMMD.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

* Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 5 năm 2017 đến tháng 5 năm 2020.

* Địa điểm thu thập bệnh nhân: Bệnh viện K, cơ sở 1, Quán Sứ, Hà Nội. Địa điểm xét nghiệm hóa mô miễn dịch: Phòng xét nghiệm Inserm U1312, Đại học Bordeaux, Pháp.

* Phương pháp nghiên cứu cắt ngang.

* Nội soi dạ dày sinh thiết: Bệnh nhân nằm ở tư thế nghiêng trái. Đặt ngáng miệng vào giữa hai cung răng bệnh nhân. Đưa ống nội soi đã được bôi gel qua miệng vào thực quản, đến dạ dày, bơm hơi và quan sát kỹ các vùng niêm mạc dạ dày. Sử dụng kỹ thuật soi ngược để quan sát thực quản, tâm vị, thân vị, hang vị, môn vị, hành tá tràng, tá tràng. Khi thấy tổn thương nghi ngờ ung thư dạ dày thì đánh giá chi tiết về vị trí giải phẫu và hình ảnh tổn thương, rồi sinh thiết tổn thương để làm xét nghiệm giải phẫu bệnh. Bệnh phẩm lấy ra được cố định vào ống có chứa Formol 20% đậm trung tính.

* Sau khi được chẩn đoán là UTDD, bệnh nhân được phẫu thuật cắt bỏ khối u tại Khoa Ngoại, Bệnh viện K. Bệnh phẩm từ khối ung thư dạ dày sau phẫu thuật được chuyển đến khoa Giải phẫu bệnh tại Bệnh viện K để làm phẫu tích, cố định trong dung dịch formalin 10%, chuyển, đúc mẫu mô trong paraffin để tạo thành các khối nén phục vụ cho xét nghiệm mô bệnh học tại Bệnh viện K.

* Phương pháp nhuộm và đọc hóa mô miễn dịch: Một mẫu mô đúc trong paraffin của bệnh nhân được chọn để gửi đến phòng xét nghiệm Inserm U1312, Đại học Bordeaux, Pháp. Tiến hành làm các xét nghiệm mô bệnh học, hoá mô miễn dịch đối với ALDH và KRAS.

- Các kháng thể, kháng thể đơn dòng dùng cho phân tích các dấu ấn miễn dịch gồm:

+ Kháng thể đơn dòng kháng ALDH người (clone 44/ALDH; BD).

+ Kháng thể đơn dòng KRAS (Abacam).

- Máy tạo khối paraffin microarray tự động Minicore Excilone được kết nối với máy tính cài sẵn phần mềm chuyên dụng từ nhà sản xuất.

- Các bước nhuộm HMMD: Loại paraffin, bọc lọ kháng nguyên (Rửa bằng đệm TBST1X, bổ sung lượng đủ (2-4 giọt, tương ứng với khoảng 50 µL) dung dịch Hydrogen Peroxide Block phủ kín bề mặt của lát cắt mô, bổ sung 50 µl Protein block, bổ sung 50 µl dung dịch Biotinylated Goat Anti-Mouse, bổ sung 50 µl Streptavidin Peroxidase, ủ lam, gắn lamên bằng dung dịch SignalStain Mounting Medium.

* Chỉ tiêu nghiên cứu:

- Chỉ tiêu chung:

+ Phân bố UTDD ở hai giới: Nam và nữ.

+ Phân bố UTDD ở các nhóm tuổi: <50, 50-59, 60-69, ≥ 70.

- Chỉ tiêu mô bệnh học:

+ Phân loại mô bệnh học theo Lauren: Thể ruột, thể lan tỏa, thể hỗn hợp.

+ Phân loại mô bệnh học theo WHO 2010: Thể tuyến nhú, thể tuyến ống, thể tuyến nhầy, thể tế bào nhẵn, thể tuyến vảy, thể tế bào vảy, thể tế bào nhỏ, thể không biệt hóa, ung thư biểu mô khác.

+ Phân loại mức độ biệt hóa theo WHO 2010: Biệt hóa thấp, biệt hóa vừa, biệt hóa cao.

- Chỉ tiêu hóa mô miễn dịch:

+ Đánh giá mức độ biểu hiện của dấu ấn ALDH trong mẫu ung thư và mẫu đối chứng theo các mức độ: 0, 1+, 2+, 3+. Mức độ biểu hiện của ALDH là 0 đánh giá là âm tính, mức độ biểu hiện của KRAS là 1+, 2+ và 3+ đánh giá là dương tính.

+ Đánh giá mức độ biểu hiện của dấu ấn KRAS trong mẫu ung thư và mẫu đối chứng theo các mức độ: 0, 1+, 2+, 3+. Mức độ biểu hiện của KRAS là 0 và 1+ đánh giá là âm tính, mức độ biểu hiện của KRAS là 2+ và 3+ đánh giá là dương tính.

Phân tích mối liên quan giữa ALDH, KRAS và các thông số.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm thống kê y học SPSS 22.0. Phân tích các số liệu bằng thuật toán thống kê mô tả tần số các biến Frequencies, Crosstabs.

3. Kết quả

Nghiên cứu được thực hiện trên 103 bệnh nhân được chẩn đoán xác định là ung thư dạ dày, các kết quả tổng hợp về phân bố nhóm tuổi theo giới tính được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Phân bố nhóm tuổi theo giới

Giới	Nam		Nữ	
	Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %
Tuổi				
< 50	12	19,7	9	21,4
50-59	20	32,8	13	31,0
60-69	21	34,4	15	35,7
≥ 70	8	13,1	5	11,9
Tổng số	61	100	42	100

Nhận xét: Tỷ lệ UTDD ở nam và nữ gặp nhiều nhất ở nhóm tuổi 60-69, chiếm tỷ lệ lần lượt là 34,4% và 35,7%.

Mối liên quan giữa biểu lộ ALDH và KRAS trong UTDD của các đối tượng nghiên cứu được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Liên quan giữa biểu lộ ALDH và KRAS trong UTDD

Biểu lộ KRAS	Biểu lộ ALDH		Đương tính		P
	Âm tính	Dương tính	n	%	
Âm tính	26	78,8	20	28,6	< 0,05
Dương tính	7	21,2	50	71,4	

Nhận xét: Có 71,4% số trường hợp đồng biểu lộ ALDH và KRAS. Có 28,6% bệnh nhân chỉ dương tính với ALDH mà âm tính với KRAS. Có 21,2% bệnh nhân chỉ dương tính với KRAS mà âm tính với ALDH ($p < 0,05$).

Bảng 3 trình bày kết quả sự biểu hiện đồng thời của 2 dấu ấn theo mô bệnh học (MBH) Lauren.

Bảng 3. Sự biểu hiện đồng thời của 2 dấu ấn theo MBH Lauren

Dấu ấn	Số dấu ấn dương tính			P
	0 dấu ấn	1 dấu ấn	2 dấu ấn	
Lauren				
Thể ruột	14 (53,8%)	20 (74,1%)	35 (70,0%)	> 0,05
Thể lan tỏa	12 (46,2%)	7 (25,9%)	15 (30,0%)	

Nhận xét: Bệnh nhân có u thể ruột có tỷ lệ biểu hiện đồng thời cả 2 dấu ấn với 70,0% bệnh nhân có u thể lan tỏa có tỷ lệ biểu lộ thấp hơn với 30,0%.

Kết quả nghiên cứu biểu hiện đồng thời của 2 dấu ấn theo đặc điểm mô bệnh học WHO được tổng hợp tại bảng 4.

Bảng 4. Sự biểu hiện đồng thời của 2 dấu ấn theo đặc điểm MBH WHO

Dấu ấn	Số dấu ấn dương tính			P
	0 dấu ấn	1 dấu ấn	2 dấu ấn	
WHO				
Thể tuyến nhú	0 (0%)	0 (0%)	1 (2,0%)	> 0,05
Thể tuyến ống	10 (38,5%)	16 (59,3%)	33 (66,0%)	
Thể tuyến nhầy	4 (15,4%)	4 (14,8%)	1 (2,0%)	
Thể tế bào nhân	10 (38,5%)	6 (22,2%)	15 (30%)	
Thể tế bào vảy	2 (7,7%)	0 (0%)	0 (0%)	
Thể khác	0 (0%)	1 (3,7%)	0 (0%)	

Nhận xét: Bệnh nhân có u thể tuyến ống có tỷ lệ biểu hiện đồng thời cả 2 dấu ấn cao nhất với 66,0%. Không có sự khác biệt về sự biểu hiện đồng thời cả 2 dấu ấn theo đặc điểm mô bệnh học WHO, $p > 0,05$.

Sự biểu hiện đồng thời của 2 dấu ấn theo độ biệt hóa và theo giai đoạn bệnh được trình bày tại bảng 5 và bảng 6.

Bảng 5. Sự biểu hiện đồng thời của 2 dấu ấn theo độ biệt hóa

Dấu ấn	Số dấu ấn dương tính			P
	0 dấu ấn	1 dấu ấn	2 dấu ấn	
Biệt hóa				
Biệt hóa thấp	8 (30,8%)	15 (55,6%)	31 (62,0%)	< 0,05
Biệt hóa vừa	12 (46,2%)	8 (29,6%)	18 (36,0%)	
Biệt hóa cao	6 (23,1%)	4 (14,8%)	1 (2,0%)	

Nhận xét: Bệnh nhân UTDD biệt hóa thấp có tỷ lệ biểu hiện đồng thời cả 2 dấu ấn cao nhất với 62,0%. Có sự khác biệt về sự biểu hiện đồng thời cả 2 dấu ấn theo độ biệt hóa, $p < 0,05$.

Bảng 6. Sự biểu hiện đồng thời của 2 dấu ấn theo giai đoạn bệnh

Giai đoạn	Dấu ấn	Số dấu ấn dương tính			P
		0 dấu ấn	1 dấu ấn	2 dấu ấn	
Giai đoạn I		1 (3,8%)	3 (11,1%)	0 (0%)	> 0,05
Giai đoạn II		8 (30,8%)	7 (25,9%)	17 (34,0%)	
Giai đoạn III		17 (65,4%)	17 (63,0%)	31 (62,0%)	
Giai đoạn IV		0 (0%)	0 (0%)	2 (4,0%)	

Nhận xét: Bệnh nhân có u giai đoạn III có tỷ lệ biểu hiện đồng thời cả 2 dấu ấn cao nhất là 62,0%. Không có sự khác biệt về sự biểu hiện đồng thời cả 3 dấu ấn theo giai đoạn bệnh, $p > 0,05$.

4. Bàn luận

Việc nghiên cứu các cơ chế phân tử làm tăng khả năng sinh khối u của tế bào biểu hiện ALDH đã cho thấy các yếu tố phân tử đa dạng, đồng biểu hiện và các con đường tín hiệu khác nhau giải thích cho sự gia tăng di căn quan sát được ở các tế bào này. Một trong những con đường tín hiệu đầu tiên cần kể tới đó là con đường tín hiệu Hedgehog trong các tế bào ung thư tuyến tụy biểu hiện cao ALDH. Tiếp đến là con đường acid retinoic, thiếu oxy và các phản ứng tổn thương DNA, cytokine và thụ thể tyrosine kinase (RTK) kích hoạt và tăng cường sự di căn của tế bào biểu hiện cao ALDH. Ngoài ra, ALDH1A1 đã được tìm thấy có tương quan với biểu hiện Notch trong các tế bào gốc ung thư phổi. Con đường Wnt- β -catenin đã được chứng minh là được kích hoạt trong các tế bào ung thư có biểu hiện ALDH1A1 và ALDH3A1 cao trong các tế bào ung thư tuyến tiền liệt, buồng trứng và ung thư gan [6].

Ở bệnh nhân UTDD, khi phân tích các dòng tế bào mới hình thành trong dịch cổ trướng của bệnh nhân, Mytar, B. thấy rằng sự biểu hiện và hoạt động của các đồng dạng aldehyde dehydrogenase (ALDH) liên quan đến khả năng di căn của tế bào ung thư [7]. Phần lớn các báo cáo đều cho thấy mối tương quan thuận giữa biểu hiện ALDH và di căn. Tuy nhiên, những kết quả này nên được diễn giải một cách thận trọng do những hạn chế về kỹ thuật và đạo đức khi nghiên cứu về mô di căn, một hạn chế nữa là các nghiên cứu này có số lượng mẫu nhỏ.

Nghiên cứu của Wang, L. phát hiện ra rằng ALDH1 có liên quan đến di căn hạch, biệt hóa khối u, giai đoạn pTNM khối u và thời gian sống toàn bộ sau 5 năm [8]. Mặc dù còn có sự khác biệt về mối liên quan của ALDH trong kết quả của các nghiên cứu, nhưng hầu hết các phát hiện đều cho thấy ALDH1 có thể là một dấu hiệu chẩn đoán và tiên lượng hữu ích cho UTDD [8].

Tỷ lệ đột biến KRAS ở UTDD thấp hơn nhiều so với ung thư đại tràng và dường như không có sự khác biệt theo sắc tộc của bệnh nhân. Đột biến KRAS và khuếch đại KRAS dường như loại trừ lẫn nhau cho thấy cần phải sàng lọc bệnh nhân UTDD cho cả quang sai di truyền. Cho đến nay, tất cả các nghiên cứu lâm sàng ở những bệnh nhân không được chọn lọc với UTDD di căn đã không cho thấy lợi ích đáng kể đối với liệu pháp nhắm mục tiêu EGFR. Tuy nhiên, đã có một báo cáo gần đây chỉ ra rằng phân nhóm của UTDD tế bào nhẵn, được biết là có khả năng kháng hóa trị liệu gây độc tế bào, có tỷ lệ đột biến KRAS cao hơn (15%). Do đó, liệu pháp nhắm mục tiêu EGFR trong phân nhóm mô học cụ thể này của UTDD có thể là một lựa chọn điều trị đầy hứa hẹn trong tương lai [3]. Nghiên cứu của chúng tôi thấy tỷ lệ đột biến gen KRAS gặp nhiều nhất ở thể tuyến ống, thể tế bào nhẵn có tỷ lệ đột biến đứng thứ 2, tuy vậy sự khác biệt này chưa có ý nghĩa. Một nghiên cứu của Ayatollahi, H. tại Iran lại cho thấy tần suất đột biến KRAS codon 12 và 13 có mối tương quan đáng kể với vị trí khối u [9].

Trong nghiên cứu của nhóm tác giả không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ biểu lộ ALDH, KRAS ở các bệnh nhân thuộc các type mô bệnh học khác nhau. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về sự biểu lộ ALDH, KRAS theo mức độ biệt hóa: mức độ biệt hóa càng kém, tỷ lệ biểu lộ ALDH càng cao ($p < 0.05$). Chúng tôi chưa tìm thấy nghiên cứu nào về tỷ lệ đồng biểu

lộ ALDH và KRAS ở các bệnh nhân UTDD, do đó chưa có dữ liệu để so sánh sự đồng biểu lộ của 2 dấu ấn hóa mô miễn dịch này và mối liên quan đến đặc điểm mô bệnh học.

5. Kết luận

Kết quả nghiên cứu thực hiện trên 103 bệnh nhân được chẩn đoán xác định là ung thư dạ dày cho thấy:

- Sự biểu lộ đồng thời của ALDH và KRAS có tỷ lệ là 71,4%, $p < 0,05$.
- Bệnh nhân UTDD biệt hóa thấp có tỷ lệ biểu hiện đồng thời cả 2 dấu ấn cao nhất với 62,0%, $p < 0,05$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] Y. Yang, W. J. Meng, and Z. Q. Wang, "The origin of gastric cancer stem cells and their effects on gastric cancer: Novel therapeutic targets for gastric cancer," *Front Oncol*, vol. 12, 2022, Art. no. 960539.
- [2] M. Zaroni, S. Bravaccini, F. Fabbri, *et al.*, "Emerging Roles of Aldehyde Dehydrogenase Isoforms in Anti-cancer Therapy Resistance," *Front Med (Lausanne)*, vol. 9, 2022, Art. no. 795762.
- [3] C. H. Lindsay, G. H. Gordon, M. Veerle, *et al.*, "KRAS, BRAF and gastric cancer," *Translational Gastrointestinal Cancer*, vol. 4, no. 6, pp. 429-447, 2015.
- [4] X. H. Fu, Z. T. Chen, W. H. Wang, *et al.*, "KRAS G12V Mutation is an Adverse Prognostic Factor of Chinese Gastric Cancer Patients," *J Cancer*, vol. 10, no. 4, pp. 821-828, 2019.
- [5] E. C. Smyth, M. Verheij, W. Allum, *et al.*, "Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up," *Ann Oncol*, vol. 27, no. suppl 5, pp. v38-v49, 2016.
- [6] J. Calderaro, J. C. Nault, P. Bioulac-Sage, *et al.*, "ALDH3A1 is overexpressed in a subset of hepatocellular carcinoma characterised by activation of the Wnt/ss-catenin pathway," *Virchows Arch*, vol. 464, no. 1, pp. 53-60, 2014.
- [7] B. Mytar, M. Stec, R. Szatanek, *et al.*, "Characterization of human gastric adenocarcinoma cell lines established from peritoneal ascites," *Oncol Lett*, vol. 15, no. 4, pp. 4849-4858, 2018.
- [8] L. Wang, L. Wang, Y. Yu, *et al.*, "Aldehyde Dehydrogenase 1 in Gastric Cancer," *J Oncol*, vol. 2022, 2022, Art. no. 5734549.
- [9] H. Ayatollahi, A. Tavassoli, A. H. Jafarian, *et al.*, "KRAS Codon 12 and 13 Mutations in Gastric Cancer in the Northeast Iran," *Iran J Pathol*, vol. 13, no. 2, pp. 167-172, 2018.