

# Nghiên cứu giá trị chẩn đoán ung thư tụy của đột biến các codon 12/13 và 61 của gene *KRAS* trong ctDNA phối hợp với một số chỉ điểm sinh học truyền thống

Trương Xuân Long<sup>1</sup>, Ngô Thị Diệu Hương<sup>1</sup>, Lê Phan Tường Quỳnh<sup>1</sup>, Vĩnh Khánh<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Mai Ngân<sup>1</sup>, Lê Tuấn Linh<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Thanh Thoa<sup>1</sup>, Phạm Anh Vũ<sup>1</sup>, Hồ Hữu Thiên<sup>2</sup>, Đặng Ngọc Hùng<sup>2</sup>, Nguyễn Văn Cầu<sup>1</sup>, Đặng Công Thuận<sup>1</sup>, Phạm Nguyễn Cường<sup>2</sup>, Hà Thị Minh Thi<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

<sup>2</sup>Bệnh viện Trung ương Huế

\*Tác giả liên hệ: Hà Thị Minh Thi, htmthi@huemed-univ.edu.vn, htmthi@hueuni.edu.vn

Ngày nhận bài (Received): 02/03/2026; Ngày duyệt đăng (Accepted): 02/06/2026; Ngày xuất bản (Published): 28/06/2026

DOI:10.34071/jmp.2026.3.993

## Tóm tắt

**Đặt vấn đề:** Ung thư tụy là một bệnh lý khó chẩn đoán xác định do hạn chế trong việc tiếp cận khối u để lấy mẫu mô. PCR kỹ thuật số vi giọt (ddPCR) với khả năng phát hiện các DNA khối u lưu hành trong máu (ctDNA) cho thấy tiềm năng chẩn đoán ung thư tụy mà không cần sinh thiết.

**Mục tiêu:** (1) Xác định tỷ lệ đột biến các codon 12/13 và 61 của gene *KRAS* trong ctDNA ở bệnh nhân ung thư tụy và bệnh lý tụy lành tính bằng kỹ thuật droplet digital PCR, (2) Khảo sát giá trị chẩn đoán ung thư tụy của đột biến *KRAS* trong ctDNA phối hợp với các chỉ điểm sinh học truyền thống (CA 19-9, CEA).

**Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu được thực hiện trên 99 bệnh nhân gồm các nhóm ung thư tụy, u nang tụy lành tính và viêm tụy mạn, xác định <sup>mut</sup>*KRAS* ctDNA bằng kỹ thuật ddPCR.

**Kết quả:** Tỷ lệ có đột biến *KRAS* trong ctDNA huyết tương ở các nhóm lần lượt là 72,5%, 25,0% và 7,1%. Đột biến tại codon 12/13 chiếm 70,6%, đột biến tại codon 61 chỉ chiếm tỷ lệ 3,9% trong nhóm ung thư tụy. MAF <sup>mut</sup>*KRAS* ctDNA phối hợp CA 19-9 có giá trị chẩn đoán ung thư tụy tốt hơn CA 19-9 đơn độc với AUC = 0,885, p = 0,042.

**Kết luận:** Tỷ lệ đột biến *KRAS* trong ctDNA huyết tương ở nhóm bệnh nhân ung thư tụy cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh tụy lành tính, chủ yếu tại codon 12/13. Giá trị chẩn đoán ung thư tụy của MAF <sup>mut</sup>*KRAS* ctDNA tương đương CA 19-9, nhưng khi phối hợp hai chỉ điểm này với nhau lại tốt hơn so với khi chỉ dùng CA 19-9 đơn độc.

**Từ khóa:** ung thư tụy; *KRAS*; ctDNA; ddPCR; CA 19-9; CEA.

## Study on diagnostic value of *KRAS* codon 12/13 and 61 mutations in ctDNA combined with traditional biomarkers in patients with pancreatic cancer

Trương Xuân Long<sup>1</sup>, Ngô Thị Diệu Hương<sup>1</sup>, Lê Phan Tường Quỳnh<sup>1</sup>, Vĩnh Khánh<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Mai Ngân<sup>1</sup>, Lê Tuấn Linh<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Thanh Thoa<sup>1</sup>, Phạm Anh Vũ<sup>1</sup>, Hồ Hữu Thiên<sup>2</sup>, Đặng Ngọc Hùng<sup>2</sup>, Nguyễn Văn Cầu<sup>1</sup>, Đặng Công Thuận<sup>1</sup>, Phạm Nguyễn Cường<sup>2</sup>, Hà Thị Minh Thi<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>University of Medicine and Pharmacy, Hue University

<sup>2</sup>Hue Central Hospital

## Abstract

**Background:** Pancreatic cancer is difficult to diagnose definitively due to limitations in accessing the tumor for tissue sampling. Droplet digital PCR (ddPCR), with its ability to detect serum circulating tumor DNA (ctDNA), shows potential for diagnosing this disease without biopsy.

**Objectives:** (1) To determine rates of *KRAS* codon 12/13 and 61 mutations in ctDNA in patients with pancreatic cancer and pancreatic benign diseases using droplet digital PCR; (2) To investigate diagnostic value of *KRAS* mutations in combination with traditional biomarkers (CA 19-9, CEA) in pancreatic cancer.

**Materials and methods:** The study was conducted on 99 patients, which were divided into three groups: pancreatic cancer, benign pancreatic tumors/cysts and chronic pancreatitis, were measured <sup>mut</sup>*KRAS* ctDNA using ddPCR.

**Results:** Rates of positive <sup>mut</sup>KRAS ctDNA were 72.5%, 25.0% and 7.1%, respectively. Mutations at codon 12/13 accounted for 70.6%, mutations at codon 61 accounted for only 3.9% in the pancreatic cancer group. The combination of KRAS MAF in ctDNA and CA 19-9 had a better diagnostic value for pancreatic cancer than that of CA 19-9 alone, with AUC = 0.885, p = 0.042.

**Conclusion:** Rates of KRAS mutations in ctDNA in pancreatic cancer is significantly higher than those in benign pancreatic diseases, mostly in codon 12/13. The diagnostic value of KRAS MAF in ctDNA in pancreatic cancer was not inferior to CA 19-9, but combining both markers was better than using only CA 19-9.

**Keywords:** *pancreatic cancer; KRAS; ctDNA; ddPCR; CA 19-9; CEA.*

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tụy là một cơ quan có các tế bào vừa đảm nhận chức năng nội tiết, vừa đảm nhận chức năng ngoại tiết. Tùy thuộc loại tế bào mà khối u phát sinh, ung thư tụy được chia thành ung thư tụy ngoại tiết - chiếm khoảng 96%, và ung thư tụy nội tiết (phần lớn là ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tuyến tụy) - chiếm khoảng 4% trường hợp [1, 2]. Thuật ngữ ung thư tụy vì vậy thường được hiểu là ung thư biểu mô tụy ngoại tiết [3]. Trong nhóm ung thư tụy ngoại tiết, ung thư biểu mô tuyến ống (pancreatic ductal adenocarcinoma: PDAC) là thường gặp nhất, chiếm tỷ lệ hơn 90% các trường hợp ung thư tụy [4].

Ung thư tụy với tỷ lệ sống sót sau 5 năm dưới 10%, là một trong những loại ung thư có tiên lượng xấu nhất [5]. Nguyên nhân chủ yếu là do bệnh thường được chẩn đoán ở giai đoạn muộn, khi khối u đã xâm lấn hoặc di căn. Hiện nay, sinh thiết tụy làm xét nghiệm mô bệnh học là tiêu chuẩn vàng để chẩn đoán ung thư tụy. Tuy nhiên, vị trí giải phẫu đặc biệt của tụy đã gây trở ngại đáng kể đến việc lấy mẫu sinh thiết.

Trong bối cảnh này, các chỉ điểm sinh học huyết thanh truyền thống như carbohydrate antigen 19-9 (CA 19-9) và carcinoembryonic antigen (CEA) đã được nghiên cứu rộng rãi nhằm hỗ trợ chẩn đoán và tiên lượng ung thư tụy. CA 19-9 là chỉ điểm sinh học được sử dụng phổ biến nhất trong ung thư tụy, với độ nhạy dao động từ 79% đến 81% và độ đặc hiệu từ 82% đến 90% ở bệnh nhân có triệu chứng [6]. Tuy nhiên, CA 19-9 có thể dương tính giả do tăng trong các bệnh lý lành tính như viêm tụy, xơ gan, tắc mật; cũng như âm tính giả do không được sản xuất ở người thiếu kháng nguyên Lewis (chiếm 5 đến 10% dân số) [7], [8]. Chỉ điểm sinh học còn lại là CEA, mặc dù có độ nhạy thấp hơn CA 19-9, nhưng lại có độ đặc hiệu cao hơn trong chẩn đoán ung thư tụy và có thể hữu ích trong tiên lượng. Nồng độ CEA huyết thanh cao có liên quan đến giai đoạn khối u, nguy cơ tái phát và thời gian sống còn ở bệnh nhân ung thư tụy [9]. Vì vậy, việc kết hợp CA 19-9 và CEA có thể cải thiện độ chính xác trong chẩn đoán và tiên lượng so với sử dụng từng dấu ấn riêng lẻ [10, 11].

Gần đây, nhiều nghiên cứu đã cho thấy có mối liên quan mật thiết giữa đột biến gene và các bệnh lý ung

thư. Đột biến gene KRAS được tìm thấy ở 75 - 95% bệnh nhân ung thư tụy [12]. Với sự phát triển các kỹ thuật sinh học phân tử có độ nhạy cao, người ta có thể phát hiện được các mảnh DNA mang đột biến gene này được phóng thích từ khối u và lưu hành trong máu, gọi là ctDNA (circulating DNA) [13]. Vì vậy, kỹ thuật này được gọi là sinh thiết lỏng (liquid biopsy) với tiềm năng thay thế sinh thiết mô trong chẩn đoán ung thư tụy. PCR kỹ thuật số vi giọt (droplet digital PCR: ddPCR) là kỹ thuật có khả năng phát hiện ctDNA ở nồng độ thấp, chỉ từ 0,001% trở lên [14]. Vì vậy đây là kỹ thuật có giá trị trong phát hiện đột biến KRAS trong ctDNA (<sup>mut</sup>KRAS ctDNA) ở bệnh nhân ung thư tụy nhằm cung cấp thêm một chỉ điểm sinh học mới trong chẩn đoán bệnh lý này mà không cần tiếp cận trực tiếp khối u.

Để đánh giá tiềm năng chẩn đoán ung thư tụy bằng kỹ thuật sinh thiết lỏng dựa trên xét nghiệm <sup>mut</sup>KRAS ctDNA, cũng như tiềm năng của nó khi phối hợp với các chỉ điểm sinh học truyền thống, chúng tôi thực hiện đề tài này với hai mục tiêu:

1. *Xác định tỷ lệ đột biến các codon 12/13 và 61 của gene KRAS trong ctDNA ở bệnh nhân ung thư tụy và bệnh lý tụy lành tính bằng kỹ thuật droplet digital PCR.*

2. *Khảo sát giá trị chẩn đoán ung thư tụy của đột biến KRAS trong ctDNA phối hợp với các chỉ điểm sinh học truyền thống (CA 19-9, CEA).*

## 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Bệnh nhân có bệnh lý tụy được khám và điều trị tại Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế và Bệnh viện Trung ương Huế trong thời gian từ 07/2022 đến 4/2025, gồm có 2 nhóm như sau:

- Nhóm ung thư tụy: 51 bệnh nhân

- Nhóm bệnh lý tụy lành tính: 48 bệnh nhân, gồm 28 bệnh nhân viêm tụy mạn và 20 bệnh nhân u/nang tụy lành tính (u tụy, u đặc giả nhú, u nang thanh dịch, u nhú nhầy nội ống, nang tụy, nang giả tụy).

#### 2.1.1. Tiêu chuẩn chọn bệnh

Chẩn đoán xác định các bệnh lý tụy trong nghiên cứu được thực hiện dựa trên các tiêu chuẩn lâm sàng và cận lâm sàng như sau:

- Đối với nhóm ung thư tụy, tiêu chuẩn bao gồm sự hiện diện của tổn thương nghi ngờ ác tính trên chẩn đoán hình ảnh (siêu âm nội soi (endoscopic ultrasound: EUS) và/hoặc chụp cắt lớp vi tính (computed tomography scan: CT scan) và/hoặc chụp cộng hưởng từ (magnetic resonance imaging: MRI)), kết hợp với kết quả mô bệnh học khẳng định ung thư.

- Nhóm u/nang tuyến tụy được xác định khi có tổn thương khu trú trên hình ảnh học (EUS và/hoặc CT scan và/hoặc MRI) đi kèm kết quả mô bệnh học xác nhận lành tính.

- Với nhóm viêm tụy mạn, chẩn đoán xác định dựa vào các dấu hiệu tổn thương điển hình trên EUS (theo tiêu chuẩn Rosemont) hoặc CT scan hoặc MRI (theo tiêu chuẩn M-ANNHEIM) [15], [16], [17].

Toàn bộ bệnh nhân đều được tiến hành định lượng nồng độ các dấu ấn sinh học huyết thanh (CA 19-9 và CEA) và lấy máu làm xét nghiệm gene trước khi phẫu thuật hoặc bắt đầu phác đồ hóa trị.

### **2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ**

- Mẫu cfDNA không đạt yêu cầu về số lượng và chất lượng để tìm đột biến KRAS trong ctDNA.

- Bệnh nhân không đồng ý tham gia vào nghiên cứu.

## **2.2. Phương pháp nghiên cứu**

### **2.2.1. Thiết kế nghiên cứu**

Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

### **2.2.2. Phương tiện nghiên cứu**

Xét nghiệm tìm đột biến gene KRAS trong ctDNA được thực hiện bằng kỹ thuật ddPCR trên hệ thống QX200 của hãng Bio-Rad (Mỹ), tại phòng thí nghiệm Di truyền phân tử, Bộ môn Di truyền Y học, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế.

Các xét nghiệm và chẩn đoán hình ảnh của bệnh nhân được thực hiện trên các hệ thống sau:

- Tại Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế:

+ CA 19-9, CEA: hệ thống Cobas E601, E602 của hãng Roche.

+ CT scan: Máy chụp cắt lớp vi tính đa dãy SOMATOM Scope, Siemens Healthineers, Erlangen, Germany.

+ MRI: Máy chụp cộng hưởng từ 1.5T MAGNETOM Amira, Siemens Healthineers, Erlangen, Germany.

- Tại Bệnh viện Trung ương Huế:

+ CA 19-9, CEA: hệ thống Cobas E601, E602 của hãng Roche và hệ thống DXI của hãng Beckman Coulter.

+ CT scan: Máy chụp cắt lớp vi tính Revolution ACT 32 slices, GE Hangwei Medical Systems, Beijing, China.

+ MRI: Máy chụp cộng hưởng từ GE Signa Explorer 1.5T, GE Tianjin Company, China.

Siêu âm nội soi được thực hiện trên hệ thống siêu

âm nội soi Fuji SU-8000 (Fujifilm Corporation, Tokyo, Nhật Bản). Ống siêu âm nội soi thuộc hãng Fujifilm đầu dò radial EG 530UT2 và đầu dò linear EG 530UR2 với tần số từ 7,5MHz – 12MHz. Kim chọc hút đường kính 19G và 22G của hãng Olympus.

### **2.2.3. Các bước nghiên cứu**

Dữ liệu nghiên cứu bao gồm các thông tin chung, đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng được thu thập từ cả hai nhóm ung thư tụy và bệnh lý tụy lành tính. Quá trình tách cfDNA (cell-free DNA: cfDNA) từ mẫu huyết tương được thực hiện theo quy trình của bộ kit QIAamp® cfDNA/RNA (Qiagen). Tiếp đó, kỹ thuật PCR kỹ thuật số vi giọt (droplet digital PCR: ddPCR) được thực hiện để phát hiện các đột biến trên gene KRAS. Cụ thể, nghiên cứu sử dụng bộ kit ddPCR™ KRAS G12/G13 Screening (Bio-Rad) nhằm phát hiện 7 đột biến codon 12 và 13 (G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D), kết hợp cùng bộ kit ddPCR™ KRAS Q61 Screening (Bio-Rad) để phát hiện 5 đột biến codon 61 (Q61K, Q61L, Q61R, Q61H 183A>T, Q61H 183A>C). Ở các trường hợp phát hiện có đột biến KRAS, tỷ lệ allele đột biến (mutant allele fraction: MAF) sẽ được ghi nhận [18]. Cuối cùng, phân tích giá trị chẩn đoán ung thư tụy của tỷ lệ allele đột biến của gene KRAS trong ctDNA (MAF<sup>mut</sup>KRAS ctDNA), phối hợp cùng các dấu ấn sinh học truyền thống là CA 19-9 và CEA.

### **2.2.4. Xử lý số liệu**

Các biến số nghiên cứu được ghi nhận và tính trung bình, trung vị hoặc tỷ lệ phần trăm. Kết quả xét nghiệm<sup>mut</sup>KRAS ctDNA được ghi nhận dương tính hoặc âm tính, nếu dương tính thì kết quả được biểu diễn bằng MAF theo tỷ lệ %. Tỷ lệ phát hiện được xác định cho mỗi nhóm ung thư tụy, u nang tụy lành tính, viêm tụy mạn. So sánh các tỷ lệ phát hiện bằng kiểm định Chi bình phương hoặc Fisher's exact (nếu có hơn 20% các tần số < 5). Các giá trị CEA và CA 19-9 đo trên từng hệ thống được chuẩn hóa thành chỉ số Z-score để loại bỏ sự khác biệt giữa các hệ thống máy. Đường cong ROC giá trị chẩn đoán ung thư tụy được vẽ dựa trên chỉ số Z-score của CEA, Z-score của CA 19-9 và MAF của<sup>mut</sup>KRAS ctDNA. Khi đánh giá giá trị chẩn đoán phối hợp của CA 19-9 và MAF của<sup>mut</sup>KRAS ctDNA, đường cong ROC được vẽ dựa vào xác suất dự báo thu được từ mô hình hồi quy logistic đa biến giữa Z-score của CA 19-9 và MAF của<sup>mut</sup>KRAS ctDNA. Điểm cắt tối ưu của đường cong ROC dựa vào chỉ số Youden, độ nhạy và độ đặc hiệu được tính tại điểm cắt này. Các kiểm định thống kê được thực hiện trên phần mềm SPSS 26. So sánh các diện tích dưới đường cong ROC bằng kiểm định DeLong trên phần mềm MedCalc 23.4.2.

### 3. KẾT QUẢ

#### 3.1. Đặc điểm chung của bệnh nhân trong nghiên cứu

**Bảng 1.** Một số đặc điểm chung của bệnh nhân ở các nhóm bệnh lý tụy

Đặc điểm		Ung thư tụy (%)	U nang tụy lành tính (%)	Viêm tụy mạn (%)	p
Tuổi (X ± SD)		64,8 ± 10,7	45,7 ± 17,1	51,5 ± 16,4	< 0,0001
Giới	Nam	23 (45,1)	10 (50,0)	23 (82,1)	0,005
	Nữ	28 (54,9)	10 (50,0)	5 (17,9)	
Uống rượu bia	Có	9 (17,6)	5 (25,0)	17 (60,7)	0,0003
	Không	42 (82,4)	15 (75,0)	11 (39,3)	
Hút thuốc lá	Có	11 (21,6)	5 (25,0)	14 (50,0)	0,027
	Không	40 (78,4)	15 (75,0)	14 (50,0)	
Đái tháo đường	Có	17 (33,3)	1 (5,0)	10 (35,7)	0,034
	Không	34 (66,7)	19 (95,0)	18 (64,3)	
Tổng		<b>51 (100,0)</b>	<b>20 (100,0)</b>	<b>28 (100,0)</b>	

Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về phân bố tuổi trung bình, giới tính, tiền sử uống rượu bia và hút thuốc lá ở ba nhóm bệnh lý tụy được nghiên cứu. Trong đó, tuổi trung bình của bệnh nhân ở nhóm ung thư tụy cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm u nang tụy lành tính và viêm tụy mạn. Phần lớn bệnh nhân viêm tụy mạn là nam giới, có tiền sử uống rượu bia và hút thuốc lá.

#### 3.2. Tỷ lệ đột biến các codon 12/13 và 61 của gene KRAS trong ctDNA ở bệnh nhân ung thư tụy và bệnh lý tụy lành tính bằng kỹ thuật droplet digital PCR

**Bảng 2.** Phân bố <sup>mut</sup>KRAS ctDNA dương tính ở các nhóm bệnh lý tụy

<sup>mut</sup> KRAS ctDNA	Ung thư tụy (%)	U nang tụy lành tính** (%)	Viêm tụy mạn (%)	p	
Codon 12/13	(+)	36 (70,6)	5 (25,0)	2 (7,1)	< 0,0001
	(-)	15 (29,4)	15 (75,0)	26 (92,9)	
Codon 61	(+)	2*** (3,9)	0 (0)	0 (0)	0,706
	(-)	49 (96,1)	20 (100)	28 (100)	
Chung	(+)	37 (72,5)	5* (25,0)	2 (7,1)	< 0,0001
	(-)	14 (27,5)	15 (75,0)	26 (92,9)	
Tổng	<b>51</b>	<b>20</b>	<b>28</b>		

Chú thích:

\* 3 ca u nhú nhày nội ống, 1 ca u nang thanh dịch, 1 ca nang giả tụy.

\*\* Trong nhóm này có 8 ca u nhú nhày nội ống, tỷ lệ bệnh nhân u nhú nhày nội ống có <sup>mut</sup>KRAS ctDNA là 3/8 (37,5%).

\*\*\* Trong 2 ca dương tính đột biến codon 61, có ca đồng đột biến codon 12/13 và codon 61.

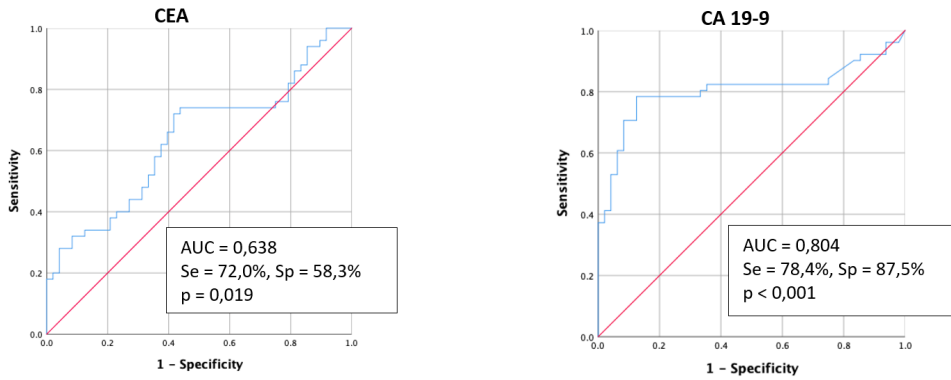
Tỷ lệ có đột biến KRAS trong ctDNA huyết tương ở nhóm bệnh nhân ung thư tụy cao hơn có ý nghĩa thống kê so với hai nhóm lành tính (u nang tụy lành tính và viêm tụy mạn). Phần lớn là đột biến tại codon 12/13 chiếm 70,6%, đột biến tại codon 61 chỉ chiếm tỷ lệ 3,9% trong số bệnh nhân ung thư tụy.

#### 3.3. Giá trị chẩn đoán ung thư tụy của đột biến KRAS trong ctDNA phối hợp với các chỉ điểm sinh học truyền thống

**Bảng 3.** Nồng độ CA 19-9 và CEA ở các nhóm bệnh lý tụy

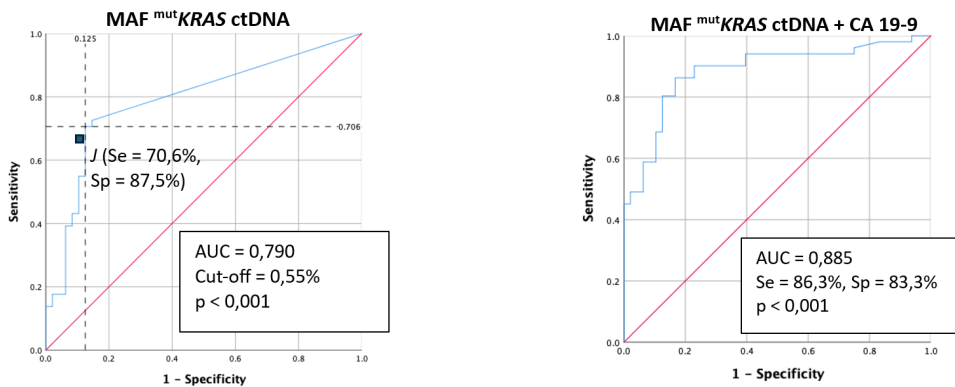
Chỉ điểm	Ung thư tụy	U nang tụy lành tính	Viêm tụy mạn	p
CA 19-9 (U/mL)	561,0	13,6	12,1	< 0,0001
Trung vị (IQR)	(74,2 - 1000,0)	(8,6 - 24,3)	(6,6 - 30,5)	
CEA (ng/mL)	5,1	1,8	2,9	0,0005
Trung vị (IQR)	(2,9 - 19,7)	(1,3 - 5,1)	(1,7 - 7,4)	

Trung vị nồng độ của CA 19-9 và CEA ở nhóm ung thư tụy cao hơn có ý nghĩa thống kê so với cả hai nhóm bệnh tụy lành tính.



**Hình 1.** Đường cong ROC của Z-score chuẩn hoá từ nồng độ CEA (trái) và CA 19-9 (phải) trong chẩn đoán ung thư tụy

Nồng độ CEA có giá trị chẩn đoán ung thư tụy ở mức độ kém với AUC = 0,638,  $p = 0,019$ . Nồng độ CA 19-9 có giá trị chẩn đoán ung thư tụy ở mức độ tốt với AUC = 0,804,  $p < 0,001$ .



**Hình 2.** Đường cong ROC của giá trị MAF <sup>mut</sup>KRAS ctDNA (trái) và đường cong ROC của giá trị MAF <sup>mut</sup>KRAS ctDNA phối hợp CA 19-9 (phải) trong chẩn đoán ung thư tụy

*Chú thích:* J là vị trí điểm cắt tối ưu theo chỉ số Youden.

Giá trị MAF của <sup>mut</sup>KRAS ctDNA có giá trị chẩn đoán ung thư tụy ở mức độ trung bình (AUC = 0,790), với giá trị ngưỡng là 0,55%. Giá trị MAF của <sup>mut</sup>KRAS ctDNA phối hợp CA 19-9 có giá trị chẩn đoán ung thư tụy ở mức độ tốt với AUC = 0,885,  $p < 0,001$ .

**Bảng 4.** Giá trị chẩn đoán ung thư tụy của các chỉ điểm khi so sánh với CA 19-9 và CEA

Chỉ điểm	AUC	Khoảng tin cậy 95%	p* so với CA 19-9	p* so với CEA phối hợp CA 19-9
CA 19-9	0,804	0,709 - 0,875	-	0,152
CEA phối hợp CA 19-9	0,827	0,737 - 0,896	0,152	-
MAF <sup>mut</sup> KRAS ctDNA	0,790	0,694 - 0,864	0,831	0,507
MAF <sup>mut</sup> KRAS ctDNA phối hợp CA 19-9	0,885	0,804 - 0,940	<b>0,042</b>	0,104

\*Kiểm định DeLong

Giá trị chẩn đoán của MAF <sup>mut</sup>KRAS ctDNA không khác biệt so với CA 19-9 đơn độc. Tuy nhiên, khi phối hợp MAF <sup>mut</sup>KRAS ctDNA và CA 19-9 thì giá trị chẩn đoán tăng lên ở mức tốt với AUC = 0,885, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh với CA 19-9 đơn độc. Trong khi đó, sự phối hợp của CEA và CA 19-9 có giá trị chẩn đoán không khác biệt so với với CA 19-9 đơn độc.

#### 4. BÀN LUẬN

##### 4.1. Tỷ lệ đột biến *KRAS* trong ctDNA ở bệnh nhân mắc bệnh lý tụy bằng kỹ thuật droplet digital PCR

Chúng tôi đã tiến hành khảo sát 99 bệnh nhân có bệnh lý tụy gồm 51 bệnh nhân ung thư tụy và 48 bệnh nhân có bệnh tụy lành tính, gồm 20 bệnh nhân u nang tụy lành tính và 28 bệnh nhân viêm tụy mạn. Tuổi trung bình của mỗi nhóm bệnh nhân ung thư tụy, u nang tụy lành tính và viêm tụy mạn lần lượt là  $64,8 \pm 10,7$ ,  $45,7 \pm 17,1$  và  $51,5 \pm 16,4$ . Có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê về tuổi trung bình giữa các nhóm bệnh nhân, trong đó tuổi trung bình của nhóm bệnh nhân ung thư tụy cao nhất trong các nhóm. Độ tuổi trung bình trong nghiên cứu tương đồng với nghiên cứu trên các nhóm bệnh nhân tương ứng, nghiên cứu của Ko (2022) ở bệnh nhân ung thư tụy với tuổi trung bình  $64,2 \pm 10,9$  [19], nghiên cứu của Shi (2017) ở bệnh nhân nang tụy lành tính với tuổi trung bình là  $47,6 \pm 13,6$  [20], nghiên cứu của Olesen (2021) ở bệnh nhân viêm tụy mạn cho thấy tuổi bệnh nhân tăng từ 52,1 lên 60,0 trong suốt thời gian nghiên cứu [21]. Trong nhóm bệnh nhân viêm tụy mạn, tỷ lệ nam giới chiếm ưu thế rõ rệt lên tới 82,1%, trái ngược với hai nhóm còn lại nơi phân bố giới gần như tương đương. Bên cạnh đó, tỷ lệ uống rượu bia và hút thuốc lá trong nhóm cũng rất cao, lần lượt là 60,7% và 50,0%. Kết quả này phản ánh phần nào đặc điểm dịch tễ của viêm tụy mạn, khi các yếu tố nguy cơ chủ yếu của bệnh lý này như sử dụng rượu bia kéo dài và hút thuốc lá là những đặc điểm thường được ghi nhận ở nam giới [17,22]. Có mối liên quan hai chiều giữa đái tháo đường và ung thư tụy, đái tháo đường có thể là yếu tố nguy cơ và cũng có thể là một dấu chứng của ung thư tụy [23]. Bên cạnh đó, đái tháo đường cũng là biến chứng của viêm tụy mạn [24]. Điều này giải thích cho việc tỷ lệ bệnh nhân đái tháo đường ở nhóm ung thư tụy và viêm tụy mạn cao hơn đáng kể so với nhóm u nang tụy lành tính, lần lượt là 33,3% và 35,7% so với 5,0%.

Nghiên cứu chúng tôi cho thấy tỷ lệ phát hiện đột biến *KRAS* trong ctDNA huyết tương (*mutKRAS* ctDNA) ở nhóm bệnh nhân ung thư tụy cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm u nang tụy lành tính và nhóm viêm tụy mạn, lần lượt là 72,5%, 25,0% và 7,1% với  $p < 0,0001$ . Tỷ lệ phát hiện *mutKRAS* ctDNA giữa các nghiên cứu hiện nay có nhiều khác biệt. Nghiên cứu của Hadano (2016) và Lin (2018) có tỷ lệ phát hiện *mutKRAS* ctDNA khá thấp với chỉ 31% [25,26], trong khi tỷ lệ này ở nghiên cứu của Kim (2018) lên đến 77,9% [27]. Có nhiều nguyên nhân có thể dẫn đến sự khác biệt này như số lượng đột biến mà các bộ kit có thể phát hiện, độ nhạy của hệ thống phát hiện ctDNA

cũng như giai đoạn của khối u [28]. Qua nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy phần lớn các bệnh nhân ung thư tụy mang đột biến *KRAS* là tại codon 12/13, trong khi đột biến codon 61 chỉ được phát hiện trong 2 trường hợp, chiếm tỷ lệ 3,9%. Đặc biệt có một bệnh nhân ung thư tụy mang cả hai đột biến codon 12/13 và codon 61. Tác giả Jain (2024) cũng sử dụng hai bộ kit như chúng tôi, kết quả trong số 58 bệnh nhân ung thư tụy *mutKRAS* ctDNA dương tính, có 55 bệnh nhân mang đột biến codon 12/13 và 4 bệnh nhân mang đột biến codon 61, trong đó có 1 bệnh nhân mang cả hai đột biến [29]. Như vậy, có thể thấy rằng tỷ lệ phát hiện đột biến gene *KRAS* bị ảnh hưởng chủ yếu bởi bộ kit phát hiện đột biến ở vị trí codon 12/13. Điều này giải thích cho sự tương đồng của chúng tôi với nghiên cứu của Kim (2018) khi đều dùng bộ kit có khả năng phát hiện đến 7 loại đột biến *KRAS* tại codon 12/13, trong khi Hadano và Lin chỉ sử dụng bộ kit có khả năng phát hiện 3 loại đột biến tại codon 12.

Đáng chú ý, trong nhóm u nang tụy lành tính và viêm tụy mạn chúng tôi phát hiện *mutKRAS* ctDNA với tỷ lệ lần lượt là 25,0% và 7,1%. Nghiên cứu của Wang (2019) cũng phát hiện *mutKRAS* ctDNA với tỷ lệ tương tự là 20,9% [13]. Trong 7 trường hợp bệnh tụy lành tính có *mutKRAS* ctDNA dương tính bao gồm 2 ca viêm tụy mạn, 3 ca u nhú nhầy nội ống, 1 ca nang tụy và 1 ca u nang thanh dịch. U nhú nhầy nội ống là tổn thương lành tính đáng chú ý vì có nguy cơ cao tiến triển thành ung thư trong tương lai [30]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ *mutKRAS* ctDNA dương tính ở bệnh nhân u nhú nhầy nội ống cao lên đến 37,5%, cả 3 trường hợp sau đó đều được phẫu thuật và được xác nhận là loạn sản độ thấp. Kết quả này tương đồng với Nitschke (2025) khi nghiên cứu 25 bệnh nhân u nhú nhầy nội ống đã phẫu thuật cũng có đến 5 trường hợp (20%) có *mutKRAS* ctDNA dương tính và cũng đều là loạn sản độ thấp [31]. Tuy nhiên, Hata (2020) khi nghiên cứu 34 bệnh nhân u nhú nhầy nội ống chỉ phát hiện 2 bệnh nhân mang đột biến *KRAS* trong cfDNA, đáng chú ý là 1 trường hợp sau đó được xác nhận là ung thư tụy, tác giả cũng cho rằng những trường hợp u nhú nhầy nội ống mang đột biến *KRAS* có nguy cơ ác tính hoá cao [32]. Như vậy, những trường hợp thuộc nhóm bệnh lý tụy lành tính nhưng có *mutKRAS* ctDNA dương tính cần được tiếp tục theo dõi để có thể phát hiện sớm sự xuất hiện của ung thư tụy.

##### 4.2. Giá trị chẩn đoán ung thư tụy của đột biến *KRAS* trong ctDNA phổi hợp với các chỉ điểm sinh học truyền thống

Theo Mạng lưới ung thư toàn diện quốc gia Hoa Kỳ (NCCN: National Comprehensive Cancer Network), CA 19-9 là chỉ điểm sinh học duy nhất được khuyến

cáo ứng dụng trên lâm sàng để hỗ trợ chẩn đoán, tiên lượng và theo dõi trong điều trị ung thư tụy [33]. Để hỗ trợ chẩn đoán ung thư tụy, chỉ điểm sinh học CEA cũng được nhiều tác giả đề cập trong các nghiên cứu gần đây [34]. Do đó, nghiên cứu của chúng tôi cũng tập trung vào các chỉ số này và nhận thấy trung vị nồng độ của CA 19-9 và CEA đều cao hơn có ý nghĩa thống kê ở nhóm ung thư tụy so với nhóm u nang tụy lành tính và nhóm viêm tụy mạn (Bảng 3). Điều này cũng phù hợp với nhận định từ các nghiên cứu về các chỉ điểm sinh học trong ung thư tụy, trong đó CA 19-9 tăng trong hơn 80% trường hợp ung thư tụy [35], trong khi CEA tăng trong khoảng 30-60% trường hợp ung thư tụy [36].

Về chẩn đoán ung thư tụy, nghiên cứu của chúng tôi cho thấy giá trị chẩn đoán của CEA ở mức độ kém và CA 19-9 ở mức độ tốt với AUC lần lượt là 0,638 và 0,804 (Hình 1). Trong đó độ nhạy và độ đặc hiệu của CA 19-9 đều cao hơn so với CEA, lần lượt là 78,4% so với 72,0%, 87,5% so với 58,3%. Một số phân tích gộp về giá trị chẩn đoán của CEA và CA 19-9 cũng có cùng kết quả như nghiên cứu của chúng tôi. Cụ thể, tác giả Xing (2018) khi phân tích gộp trên 1.277 bệnh nhân ung thư tụy và 4.537 người tham gia đã cho thấy độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt của CEA là 0,50 và 0,78, của CA 19-9 là 0,80 và 0,75 [37]. Dù CEA tỏ ra yếu thế hơn so với CA 19-9 nhưng Kane (2022) trong phân tích gộp trên 5.885 nghiên cứu đã nhận định CEA là một chỉ điểm sinh học hứa hẹn trong chẩn đoán ung thư tụy, nhất là khi phối hợp cùng với CA 19-9 [38].

Tụy là cơ quan có vị trí giải phẫu đặc biệt, nằm sâu nên hầu như rất khó lấy mẫu sinh thiết theo cách tiếp cận thông thường. Bên cạnh CA 19-9 là chỉ điểm hoá sinh hiện nay được sử dụng phổ biến trên lâm sàng trong hỗ trợ chẩn đoán ung thư tụy, việc tìm kiếm và sử dụng các chỉ điểm sinh học khác đặc biệt là chỉ điểm không xâm nhập để thay thế hoặc phối hợp CA 19-9 là hết sức quan trọng. Trong bối cảnh đó, xét nghiệm *mut*KRAS ctDNA bằng kỹ thuật ddPCR được xem như là một cách tiếp cận của kỹ thuật sinh thiết lỏng, đã trở thành một trong những ứng viên hàng đầu để chúng tôi phân tích giá trị chẩn đoán trong ung thư tụy. Kết quả từ đường cong ROC ở Hình 2 cho thấy xét nghiệm *mut*KRAS ctDNA bằng kỹ thuật ddPCR có giá trị chẩn đoán ung thư tụy ở mức độ trung bình (AUC = 0,790), với giá trị ngưỡng MAF của *mut*KRAS ctDNA = 0,55%, độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 70,6% và 87,5%.

Khi so sánh với giá trị chẩn đoán của CA 19-9 đơn độc, kết quả kiểm định DeLong cho thấy MAF của *mut*KRAS ctDNA và CA 19-9 có giá trị chẩn đoán tương đương, với AUC lần lượt là 0,790 và 0,804 (Bảng 4).

Đáng lưu ý, khi phối hợp cả hai chỉ điểm là MAF của *mut*KRAS ctDNA và CA 19-9, giá trị chẩn đoán tăng lên hơn so với CA 19-9 đơn độc ( $p = 0,042$ ), gần tiệm cận với mức độ rất tốt, với AUC = 0,885, độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 86,3% và 83,3%. Wang (2019) phân tích đường cong ROC trên 95 bệnh nhân ung thư tụy và 43 bệnh nhân bệnh tụy lành tính đã xác nhận độ nhạy và độ đặc hiệu của *mut*KRAS ctDNA trong chẩn đoán ung thư tụy lần lượt là 47% và 80%, các giá trị này tăng lên đến 81% và 82% khi phối hợp với CA 19-9 [13]. Đây là điều mà chỉ điểm sinh học truyền thống CEA khi phối hợp với CA 19-9 không làm được, dù cũng làm tăng AUC từ 0,804 lên 0,827 nhưng khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,152$ ) (Bảng 4).

Mặc dù *mut*KRAS ctDNA được kỳ vọng là một chỉ điểm sinh học có giá trị chẩn đoán ung thư tụy, tuy nhiên tỷ lệ phát hiện đột biến này trong cfDNA thay đổi khá nhiều giữa các nghiên cứu, đặc biệt có liên quan đến giai đoạn bệnh, nên việc ứng dụng trong chẩn đoán có phần hạn chế với độ nhạy chưa thật sự cao, nhất là đối với nhóm bệnh nhân giai đoạn sớm. Tác giả Carrara (2026) trong bài tổng quan của mình cũng đưa ra nhận định về tỷ lệ phát hiện đột biến gene *KRAS* trong cfDNA ở bệnh nhân ung thư tụy tiến triển lên đến hơn 75%, nhưng tỷ lệ này thấp chỉ 48% ở các trường hợp ung thư tụy tại chỗ, khẳng định tầm quan trọng của giai đoạn khối u trong việc ảnh hưởng đến số lượng cfDNA, gây âm tính giả khi khối u ở giai đoạn sớm [39]. Nghiên cứu của Wang (2019) trên 95 bệnh nhân ung thư tụy cũng cho thấy tỷ lệ allele đột biến của gene *KRAS* trên ctDNA cao hơn có ý nghĩa thống kê ở nhóm giai đoạn IV so với nhóm giai đoạn I/II [13]. Nồng độ CA 19-9 huyết tương là một chỉ điểm được ứng dụng thường quy trong chẩn đoán và quản lý ung thư tụy. Tuy nhiên, CA 19-9 được đánh giá có hạn chế về độ đặc hiệu, có thể tăng trong một số bệnh lý khác như sỏi ống mật chủ, sỏi thận đường... Vì vậy, sự phối hợp hai chỉ điểm trong máu là *mut*KRAS ctDNA và CA 19-9 được nhiều tác giả quan tâm. Sự cải thiện đáng kể về độ nhạy đã được ghi nhận trong hầu hết các nghiên cứu [13], cũng như nghiên cứu của chúng tôi: từ 70,6% đối với *mut*KRAS ctDNA và 78,4% đối với CA 19-9, độ nhạy đã tăng lên 86,3% khi sử dụng phối hợp cả hai chỉ điểm này, trong khi đó độ đặc hiệu thay đổi không đáng kể, đạt 83,3%.

## 5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy nhóm bệnh nhân ung thư tụy có tỷ lệ đột biến *KRAS* trong ctDNA huyết tương cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm lành tính.

Trong các đột biến này, đột biến tại codon 12/13 chiếm đa số, đột biến tại codon 61 rất hiếm và có thể xảy ra tình trạng đồng đột biến cả codon 12/13 và codon 61. Hơn nữa, đột biến KRAS trong ctDNA có giá trị chẩn đoán ung thư tụy ở mức trung bình, tương đương với chỉ điểm sinh học truyền thống CA 19-9 và tăng lên gần đến mức rất tốt khi phối hợp với CA 19-9.

### Lời cảm ơn

Đây là kết quả của đề tài khoa học và công nghệ cấp Tỉnh (mã số TTH.2021-KC.22) được ngân sách nhà nước tỉnh Thừa Thiên - Huế (thành phố Huế) đầu tư.

### Tuyên bố về xung đột lợi ích

Các tác giả khẳng định không có xung đột lợi ích đối với các nghiên cứu, tác giả và xuất bản bài báo.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Muñoz AR, Chakravarthy D, Gong J, Halff GA, Ghosh R, Kumar AP. Pancreatic Cancer: Current Status and Challenges. *Current Pharmacology Reports*. Springer International Publishing; 2017. p. 396–408.
- Narayanan G, Hevert EA, Venkat SR. Pancreatic Cancer. In: Kapoor BS, Lorenz JM, editors. *Digestive Disease Interventions*. Stuttgart: Thieme Verlag; 2018. p. 206–14.
- Vareedayah AA, Alkaade S, Taylor JR. Pancreatic Adenocarcinoma. *Mo Med*. 2018;115:230–5.
- Hu JX, Lin YY, Zhao CF, Chen WB, Liu QC, Li QW, et al. Pancreatic cancer: A review of epidemiology, trend, and risk factors. *World J Gastroenterol*. 2021;27:4298–321.
- Siegel RL, Kratzer TB, Giaquinto AN, Sung H, Jemal A. Cancer statistics, 2025. *CA Cancer J Clin*. 2025;75:10–45.
- Ballehaninna UK, Chamberlain RS. Serum CA 19-9 as a Biomarker for Pancreatic Cancer-A Comprehensive Review. *Indian J Surg Oncol*. 2011;2:88–100.
- Locker GY, Hamilton S, Harris J, Jessup JM, Kemeny N, Macdonald JS, et al. ASCO 2006 Update of Recommendations for the Use of Tumor Markers in Gastrointestinal Cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2006;24:5313–27.
- Jakob Z, Günther SC, Marie-Christine S, Sebasta C. Clinical Relevance of Tumor Markers in Gastrointestinal Cancers: A Critical Analysis and Literature Review. *JSM Clinical Oncology and Research*. 2024;12:1–9.
- Zhang Y, Yang J, Li H, Wu Y, Zhang H, Chen W. Tumor markers CA19-9, CA242 and CEA in the diagnosis of pancreatic cancer: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8:11683.
- Reitz D, Gerger A, Seidel J, Kornprat P, Samonigg H, Stotz M, et al. Combination of tumour markers CEA and CA19-9 improves the prognostic prediction in patients with pancreatic cancer. *J Clin Pathol*. 2015;68:427–33.
- Wang M, Bu H, Luo W, Zeng X, Chen G, He Y, et al. CA19-9, CEA and PIVKA-II as a novel panel of serum markers for diagnosis of pancreatic cancer. *Clin Biochem*. 2025;137:110902.
- Forbes SA, Beare D, Boutselakis H, Bamford S, Bindal N, Tate J, et al. COSMIC: somatic cancer genetics at high-resolution. *Nucleic Acids Res*. 2017;45:D777–83.
- Wang ZY, Ding XQ, Zhu H, Wang RX, Pan XR, Tong JH. KRAS Mutant Allele Fraction in Circulating Cell-Free DNA Correlates With Clinical Stage in Pancreatic Cancer Patients. *Front Oncol*. 2019;9:487904.
- Huerta M, Roselló S, Sabater L, Ferrer A, Tarazona N, Roda D, et al. Circulating Tumor DNA Detection by Digital-Droplet PCR in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: A Systematic Review. *Cancers* 2021;13:994.
- Gardner TB, Adler DG, Forsmark CE, Sauer BG, Taylor JR, Whitcomb DC. ACG Clinical Guideline: Chronic Pancreatitis. *American Journal of Gastroenterology*. 2020;115:322–39.
- Shimizu K, Ito T, Irisawa A, Ohtsuka T, Ohara H, Kanno A, et al. Evidence-based clinical practice guidelines for chronic pancreatitis 2021. *Journal of Gastroenterology* 2022;57:709–24.
- Anaizi A, Hart PA, Conwell DL. Diagnosing Chronic Pancreatitis. *Dig Dis Sci*. 2017;62:1713–20.
- Hà Thị Minh Thị, Ngô Thị Diệu Hương, Lê Phan Tường Quỳnh, Trương Xuân Long, Trần Văn Huy, Nguyễn Thị Mai Ngân, và cs. Ứng dụng kỹ thuật Droplet Digital PCR để phát hiện đột biến gene KRAS của DNA khối u lưu hành trong máu ở bệnh nhân ung thư tụy. *Tạp chí Y Dược Huế*. 2025;15:93–9.
- Ko SW, Kim TH, Song TJ, Kim SH, Seo DW, Yoon JH, et al. Prognosis and Clinical Characteristics of Patients with Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Diagnosed by Endoscopic Ultrasonography but Indeterminate on Computed Tomography. *Gut Liver*. 2022;16:474–82.
- Shi Y, Gao F, Li Y, Tao S, Yu B, Liu Z, et al. Differentiation of benign and malignant solid pancreatic masses using magnetic resonance elastography with spin-echo echo planar imaging and three-dimensional inversion reconstruction: a prospective study. *European Radiology*. 2017;28:936–45.
- Olesen SS, Mortensen LH, Zinck E, Becker U, Drewes AM, Nøjgaard C, et al. Time trends in incidence and prevalence of chronic pancreatitis: A 25-year population-based nationwide study. *UEG Journal*. 2021;9:82–90.
- Masamune A, Kikuta K, Kume K. Alcohol and Smoking in Chronic Pancreatitis. In: *The Pancreas: an Integrated Textbook of Basic Science, Medicine, and Surgery, Fourth Edition*. Wiley; 2023. p. 396–403.
- Salvatore T, Marfella R, Rizzo MR, Sasso FC. Pancreatic cancer and diabetes: A two-way relationship in the perspective of diabetologist. *International Journal of Surgery*. 2015;21:S72–7.
- Goodarzi MO, Petrov MS, Andersen DK, Hart PA. Diabetes in chronic pancreatitis: Risk factors and natural

history. *Curr Opin Gastroenterol*. 2021;37:526–31.

25. Hadano N, Murakami Y, Uemura K, Hashimoto Y, Kondo N, Nakagawa N, et al. Prognostic value of circulating tumour DNA in patients undergoing curative resection for pancreatic cancer. *British Journal of Cancer*. 2016;115:59–65.

26. Lin M, Alnaggar M, Liang S, Chen J, Xu K, Dong S, et al. Circulating Tumor DNA as a Sensitive Marker in Patients Undergoing Irreversible Electroporation for Pancreatic Cancer. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2018;47:1556–64.

27. Kim MK, Woo SM, Park B, Yoon KA, Kim YH, Joo J, et al. Prognostic Implications of Multiplex Detection of KRAS Mutations in Cell-Free DNA from Patients with Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Clin Chem*. 2018;64:726–34.

28. Sivapalan L, Kocher HM, Ross-Adams H, Chelala C. Molecular profiling of ctDNA in pancreatic cancer: Opportunities and challenges for clinical application. *Pancreatol*. 2021;21:363–78.

29. Jain M, Atayan D, Rakhmatullin T, Dakhtler T, Popov P, Kim P, et al. Cell-Free Tumor DNA Detection-Based Liquid Biopsy of Plasma and Bile in Patients with Various Pancreatic Neoplasms. *Biomedicines*. 2024;12:220.

30. Fonseca AL, Kirkwood K, Kim MP, Maitra A, Koay EJ. Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas: Current Understanding and Future Directions for Stratification of Malignancy Risk. *Pancreas*. 2018;47:272–9.

31. Nitschke C, Tölle M, Walter P, Meißner K, Goetz M, Kropidlowski J, et al. KRAS and GNAS mutations in cell-free DNA and in circulating epithelial cells in patients with intraductal papillary mucinous neoplasms—an observational pilot study. *Mol Oncol*. 2025;19:2144–53.

32. Hata T, Mizuma M, Motoi F, Omori Y, Ishida M, Nakagawa K, et al. GNAS mutation detection in circulating

cell-free DNA is a specific predictor for intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas, especially for intestinal subtype. *Scientific Reports*. 2020;10:17761.

33. Tempero MA, Malafa MP, Al-Hawary M, Behrman SW, Benson AB, Cardin DB, et al. Pancreatic Adenocarcinoma, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2021;19:439–57.

34. Ni XG, Bai XF, Mao YL, Shao YF, Wu JX, Shan Y, et al. The clinical value of serum CEA, CA19-9, and CA242 in the diagnosis and prognosis of pancreatic cancer. *European Journal of Surgical Oncology*. 2005;31:164–9.

35. Donizeti de MEIRA-JÚNIOR J, Nogueira COSTA T, Luis MONTAGNINI A, Carlos NAHAS S, Jukemura J, Donizeti de Meira-Júnior J, et al. ELEVATED CA 19-9 IN AN ASYMPTOMATIC PATIENT: WHAT DOES IT MEAN? *ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*. 2022;35:e1687.

36. Ermiah E, Eddfair M, Abdulrahman O, Elfagieh M, Jebriel A, Al-Sharif M, et al. Prognostic value of serum CEA and CA19-9 levels in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Mol Clin Oncol*. 2022;17:1–10.

37. Xing H, Wang J, Wang Y, Tong M, Hu H, Huang C, et al. Diagnostic Value of CA 19-9 and Carcinoembryonic Antigen for Pancreatic Cancer: A Meta-Analysis. *Gastroenterol Res Pract*. 2018;2018:8704751.

38. Kane LE, Mellotte GS, Mylod E, O'Brien RM, O'Connell F, Buckley CE, et al. Diagnostic Accuracy of Blood-based Biomarkers for Pancreatic Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Cancer Research Communications*. 2022;2:1229–43.

39. Carrara S, Bevere M, Delle Cave D, Gentiluomo M, Esposito I, Luchini C. Liquid biopsy in pancreatic cancer: current advances, limitations, and future perspectives. *Digestive and Liver Disease*. 2026;58:726–36.