ÁP DỤNG SINH THIẾT LỎNG PHÁT HIỆN ĐỘT BIẾN GEN EGFR TRÊN BỆNH NHÂN UNG THƯ PHỔI KHÔNG TẾ BÀO NHỎ

Đặng Huỳnh Anh Thư[1], Vũ Trần Thiên Quân[1], Lê Xuân Trường[2], Nguyễn Hoài Nghĩa[3]

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: *Sự hiện diện của đột biến gen EGFR, ALK, ROS1, BRAF dự đoán được tính nhạy của các nhóm thuốc ức chế tyrosine kinase (TKIs) ở bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ (UTPKTBN). Mặc dù không có thuốc điều trị đích đối với đột biến gen KRAS, NRAS, xét nghiệm các đột biến gen này được khuyến cáo nhằm tiên lượng lâm sàng. Để xét nghiệm đột biến gen, mẫu sinh thiết mô không phải lúc nào cũng thuận tiện. Do đó, sinh thiết lỏng tìm DNA khối u lưu hành trong máu (Circulating Tumor DNA – ctDNA) đang dần trở thành lựa chọn cho xác định đột biến gen*

Mục tiêu: *Khảo sát độ nhạy, độ đặc hiệu của sinh thiết lỏng trong phát hiện đột biến gen EGFR, ALK, ROS1, BRAF, KRAS, NRAS bằng giải trình tự với độ sâu lớn. Đồng thời áp dụng sinh thiết lỏng để khảo sát đặc điểm của các đột biến này ở BN UTPKTBN*

Đối tượng – Phương pháp nghiên cứu: *Nghiên cứu cắt ngang mô tả gồm 55 BN UPTKTBN. Dùng giải trình tự với độ sâu lớn phát hiện đột biến EGFR ở 55 mẫu mô u và 55 mẫu máu.*

Kết quả: *55 cặp mẫu mô u và mẫu máu được xét nghiệm đột biến EGFR bằng giải trình tự với độ sâu lớn. Sinh thiết lỏng đạt được độ nhạy 86,2% và độ đặc hiệu 94,6%. Trong 55 bệnh nhân, có 21 bệnh nhân (chiếm 38,2%) có ít nhất một đột biến gen liên quan. Đột biến EGFR được tìm thấy ở 14 BN (chiếm 25,1%). Đột biến KRAS được tìm thấy ở 6 BN chiếm 10,9%. Đột biến ALK được tìm thấy ở 1 bệnh nhân (chiếm 1,8%). Đột biến ROS1, BRAF, NRAS không được tìm thấy. Đột biến tồn tại đồng thời giữa EGFR và KRAS xuất hiện ở 1 bệnh nhân (chiếm 1,8%).*

Kết luận: *Sinh thiết lỏng cho thấy vai trò của nó trong xác định đột biến EGFR ở BN UTPKTBN, là sự lựa chọn tốt nếu như mô u không sẵn sàng.*

Từ khóa: *sinh thiết lỏng, giải trình tự với độ sâu lớn, ung thư phổi không tế bào nhỏ*

ABSTRACT

APPLICATION OF LIQUID BIOPSY IN DETECTION EGFR MUTATION IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER PATIENTS

Dang Huynh Anh Thu, Vu Tran Thien Quan, Le Xuan Truong, Nguyen Hoai Nghia

* Ho Chi Minh City Journal of Medicine * Vol. 25 - No 1 - 2021: 138-143

Background: *The presence of EGFR, ALK, ROS1, BRAF mutations predicts the sensitivity to tyrosine kinase inhibitors (TKIs) of non-small-cell lung carcinoma (NSCLC) patients. Although there are currently no targeted drugs for KRAS or NRAS mutated NSCLC, mutation testing for these genes has also been recommended due to their proven impact on clinical outcomes of NSCLC patients. As surgery specimens are not available in the majority of NSCLC, other currently available DNA sources are small biopsies and cytological samples, providing however limited and low-quality material. In order to address this issue, the use of surrogate sources of DNA, such as blood, serum and plasma samples, which often contains circulating free tumor DNA or*

[1]Bộ môn Sinh lý – Sinh lý bệnh Miễn dịch, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh
[2]Trường Đại học Tân Tạo [3]Trung tâm Y sinh học phân tử, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh
Tác giả liên lạc: ThS.BS. Đặng Huỳnh Anh Thư *ĐT*: 0334892409 *Email*: thudanghuynhanh@ump.edu.vn

circulating tumor cells, is emerging as a new strategy for tumor genotyping.

Objectives: *To identify sensitivity and specificity of liquid biopsy in detection ALK, ROS1, BRAF, KRAS, NRAS mutation using ultra-deep massively parallel sequencing (MPS). Another aim of the study is to determine the ALK, ROS1, BRAF, KRAS, NRAS mutation status of NSCLC by using liquid biopsy.*

Method: *Descriptive cross-sectional study with 55 NSCLC. EGFR mutations were assessed using tumor tissue-derived DNA (n=55) and circulating free (cf) DNA from pretreatment serum samples (n=55).*

Results: *55 paired plasma and tumor tissue samples were used to evaluate mutation profiles detected by ultra-deep MPS. Ultra-deep MPS achieved sensitivity and specificity of 86.2% and 94.6%. Among 55 patients successfully sequenced, 21 (38.2%) cases were found to carry at least one clinically relevant genetic alteration. The EGFR mutations were found in 14 liquid biopsy cases (25.1%). The KRAS mutations were found in 6 liquid biopsy cases (10.9%). ALK rearrangement were found in 1 cases (1.8%). ROS1, BRAF, NRAS were not found. In addition, 1 case (1.8%). has KRAS and EGFR mutation together.*

Conclusion: *The liquid biopsy is successfully took its place in the identification of EGFR mutations of advanced NSCLC cases. These results merit further investigation to determine whether alternative sources of tumor DNA, such as cfDNA in serum, could be used for determining EGFR mutation status in future; currently, where a sample is available, analysis of tumor material is recommended*

Key words: *liquid biopsy, ultra-deep massively parallel sequencing, NSCLC*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư phổi là là loại ung thư phổ biến nguyên nhân hàng đầu gây tử vong do ung thư ở cả nam và nữ. Ung thư phổi không tế bào nhỏ (UTPKTBN) là loại ung thư phổ biến nhất chiếm 80-85% tổng số ung thư phổi[1].

Với giai đoạn tiến xa, điều trị chủ yếu dùng các phương pháp điều trị toàn thân như hóa chất, điều trị đích. Điều trị đích là phương pháp dùng thuốc để ngăn chặn sự phát triển của tế bào ung thư bằng cách tác động vào các phân tử đặc hiệu cần thiết cho quá trình sinh ung thư và phát triển khối u. Hiệu quả của thuốc này còn phụ thuộc vào tình trạng đột biến các gen mã hóa các protein nằm trong con đường tín hiệu tế bào ung thư. Các đột biến gen như EGFR, ALK, ROS1, KRAS, BRAF, NRAS đã được chứng minh có hiệu quả với điều trị UTPKTBN. Đột biến gen EGFR chiếm 10-20% trên bệnh nhân UTPKTBN ở châu Âu, châu Mỹ và 30-60% trên bệnh nhân thuộc chủng tộc Đông Á. Đặc biệt theo nghiên cứu Pioneer, bệnh nhân (BN) UTPKTBN người Việt Nam có tỉ lệ đột biến EGFR chiếm 64,2%[2]. Xét nghiệm đột biến EGFR được khuyến cáo một cách thường quy để giúp lựa chọn phương pháp điều trị tối ưu.

Hiện nay, sinh thiết lỏng có vai trò hữu ích trong việc xác định đột biến gen trong các trường hợp khối u nằm ở vị trí không thể sinh thiết mô và hạn chế xâm lấn do sinh thiết lặp lại mô u trong quá trình điều trị, hoặc mẫu mô khi xác định giải phẫu bệnh còn quá ít không đủ để thực hiện xét nghiệm đột biến gen. Ưu điểm lớn nhất của sinh thiết lỏng chính là dễ dàng thu mẫu trong quá trình theo dõi tiến trình điều trị và có vai trò phát hiện những đột biến mới do kết quả của việc kháng thuốc[3]. Sinh thiết lỏng sẽ phân tích DNA khối u lưu hành trong máu (Circulating Tumor DNA – ctDNA). Do ctDNA chỉ chiếm tỷ lệ nhỏ trong tổng số DNA tự do (Cell Free DNA-cfDNA) thu được, nên cần phải lựa chọn các phương pháp chính xác và tối ưu để phân tích ctDNA. Kỹ thuật giải trình tự thế hệ mới (NGS: Next- Generation Sequencing) thực hiện giải trình tự hàng triệu phân tử DNA đồng thời trên phiến kính với chi phí rất thấp so với phương pháp giải trình tự truyền thống.

Chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm đánh giá khả năng áp dụng sinh thiết lỏng trong điều trị UTPKTBN bằng cách so sánh kiểu biến đổi di truyền giữa mẫu sinh thiết lỏng và mẫu sinh thiết mô của gene *EGFR*.

ĐỐI TƯỢNG – PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Chúng tôi tiến hành nghiên cứu (NC) trên 55 bệnh nhân UTPKTBN giai đoạn cuối (IIIB-IV) điều trị tại bệnh viện Lao và bệnh phổi Phạm Ngọc Thạch, từ 09/2017 đến 9/2019.

Tiêu chuẩn chọn mẫu

Được chẩn đoán xác định UTPKTBN giai đoạn IIIB-IV (theo tiêu chuẩn của AJCC VII[4]).

Chưa qua điều trị (phẫu thuật, hóa trị, xạ trị).

Có đầy đủ thông tin về hành chính, tiền căn, giai đoạn bệnh UTP, kết quả giải phẫu bệnh.

Đồng ý tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ

Đã qua điều trị (phẫu thuật, hóa trị, xạ trị)

Không đồng ý tham gia nghiên cứu

Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu cắt ngang, mô tả.

Các bước tiến hành

Mẫu sử dụng trong nghiên cứu là mẫu máu ngoại vi 10ml và mẫu mô FFPE.

Xử lý mẫu

Mẫu sinh thiết lỏng: mẫu máu được trữ trong ống EDTA Vacutainer (Becton Dickinson) và được giữ mát tại 4°C. Mẫu máu được ly tâm 2 đợt để tách huyết tương. Mẫu huyết tương sẽ được kiểm tra hiện tượng tiêu máu sau khi tách và được trữ ở -80°C

Mẫu sinh thiết mô: chọn vùng tập trung tế bào ung thư theo các bước: vùng mô ung thu được đánh dấu trên lam giải phẫu bệnh để phân biệt với vùng mô lành xung quanh (từ 5-10 tiêu bản), sau đó được cạo vào ống 1,5 ml bằng luỡi dao phẫu thuật vô trùng. Những trường hợp mẫu sinh thiết quá nhỏ, hoặc không phân biệt vùng mô ung thu hay mô lành thì mẫu sinh thiết đuợc thu nhận toàn bộ. Mẫu mô u sau khi cạo sẽ được trữ ở -80°C.

Tách chiết DNA

Tách chiết DNA từ mẫu sinh thiết lỏng: cfDNA được tách chiết từ 1 ml huyết tương cho mỗi BN NSCLC bằng bộ kít Magmax™ Cell-free DNA Isolation Kit (Applied Biosystem) và dung giải trong 30µl elution buffer.

Tách chiết DNA từ mẫu mô u: DNA từ mô u được tách chiết bằng bộ kit QiaAmp DNA FFPE kit (Qiagen). gDNA được dung giải trong 20 µl elution buffer.

Định lượng DNA sau khi tách chiết: DNA sau khi tách chiết được định lượng bằng bộ kit QuantiFluor® dsDNA System.

Chuẩn bị thư viện

Chuẩn bị thư viện cho mẫu cfDNA từ sinh thiết lỏng: cfDNA tách chiết được chuẩn bị thư viện bằng bộ kit Accel-NGS 2S DNA Library Kit và khuếch đại PCR.

Chuẩn bị thư viện cho mẫu DNA từ mô u: DNA sau khi tách chiết được chuẩn bị thư viện bằng bộ kit NEBnext dsDNA fragmentase và NEBnext Multiplex Oligos Dual. Sản phẩm sau khi được chọn lọc sẽ được khuếch đại qua PCR bằng cặp mồi P5 index (chứa trình tự mã hóa mẫu) và P7 adapter. Sản phẩm DNA sau khi khuếch đại sẽ được tinh sạch bằng KAPA Pure Beads (KAPA biosystems).

Làm giàu các phân mảnh DNA từ gen mục tiêu

Sản phẩm PCR từ bước tạo thư viện sẽ được tiến hành lai với hỗn hợp mẫu dò có chứa gene và gắn biotin đặc hiệu cho các gene mục tiêu. Quy trình sử dụng theo bộ kit xGen Lockdown Reagents. Các mẫu dò được thiết kế và tổng hợp bởi xGen panel (IDT).

Tối ưu quy trình giải trình tự NGS với độ sâu lớn

Phân cắt và chọn lọc kích thước gDNA từ chứng dương: chúng tôi sử dụng Tru-Q1 và EML4-ALK Reference Standard từ hãng Horizon làm chứng dương. gDNA từ các chứng dương mang đột biến và từ mẫu không mang đột biến sẽ được phân cắt bằng bộ kit NEBnext dsDNA fragmentase.

Pha loãng các tần suất đột biến

DNA phân cắt có chứa đột biến và không chứa đột biến sẽ được trộn với nhau tại các nồng

độ pha loãng: 5%, 2,5%, 1% để tạo nên những tần suất đột biến khác nhau. Hỗn hợp DNA có các MAF khác nhau sẽ được tiến hành giải trình tự trên hệ thống máy giải trình tự gene thế hệ mới NextSeq (Illumina) sử dụng bộ hóa chất NextSeq Mid Output kit (150 cycles) tại độ sâu tối thiểu 10.000X. Nếu kết quả giải trình tự thấp hơn độ sâu tối thiểu thì mẫu sẽ được lặp lại giải trình tự để đảm bảo độ sâu tối thiểu.

Giải trình tự NGS

Mẫu sinh thiết lỏng sau khi được tách chiết, chuẩn bị thư viện và làm giàu gene mục tiêu sẽ được tiến hành giải trình tự trên hệ thống máy giải trình tự gene thế hệ mới NextSeq (Illumina) sử dụng bộ hóa chất NextSeq Mid Output kit (150 cycles) và được giải trình tự ở độ sâu tối thiểu lần lượt là 10.000x và 100x.

Phân tích kết quả giải trình tự

Kết quả giải trình tự sẽ được phân tích bằng phần mềm tin-sinh học và sẽ tự động so sánh với trình tự chuẩn từ ngân hàng dữ liệu.

Xử lý số liệu

Phần mềm Excel 2010 và Stata 10.0.

Y đức

Nghiên cứu này được thông qua bởi Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học Đại học Y Dược TP. HCM, số 502/ĐHYD-HĐ, ngày 21/11/2017.

KẾT QUẢ

Nghiên cứu của chúng tôi gồm 81 bệnh nhân được chẩn đoán bệnh nhân UTPKTBN giai đoạn cuối (IIIB-IV) điều trị tại Bệnh viện Lao và bệnh phổi Phạm Ngọc Thạch, từ 09/2017 đến 09/2019.

Đặc điểm chung của nhóm bệnh nhân UTPKTBN tham gia nghiên cứu

Bảng 1: *Đặc điểm lâm sàng của BN tham gia NC*

Đặc điểm	N = 55 (%)
Tuổi	
Độ tuổi	39-87
Trung bình	63,4 ± 11,2
Giới tính	
Nam	41/55 (74,5%)
Nữ	14/55(25,4%)
Tình trạng hút thuốc	
Có	43/55 (78,1%)
Không	12/55 (21,8%)
Giai đoạn	
IIIB	16/55 (15,9%)
IV	39/55 (70,9%)
Chuẩn đoán lâm sàng	
Ung thư biểu mô tế bào tuyến	50/55 (90,9%)
Ung thư biểu mô tế bào vảy	4/55 (7,2%)
Ung thư biểu mô tế bào lớn	1/55 (1,8%)

Kết quả phát hiện đột biến EGFR ở mẫu sinh thiết lỏng và mẫu mô u

Chúng tôi ứng dụng quy trình giải trình tự với độ sâu lớn cho 55 mẫu sinh thiết lỏng và 55 mẫu mô u tương ứng của cùng một bệnh nhân và tiến hành phân tích sự tương đồng về kiểu đột biến giữa hai loại mẫu. Kết quả cho thấy sinh thiết lỏng đạt được độ nhạy 86,2% và độ đặc hiệu 94,6% so với sinh thiết mô. Trong đó, MAF (Mutant Allen Fraction) thấp nhất ở mẫu sinh thiết lỏng là 1,5% và ở mẫu sinh thiết mô là 11%.

Kết quả phát hiện đột biến gen ở mẫu sinh thiết lỏng

Trong 55 bệnh nhân, có 21 bệnh nhân (chiếm 38,2%) có ít nhất một đột biến gen liên quan. Đột biến EGFR được tìm thấy ở 14 BN (chiếm 25,1%). Đột biến KRAS được tìm thấy ở 6 BN chiếm 10,9%. Đột biến ALK được tìm thấy ở 1 bệnh nhân (chiếm 1,8%). Đột biến ROS1, BRAF, NRAS không được tìm thấy. Đột biến tồn tại đồng thời giữa EGFR và KRAS xuất hiện ở 1 bệnh nhân (chiếm 1,8%).

Bảng 2: *Phân bố các loại đột biến*

Loại đột biến	n	%
EGFR	14	25,1
KRAS	6	10,9
ALK	1	1,8
ROS1	0	0
BRAF	0	0
NRAS	0	0
Không đột biến gen	34	61,8
Tổng	21	100

Bảng 3*: Phân bố các loại đột biến EGFR*

Loại đột biến	n	%
Mất đoạn ở exon 19	6	42,9

Loại đột biến	n	%
Đột biến điểm L858R ở exon 19	4	28,6
Chèn đoạn ở exon 20	2	14,3
Đột biến điểm H773A	1	7,1
Đột biến điểm L768C	1	7,1
Tổng	14	100

Bảng 4: Phân bố các loại đột biến KRAS

Loại đột biến	n	%
Đột biến điểm G12C	3	50
Đột biến điểm G12D	1	16,7
Đột biến điểm G12V	1	16,7
Đột biến điểm Q61R	1	16,7
Tổng	6	100

BÀN LUẬN

Đặc điểm chung của nhóm bệnh nhân UTPKTBN tham gia nghiên cứu

Trong 55 BN nghiên cứu thì có 41 BN nam (74,5%) và 14 BN nữ (25,4%), tỷ lệ nam so với nữ là 2,92/1. Điều này có thể giải thích là do có sự khác nhau về tình trạng hút thuốc lá ở nữ giới ở nước ta và các nước phát triển phương Tây. Nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy BN trẻ tuổi nhất là 39 và cao tuổi nhất là 87, tuổi trung bình là 63,4 ± 11,2. Trong số các BN, gặp những người hút thuốc với tỉ lệ cao (78,1%), điều này nói lên sự liên quan giữa hút thuốc lá với bệnh ung thư phổi. Trong số các BN ung thư phổi không tế bào nhỏ được nghiên cứu tỉ lệ ung thư biểu mô tuyến chiếm tỉ lệ chủ yếu (90,9%), tiếp đến là ung thư biểu mô vảy (7,2%), các ung thư tế bào lớn (1,8%). Kết quả của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu lại các quốc gia khác nhau, các kết quả phân tích đều cho thấy ung thư biểu mô tuyến và ung thư biểu mô vảy là 2 dạng tổn thương hay gặp nhất.

So sánh kiểu biến đổi di truyền giữa mẫu sinh thiết lỏng và mẫu mô u

Khi quan sát sự tương đồng về kiểu đột biến ở hai loại mẫu, chúng tôi quan sát thấy độ nhạy trong nghiên cứu của chúng tôi đạt được 86,2% và độ đặc hiệu 94,6%. Kết quả này phù hợp với tiêu chuẩn của bộ kit sinh thiết lỏng Cobas (Roche) đã được FDA (Hoa Kỳ) chấp thuận và dữ liệu tổng hợp từ 27 nghiên cứu về sinh thiết lỏng trên 3.110 bệnh nhân[5].

Một trường hợp chúng tôi chỉ phát hiện đột biến trên mẫu mô u, nhưng lại không quan sát thấy đột biến ở mẫu sinh thiết lỏng. Nguyên nhân có thể do tỉ lệ MAF trong mẫu sinh thiết lỏng thấp dưới ngưỡng LOD (limit of detection) của chúng tôi, do vậy, chúng tôi không thế phát hiện được đột biến.

Một trường hợp phát hiện đột biến trên cfDNA nhưng không tìm thấy ở mẫu mô u. Các nghiên cứu cho thấy, khối u 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. Chính vì thế sinh thiết lỏng phản ánh đặc tính di truyền của toàn bộ khối u tốt hơn so với phương pháp sinh thiết mô u truyền thống.

Kết quả đột biến gen trên sinh thiết lỏng

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ đột biến EGFR thống kê được là 14/55 BN (25,1%) so với một số báo cáo khác tại Việt Nam thì tương đương với nghiên cứu của của Nguyễn Ngọc Quang năm 2014 (30,3%, n=380)[6], thấp hơn của Hoàng Anh Vũ năm 2011 (42%, n=71)[7].

Trong tổng số đột biến phát hiện được ở *EGFR*, đột biến mất đoạn exon 19 chiếm tỉ lệ cao nhất (42,9%); đột biến L858R chiếm tỉ lệ cao thứ hai (28,6%), chèn đoạn exon 20 chiếm 14,3%, các đột biến H773A, L768C chiếm tỉ lệ thấp nhất (7,1%).

Đột biến gen EGFR được chia thành 2 nhóm: liên quan đến tính nhạy thuốc và kháng thuốc TKI. Những đột biến thường gặp nhất gồm mất đoạn trên exon 19 và L858R trên exon 21 đều liên quan đến sự đáp ứng tốt 7với TKI. Các đột biến điểm khác chiếm tỷ lệ khá thấp. Đột biến liên quan đến kháng thuốc như thêm đoạn trên exon 20, đột biến T790M. Trong nghiên cứu của chúng tôi, đa số các đột biến cũng được phát hiện trên exon 19 (mất đoạn) và exon 21 (L858R).

Đối với đột biến phát hiện ở gen KRAS, đột biến G12C chiếm tỉ lệ cao nhất (50%), đột biến G12V, G12D, Q61R chiếm tỉ lệ bằng nhau.

Bên cạnh đó, trong tất cả các trường hợp,

chúng tôi không quan sát thấy đột biến xảy ra ở gene NRAS, BRAF và ROS1. Nguyên nhân có thể do đột biến xảy ra ở gene NRAS, BRAF và ROS1 chiếm tỉ lệ rất thấp ở bệnh nhân NSCLC, lần lượt là 1%, 2-5%, 2%. Đối với đột biến ALK, chúng tôi phát hiện ở một trường hợp, 1,8% (cả mô u và sinh thiết lỏng). Điều này cũng tương quan với các nghiên cứu trước đó, đột biến ALK ở bệnh nhân NSCLC chỉ chiếm 4-6% trong tổng số trường hợp mắc UTPKTBN.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 55 BN UTPKTBN thực hiện xét nghiệm đột biến EGFR cho thấy:

Dựa trên tổng số 55 mẫu có cả mô u và sinh thiết lỏng, chúng tôi xác định được độ nhạy là 86,2% và độ đặc hiệu 94,6% cho quy trình giải trình tự sinh thiết lỏng với độ sâu lớn. Trong đó, MAF thấp nhất ở mẫu sinh thiết lỏng là 1,5% và ở mẫu sinh thiết mô là 11%. Như vậy, chúng tôi nhận thấy rằng kiểu đột biến giữa hai cách thu nhận mẫu có mức độ tương đồng cao. Nên việc áp dụng sinh thiết lỏng vào xét nghiệm đột biến EGFR cho bệnh nhân sẽ mang lại nhiều lợi ích. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ đột biến gen EGFR thống kê được là 25,1%. Đột biến KRAS chiếm 10,9%. Đột biến ALK chiếm 1,8%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, et al (2010). Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer*, 127(12):2893-2917.
2. Shi Y, Au JS, Thongprasert S, Srinivasan S, et al (2014). A prospective, molecular epidemiology study of EGFR mutations in Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer of adenocarcinoma histology (PIONEER). *J Thorac Oncol*, 9(2):154-162.
3. Silvia CF, Eloisa JL, Alejandro HP, Carlos C (2016). Circulating tumor cells versus circulating tumor DNA in lung cancer-which one will win? *Transl Lung Cancer Res*, 5(5):466-482.
4. Edge SB, Compton CC (2010). The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol*, 17(6):1471-1474.
5. Thompson JC, Yee SS, Troxel AB, Savitch SL, et al (2016). Detection of Therapeutically Targetable Driver and Resistance Mutations in Lung Cancer Patients by Next-Generation Sequencing of Cell-Free Circulating Tumor DNA. *Clin Cancer Res*, 22 (23):5772-5782.
6. Nguyễn Ngọc Quang, Vương Diệu Linh, Lương Viết Hưng, Nguyễn Phi Hùng (2014). Nghiên cứu tần suất và một số yếu tố liên quan đến đột biến gen EGFR tại exon 19 và exon 21 trong carcinoma tuyến của phổi. *Ung thư học Việt Nam*, 4:96-101.
7. Hoàng Anh Vũ, Cao Văn Động, Ngô Thị Tuyết Hạnh, Đặng Hoàng Minh, Phan Thị Xinh và Hứa Thị Ngọc Hà (2011). Đột biến gen EGFR và KRAS trên bệnh nhân ung thư phổi không phải tế bào nhỏ. *Y học Thành phố. Hồ Chí Minh*, 14(4):166-172.

Ngày nhận bài báo: *29/11/2020*

Ngày nhận phản biện nhận xét bài báo: *20/02/2021*

Ngày bài báo được đăng: *10/03/2021*