

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN**  
**TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC**

**LÊ VIỆT AN**

**NGHIÊN CỨU SỰ BIỂU LỘ VÀ MỐI LIÊN QUAN CỦA CÁC**  
**DẤU ÁN MIỄN DỊCH CỦA**  
**ALDEHYDE DEHYDROGENASE, KRAS Ở**  
**BỆNH NHÂN UNG THƯ DẠ DÀY**

Chuyên ngành: Nội khoa

Mã số: 9720107

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC**

**THÁI NGUYÊN - NĂM 2024**

Công trình được hoàn thành tại:  
Trường Đại học Y Dược, Đại học Thái Nguyên

Người hướng dẫn khoa học:  
1. PGS.TS. Dương Hồng Thái



Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp trường, họp  
tại: Trường Đại học Y Dược, Đại học Thái Nguyên  
Vào hồi giờ , ngày ... tháng ... năm 202..

Có thể tìm hiểu luận án tại thư viện:

1. Thư viện Đại học Thái Nguyên
2. Thư viện trường Đại học Y Dược, Đại học Thái Nguyên

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư dạ dày (UTDD), với chủ yếu là ung thư biểu mô dạ dày, là một trong số bệnh ung thư phổ biến trên thế giới. Theo ước tính của Globocan 2020, ung thư dạ dày đã gây ra khoảng 800.000 ca tử vong (chiếm 7,7% tổng số ca tử vong do ung thư) và là nguyên nhân gây tử vong do ung thư đứng hàng thứ tư ở cả hai giới cộng lại.

Trong khoảng 2 thập niên trở lại đây, sự biểu lộ của *Aldehyde dehydrogenase* và *KRAS* được biết đến như những marker quan trọng tham gia vào quá trình hình thành, phát triển và di căn của ung thư. Tuy nhiên, những hiểu biết về vai trò của *ALDH* đối với sự tiến triển cũng như sự di căn của ung thư dạ dày vẫn còn hạn chế. Bên cạnh đó, *KRAS* được biết đến như một gen đặc biệt quan trọng trong con đường tín hiệu ung thư. Hiện nay còn rất ít các nghiên cứu về mối liên hệ giữa mức độ biểu lộ của *KRAS* trong ung thư nói chung và ung thư dạ dày nói riêng.

Tại Việt Nam đã có một số công trình nghiên cứu về HMMD nhưng chưa có một nghiên cứu nào đề cập đến mối liên hệ giữa đồng biểu lộ của *ALDH* và *KRAS* với các đặc điểm lâm sàng mô bệnh học của UTDD. Chính vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài này với mục tiêu:

1. *Mô tả đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và sự biểu lộ các dấu ấn miễn dịch Aldehyde dehydrogenase, KRAS ở bệnh nhân ung thư dạ dày.*

2. *Phân tích mối liên quan giữa sự biểu lộ các dấu ấn miễn dịch Aldehyde dehydrogenase, KRAS với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của các bệnh nhân ung thư dạ dày.*

## ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

- Đây là nghiên cứu về sự biểu lộ của *ALDH* và *KRAS* lần đầu tiên được tiến hành tại Việt Nam.

- Kết quả nghiên cứu đã cho thấy tỷ lệ bệnh nhân có *ALDH* dương tính là 68,0%, *KRAS* dương tính là 55,3%.

- Sự biểu lộ của *ALDH* cao nhất ở thể tuyến ống (65,7%) theo đặc điểm mô bệnh học WHO. Sự biểu lộ của *ALDH* cao nhất (35,7%) ở độ biệt hóa thấp. Sự biểu lộ của *KRAS* cao nhất (33,3%) ở độ biệt hóa thấp. Sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn có tỷ lệ 34,0% ở mức độ biệt hóa thấp và vừa.

## CẤU TRÚC LUẬN ÁN

Luận án gồm 125 trang (không kể tài liệu tham khảo và phụ lục), 4 chương (đặt vấn đề 2 trang, tổng quan 38 trang, đối tượng và phương pháp nghiên cứu 23 trang, kết quả nghiên cứu 30 trang, bàn luận 29 trang, kết luận 2 trang, kiến nghị 1 trang), kết quả có 43 bảng, 4 biểu đồ, 23 hình, 129 tài liệu tham khảo (9 tiếng Việt, 120 tiếng Anh), 4 phụ lục.

## CHỮ VIẾT TẮT CHÍNH

- |                |  |
|----------------|--|
| 1. <i>ALDH</i> | <i>Aldehyde dehydrogenase</i>              |
| 2. <i>KRAS</i> | Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog |
| 3. HMMD        | Hóa mô miễn dịch                           |
| 4. UTDD        | Ung thư dạ dày                             |

## CHƯƠNG I

### TỔNG QUAN TÀI LIỆU

#### 1.1. Ứng dụng của *ALDH* trong UTDD

##### 1.1.1. Vai trò *ALDH* trong bảo vệ các tế bào ung thư

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. Ví dụ, *ALDH* có khả năng tái tạo NADPH, điều này phù hợp với khả năng chống oxy hóa tế bào. Thêm vào đó, *ALDH* cũng thường xuyên đồng biểu lộ ở mức cao với các nhân tố chống oxy hóa và các kênh vận chuyển thuốc trong tế bào. *ALDH1A1* và *ALDH1A3* có khả năng gây bất hoạt các enzyme với nhóm alkyl như oxazaphosphorines. Hơn nữa, *ALDH* có khả năng kháng các thuốc và các chất tương tự như doxorubicin, cisplatin, arbinofuranosyl citidine (Ara-C), temozolemid và taxanes mặc dù cơ chế vẫn chưa thực sự rõ ràng.

##### 1.1.2. Vai trò *ALDH* trong kháng trị

*Aldehyde dehydrogenase* là enzym tham gia vào quá trình khử độc, bảo vệ mô khỏi tác dụng độc hại của các aldehyde đã được biết đến từ lâu. *ALDH1A1* và *ALDH3A1* có thể bảo vệ tế bào chống lại tác dụng độc hại của thuốc. Những quan sát đầu tiên cách đây vài thập kỷ ở tế bào gốc tạo máu và tế bào gốc bạch cầu với *ALDH* có tính kháng thuốc cao với cyclophosphamide và các alkyl, *ALDH1A1* và *ALDH3A1* đã biến đổi cyclophosphamide ở dạng hoạt động và 4-hydroperoxycyclophosphamide thành dạng không hoạt động để bài tiết ra ngoài. Vì vậy, *ALDH* có thể gây kháng thuốc và kháng với xạ trị.

## 1.2. Ứng dụng của *KRAS* trong UTDD

### 1.2.1. Vai trò *KRAS* trong di căn ung thư dạ dày

Các gen mã hóa đường truyền tín hiệu Receptor Tyrosine Kinase (RTK)-RAS và chất ức chế khối u TP53 bị thay đổi lần lượt ở 60% và 50% ung thư biểu mô tuyến dạ dày. Họ protein *RAS* (ở người, *HRAS*, *KRAS* và *NRAS*) là các GTPase nhỏ liên quan đến quá trình truyền tín hiệu tế bào hỗ trợ sự phát triển và sống sót của tế bào. *KRAS* được khuếch đại hoặc đột biến ở 17% ung thư biểu mô tuyến dạ dày. Sau khi được kích thích bởi các thụ thể ngược dòng, *KRAS* chuyển từ dạng không hoạt động, gắn với GDP sang dạng hoạt động, gắn với GTP. Sự thay đổi về hình dạng này dẫn đến sự ràng buộc của nó với RAF. *KRAS* tuyển dụng RAF vào màng nơi thúc đẩy kích hoạt và thu nhỏ RAF. Phosphoryl hóa RAF được kích hoạt và kích hoạt MEK, và photphoryl hóa MEK được kích hoạt và kích hoạt ERK.

Có một số bằng chứng cho thấy tín hiệu RTK-RAS rất quan trọng trong quá trình chuyển từ biểu mô sang trung mô (EMT) và duy trì các tế bào gốc ung thư dạ dày (CSC). Sự tồn tại, đặc điểm, hoạt động của tế bào gốc ung thư vẫn còn gây tranh cãi, chia sẻ các đặc tính của tế bào gốc bình thường như khả năng tự đổi mới và biệt hóa, và có thể là nguồn di căn. Nhiều sự khác biệt về kiểu hình giữa tế bào gốc ung thư và tế bào khối u thiếu thân có thể là do những thay đổi biểu sinh do chương trình EMT gây ra. Mặc dù vai trò của con đường RTK-RAS trong EMT và tế bào gốc ung thư đã được nghiên cứu rộng rãi hơn ở các loại ung thư khác, nhưng có rất ít nghiên cứu cụ thể về ung thư biểu mô tuyến dạ dày.

### 1.2.2. Vai trò *KRAS* trong kháng trị

Một nghiên cứu tổng hợp của Hewitt, Lindsay C. thống kê có khoảng 64 nghiên cứu đã báo cáo về tỷ lệ đột biến *KRAS* ở UTDD, với phần lớn các nghiên cứu (61%) có nguồn gốc từ Châu Á. Hai nghiên cứu so sánh đột biến *KRAS* giữa bệnh nhân UTDD từ phương Đông và phương Tây (37,38). Bốn mươi lăm (70%) nghiên cứu đã điều tra tình trạng đột biến *KRAS* trong các nhóm bệnh nhân bao gồm ít hơn 100 bệnh nhân. Phần lớn các nghiên cứu (70%) điều tra tình trạng đột biến *KRAS* ở dưới 100 bệnh nhân. Những nghiên cứu nhỏ như vậy có thể không đại diện cho quần thể bệnh nhân UTDD. Do đó, hai trong số các nghiên cứu nhỏ nhất với năm và bảy bệnh nhân đã báo cáo một số tỷ lệ đột biến *KRAS* cao nhất, lần lượt là 20% và 29%. Hơn nữa, hai mươi hai (34%) nghiên cứu điều tra các đột biến *KRAS* đã lựa chọn có chú ý các phân nhóm bệnh nhân UTDD để nghiên cứu tình trạng đột biến *KRAS/BRAF*, chẳng hạn như bệnh tiến triển và/hoặc di căn và bệnh sớm.

Giá trị tiên đoán của các đột biến *KRAS* và *BRAF* trong UTDD kém rõ ràng hơn nhiều. Trong ống nghiệm, một số nghiên cứu trên các dòng tế bào UTDD, *KRAS* đã báo cáo độ nhạy cảm với các thuốc nhắm mục tiêu EGFR. Các nhà điều tra khác báo cáo rằng, cả hai dòng tế bào UTDD đột biến và UTDD đều kháng cetuximab. Trong xenograft UTDD, quá trình chết theo chương trình chỉ được gây ra trong các tế bào khối u dạ dày do *KRAS* được điều trị bằng Cetuximab. Cetuximab đã được chứng minh là làm giảm thể tích khối u, sự lan rộng và hình thành mạch máu trong xenograft, biểu lộ EGFR.

## CHƯƠNG II

### ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là 103 bệnh nhân được chẩn đoán xác định ung thư dạ dày và được phẫu thuật cắt bỏ khối u tại Bệnh viện K, cơ sở 1, Quán Sứ, Hà Nội, từ tháng 5 năm 2017 đến tháng 5 năm 2020.

##### 2.1.1 Tiêu chuẩn chọn

Các bệnh nhân được lựa chọn vào nghiên cứu khi có các tiêu chuẩn sau:

- Bệnh nhân được chẩn đoán xác định là ung thư biểu mô dạ dày nguyên phát bằng mô bệnh học theo tiêu chuẩn ESMO năm 2016.
- Bệnh nhân được điều trị phẫu thuật cắt u kèm vét hạch vùng.
- Các mẫu mô đủ để làm hóa mô miễn dịch.
- Bệnh nhân đồng ý, tự nguyện tham gia vào nghiên cứu.

##### 2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- UTDD di căn từ cơ quan khác đến.
- UTDD tái phát.
- Có một ung thư khác phối hợp với UTDD.
- Đã được điều trị tân bổ trợ bằng hóa chất.

#### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu theo phương pháp mô tả cắt ngang.

#### 2.3. Các tiêu chuẩn, phân loại chính trong nghiên cứu



- Hình thái khối u theo Borrmann: Borrmann týp I (Dạng Polyp), Borrmann týp II (Dạng nằm), Borrmann týp III (Dạng loét), Borrmann týp IV (Dạng thâm nhiễm).

- Đặc điểm mô bệnh học theo phân loại của Lauren, gồm:

+ Thể ruột, thể lan tỏa, thể hỗn hợp.

- Đặc điểm mô bệnh học theo phân loại của WHO năm 2010, gồm: Ung thư biểu mô tuyến thể nhú (Papillary adenocarcinoma), ung thư biểu mô tuyến thể ống nhỏ (Tubular adenocarcinoma), ung thư biểu mô tuyến thể nhầy (Mucinous adenocarcinoma), ung thư biểu mô thể tế bào nhẫn (Signet-ring cell carcinoma), ung thư biểu mô thể tuyến vảy (Adenosquamous carcinoma), ung thư biểu mô thể tế bào vảy (Squamous cell carcinoma), ung thư biểu mô thể tế bào nhỏ (Small cell carcinoma), ung thư biểu mô thể không biệt hóa (Undifferentiated carcinoma), ung thư biểu mô khác (Other carcinoma).

- Phân loại mức độ biệt hóa mô bệnh học theo WHO năm 2010:

+ Thể biệt hóa thấp.

+ Thể biệt hoá vừa.

+ Thể biệt hóa cao.

- Phân loại giai đoạn TNM và giai đoạn ung thư theo AJCC 2009.

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

- Đánh giá mức độ biểu lộ của dấu ấn *KRAS* trong mẫu ung thư và mẫu đối chứng theo các mức độ: 0, 1+, 2+, 3+. Mức độ biểu lộ

của *KRAS* là 0 và 1+ đánh giá là âm tính, mức độ biểu lộ của *KRAS* là 2+ và 3+ đánh giá là dương tính.

#### **2.4. Phương pháp thu thập số liệu**

##### **2.4.1. Khám bệnh nhân và các chỉ định cận lâm sàng**

- Các bệnh nhân đến viện được hỏi tiền sử, thăm khám lâm sàng, chỉ định làm xét nghiệm huyết học, sinh hóa, đông máu, miễn dịch. Bệnh nhân được chỉ định làm nội soi dạ dày, khi thấy khối u dạ dày sẽ tiến hành sinh thiết trong lúc soi.

##### **2.4.2. Nội soi dạ dày có sinh thiết**

- Đưa máy soi qua miệng, họng vào thực quản, dạ dày, xuống tá tràng bơm hơi và quan sát.

- Nếu phát hiện tổn thương, mô tả tổn thương: vị trí, kích thước, hình thái; bơm rửa sạch, sau đó quan sát kỹ bằng chế độ NBI và near focus để đánh giá, sinh thiết làm giải phẫu bệnh.

- Bệnh phẩm được cố định vào ống có chứa Formol 20% đệm trung tính.

##### **2.4.3. Phẫu thuật cắt u và cách xử lý mẫu mô u**

- 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 nền phục vụ cho xét nghiệm mô bệnh học.

##### **2.4.4. Thu thập dữ liệu mô bệnh học**

###### **\* Nơi thực hiện**

Phòng xét nghiệm Inserm U1312, Đại học Bordeaux, Pháp.

**\* Kỹ thuật**

- Phân tích mô bệnh học bằng phương pháp nhuộm HE thường quy.

**2.4.5. Thu thập dữ liệu hóa mô miễn dịch ALDH và KRAS**

**\* Nơi thực hiện**

Phòng xét nghiệm Inserm U1312, Đại học Bordeaux, Pháp.

**\* Phương tiện:**

- Dung dịch và hóa chất:

+ Xylen (Hóa chất phân tích, code 1330-20-7).

+ Ethanol (Hóa chất phân tích, code 64-17-5).

+ Đệm TBST.

+ Đệm Citric pH6 (Abcam, mã số: ab93678).

+ Bộ kit nhuộm hóa mô miễn dịch Mouse specific HRP/ĐAB (ABC) Detection IHC Kit (Abcam, code: ab64259).

+ Dung dịch nhuộm Hematocilin (Abcam, code: ab220365).

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

+ Kháng thể đơn dòng KRAS (Abcam).

- Thiết bị:

+ Máy cắt tiêu bản mô (Leica).

+ Lam kính bán dính cao (Leica).

+ Lamén (Leica).

+ Bể nhuộm hóa mô (Leica).

+ Bể tạo ẩm (thermofisher).

+ Nồi áp suất (Philips).

+ Bút chống nước Liquid Blocker Super Pap pen (Daido Sangyo – Nhật Bản).

+ Kính hiển vi Olympus CX23 và kính hiển vi chụp ảnh.

**\* Các bước tiến hành:**

**- Bước 1: Loại parafin**

+ Các lát cắt mô được rửa 3 lần bằng dung dịch xylene, mỗi lần 5 phút.

+ Rửa hai lần với ethanol 100%, mỗi lần 10 phút.

+ Rửa hai lần với ethanol 95%, mỗi lần 10 phút.

+ Rửa hai lần bằng nước, mỗi lần 5 phút.

*Chú ý: Luôn tránh để khô mô ở bất kỳ thời gian nào của quá trình này.*

**- Bước 2: Bộc lộ kháng nguyên**

+ Đặt các lam kính chứa các lát cắt mô đã loại parafin trong hộp chứa dung dịch đệm Citrate pH6. Các hộp này được đặt trong nồi áp suất và đóng nắp an toàn. Bật chế độ áp suất 95°C – 98°C trong khoảng thời gian 30 phút. Tiếp theo, đặt hộp dung dịch đệm chứa các lam kính ra bên ngoài môi trường trong thời gian 30 phút để nhiệt độ giảm dần.

+ Rửa bằng đệm TBST1X, 1 lần trong 5 phút.

+ 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. Rửa 2 lần bằng đệm TBST 1X, mỗi lần 5 phút.

+ Bổ sung 50 µl Protein block và ủ trong 10 phút tại nhiệt độ phòng để ngăn hiện tượng nhuộm không đặc hiệu. Rửa 1 lần bằng đệm TBST 1X.

+ Bổ sung 50 µl dung dịch kháng thể 1 pha trong dung dịch Protein Block, ủ 1h ở nhiệt độ phòng. Rửa 2 lần bằng đệm TBST, mỗi lần 5 phút.

+ Bổ sung 50 µl dung dịch Biotinylated Goat Anti-Mouse và

ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. Tiếp theo rửa bằng đệm TBST 1X (hai lần, mỗi lần 5 phút).

+ Bổ sung 50  $\mu$ l Streptavidin Peroxidase và ủ 10 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó rửa 4 lần bằng đệm TBST, mỗi lần 5 phút.

+ Thêm 1 giọt dung dịch DAB Chromogen vào 1,5 ml cơ chất DAB, vortex đều và hút 50  $\mu$ l dung dịch sau khi trộn phủ lên phần mô cắt. Ủ 5 phút ở nhiệt độ phòng. Rửa 4 lần bằng đệm TBST 1X, mỗi lần 5 phút.

+ Đặt lam chứa lát cắt mô trong dung dịch Hematocilin 3 phút.

+ Khử nước.

+ Ủ lam chứa lát cắt mô trong dung dịch ethanol 95%, lặp lại lần 2, mỗi lần 3 phút.

+ Ủ trong dung dịch ethanol 100%, lặp lại lần 2, mỗi lần 3 phút.

+ Ủ trong dung dịch xylen 2 lần, mỗi lần 3 phút.

+ Gắn lamen bằng dung dịch SignalStain Mounting Medium.

**\* *Phiên giải kết quả xét nghiệm hóa mô miễn dịch:***

Phiên giải kết quả nhuộm hoá mô miễn dịch dưới kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 10 x 40 lần được thực hiện bởi bác sĩ chuyên khoa giải phẫu bệnh có kinh nghiệm.

**2.5. *Xử lý số liệu***

Số liệu được xử lý bằng phần mềm thống kê y học SPSS 22.0.

### CHƯƠNG III

#### KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Sau khi nghiên cứu trên 103 bệnh nhân UTDD chúng tôi thu được một số kết quả như sau:

#### **3.1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và sự biểu lộ các dấu ấn miễn dịch *ALDH*, *KRAS* ở bệnh nhân ung thư dạ dày**

- Phần lớn các bệnh nhân từ 50 tuổi trở lên, trong đó nhóm tuổi từ 60-69 chiếm tỷ lệ cao nhất (35,0%).
- 99,0% bệnh nhân vào viện vì đau thượng vị, lý do vào viện phổ biến thứ 2 là sút cân với tỷ lệ 29,1%.
- Vị trí u thường gặp nhất là hang vị (52,4%), tiếp theo là ở bờ cong nhỏ (29,1%). Các vị trí khác như thân vị, bờ cong lớn, môn vị có tỷ lệ thấp.
- UTDD dạng loét theo phân loại Borrmann chiếm tỷ lệ cao nhất với 66,0%. Tiếp theo là UTDD dạng nắm và dạng thâm nhiễm.
- Theo hệ thống phân loại của Lauren, trong nghiên cứu này thể ruột chiếm tỷ lệ 67,0%, chỉ có 33,0% số trường hợp UTDD ở thể lan tỏa.
- Theo hệ thống phân loại của WHO, thể tuyến ống chiếm tỷ lệ cao nhất với 57,3%, tiếp theo là thể tế bào nhân 30,1%.
- Phân theo mức độ biệt hóa của WHO, UTDD biệt hóa thấp chiếm tỷ lệ cao nhất với 32,0%, thấp nhất là thể biệt hóa cao chiếm 2,9%.
- UTDD giai đoạn III có tỷ lệ cao nhất với 63,1%, tiếp theo là giai đoạn II với tỷ lệ 31,1%.
- Tỷ lệ bệnh nhân có *ALDH* dương tính là 68,0%, bệnh nhân âm tính với *ALDH* là 32,0%.

- Tỷ lệ bệnh nhân có *KRAS* dương tính là 55,3%, bệnh nhân âm tính với *KRAS* là 44,7%.

- 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 3.1.** Liên quan giữa biểu lộ *ALDH* và *KRAS* trong UTDD

		Biểu lộ <i>ALDH</i>				p
		Âm tính		Dương tính		
		n	%	n	%	
Biểu lộ <i>KRAS</i>	Âm tính	26	78,8	20	28,6	0,001
	Dương tính	7	21,2	50	71,4	
Tổng số		33	100,0	70	100,0	

**3.2. Môi liên quan giữa *ALDH*, *KRAS* với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng**

**3.2.1. Môi liên quan giữa *ALDH* với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng**

**Bảng 3.2.** Sự biểu lộ của *ALDH* theo đặc điểm mô bệnh học WHO

WHO	Biểu lộ <i>ALDH</i>		Dương tính		p
	Âm tính		n	%	
	n	%	n	%	
Ung thư biểu mô tuyến nhú	0	0	1	1,4	0,01
Ung thư biểu mô tuyến ống	13	39,4	46	65,7	
Ung thư biểu mô tuyến nhày	6	18,2	3	4,4	
Ung thư biểu mô tế bào nhân	12	36,3	19	27,1	
Ung thư biểu mô tế bào vảy	2	6,1	0	0	
Thể khác	0	0	1	1,4	
Tổng số	33	100,0	70	100,0	

Bệnh nhân UTDD thể tuyến ống có tỷ lệ biểu lộ *ALDH* cao nhất với 65,7%.

**Bảng 3.3.** Sự biểu lộ của *ALDH* theo độ biệt hóa

Độ biệt hóa \ Biểu lộ <i>ALDH</i>	Âm tính		Dương tính		P
	n	%	n	%	
Biệt hóa thấp	8	24,2	25	35,7	0,012
Biệt hóa vừa	3	9,1	21	30,0	
Biệt hóa cao	2	6,1	1	1,4	
Không phân loại	20	60,6	23	32,9	
Tổng số	33	100,0	70	100,0	

Sự biểu lộ *ALDH* theo mức độ biệt hóa thấp chiếm tỷ lệ 35,7%. Có sự khác biệt về sự biểu lộ *ALDH* theo độ biệt hóa,  $p < 0,05$ .

**Bảng 3.27.** Sự biểu lộ của *ALDH* theo giai đoạn bệnh

Giai đoạn \ Biểu lộ <i>ALDH</i>	Âm tính		Dương tính		P
	n	%	n	%	
Giai đoạn I	1	3,0	3	4,3	0,77
Giai đoạn II	11	33,3	21	30,0	
Giai đoạn III	21	63,7	44	62,9	
Giai đoạn IV	0	0	2	2,8	
Tổng số	33	100,0	70	100,0	

Bệnh nhân UTDD giai đoạn III có tỷ lệ biểu lộ *ALDH* cao nhất với 62,9%, bệnh nhân UTDD giai đoạn IV có tỷ lệ biểu lộ thấp nhất với 2,8%.



### 3.2.2. Mối liên quan giữa KRAS với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng

**Bảng 3.4.** Sự biểu lộ của KRAS theo độ biệt hóa

Biểu lộ KRAS Độ biệt hóa	Âm tính		Dương tính		P
	n	%	n	%	
Biệt hóa thấp	14	30,4	19	33,3	0,227
Biệt hóa vừa	7	15,2	17	29,8	
Biệt hóa cao	2	4,3	1	1,8	
Không phân loại	23	50,0	20	35,1	
Tổng số	46	100,0	57	100,0	

Bệnh nhân UTDD biệt hóa thấp có tỷ lệ biểu lộ KRAS cao nhất với 33,3%, tiếp theo là u biệt hóa vừa có tỷ lệ biểu lộ KRAS là 29,8%, bệnh nhân có u biệt hóa cao có tỷ lệ biểu lộ thấp nhất với 1,8%.

### 3.2.3. Liên quan giữa sự biểu lộ đồng thời của ALDH, KRAS với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng

**Bảng 3.5.** Sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn theo độ biệt hóa

Độ biệt hóa Dấu ấn	Số dấu ấn dương tính			P
	0 dấu ấn	1 dấu ấn	2 dấu ấn	
Biệt hóa thấp	6 23,1%	10 37,0%	17 34,0%	0,047
Biệt hóa vừa	3 11,5%	4 14,8%	17 34,0%	
Biệt hóa cao	1 3,8%	2 7,4%	0 0%	
Không phân loại	16 61,6	11 40,8	16 32,0	

Bệnh nhân UTDD biệt hóa thấp và vừa có tỷ lệ biểu lộ đồng thời cả 2 dấu ấn với 34,0%. Có sự khác biệt về sự biểu lộ đồng thời cả 2 dấu ấn theo độ biệt hóa,  $p < 0,05$ .

**Bảng 3.6.** Sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn theo giai đoạn bệnh

Dấu ấn Giai đoạn	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	0,23
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	

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

## CHƯƠNG IV

### BÀN LUẬN

#### 4.1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và sự biểu lộ các dấu ấn miễn dịch ALDH, KRAS ở bệnh nhân ung thư dạ dày

##### 4.1.1. Một số đặc điểm lâm sàng, nội soi và mô bệnh học

###### 4.1.1.1. Đặc điểm tuổi, giới

Trong nghiên cứu này tôi tiến hành cứu trên 103 bệnh nhân cho kết quả phần lớn các bệnh nhân từ 50 tuổi trở lên, trong đó nhóm tuổi từ 60-69 chiếm tỷ lệ cao nhất (35,0%) (Bảng 3.1).

###### 4.1.1.2. Đặc điểm lâm sàng

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tùy vào giai đoạn của ung thư được phát hiện mà số lượng cũng như mức độ biểu lộ của các triệu chứng lâm sàng là không giống nhau, có thể thấy không có triệu chứng lâm sàng nào là triệu chứng chính, tuy nhiên, một số đặc điểm lâm sàng phổ biến hay gặp là đau bụng thượng vị, buồn nôn và sụt cân. Trong nghiên cứu này biểu lộ lâm sàng hay gặp nhất là đau thượng vị chiếm tỷ lệ 99,0%, các biểu lộ lâm sàng khác có gặp nhưng chiếm tỷ lệ thấp hơn (Bảng 3.5).

###### 4.1.1.3. Đặc điểm nội soi

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy vị trí u thường gặp nhất là hang vị chiếm tỷ lệ 52,4%, tiếp theo là bờ cong nhỏ 29,1%. Các vị trí khác như thân vị, bờ cong lớn, môn vị có gặp nhưng chiếm tỷ lệ thấp.

###### 4.1.1.4. Đặc điểm mô bệnh học

\* Phân loại mô bệnh học theo Lauren và WHO

Theo hệ thống phân loại của Lauren, trong nghiên cứu này chúng tôi xác định được thể ruột chiếm tỷ lệ 67,0%, chỉ có 33,0% số

trường hợp UTDD ở dạng thể lan tỏa, như vậy tỷ lệ này là 2,03:1 (bảng 3.8).

Phân loại Theo mức độ biệt hóa của WHO, trong nghiên cứu của chúng tôi, UTDD thể biệt hóa thấp chiếm tỷ lệ cao nhất 33,3%, thể biệt hóa vừa chiếm tỷ lệ 23,3% và thấp nhất là thể biệt hóa cao 2,9% (bảng 3.10). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có sự tương đồng với nghiên cứu trước đó của Nguyễn Quang Bộ với tỷ lệ biệt hóa thấp chiếm tỷ lệ cao nhất là 39,6%, thể biệt hóa vừa 26,4%, thể biệt hóa cao 24,5%.

#### **4.1.2. Sự biểu lộ dấu ấn miễn dịch ALDH, KRAS**

##### **4.1.2.1. Sự biểu lộ của ALDH ở bệnh nhân ung thư dạ dày**

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy: Tỷ lệ biểu lộ ALDH là 68,0%. Tỷ lệ này tương đương với các nghiên cứu khác. Như trong nghiên cứu của Nguyễn Khắc Tấn, tỷ lệ biểu lộ ALDH là 61.2%.

##### **4.1.2.2. Sự biểu lộ KRAS ở bệnh nhân ung thư dạ dày**

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ biểu lộ KRAS là 55,3%. Tỷ lệ này tương đương với các nghiên cứu khác. Như trong nghiên cứu của Polom, K. phân tích vai trò của trạng thái KRAS trong UTDD thực hiện phân tích trên 595 bệnh nhân, dùng phản ứng chuỗi polymerase (PCR) để sàng lọc đột biến KRAS (exon 2). Đột biến KRAS được thấy ở 24 bệnh nhân. Bệnh nhân đột biến KRAS lớn tuổi hơn và chủ yếu là nữ biểu lộ giai đoạn T và N tiến triển hơn của bệnh, nhiều khối u di căn hơn và cần điều trị hỗ trợ nhiều hơn. Tỷ lệ sống sót sau năm năm là 72,2% đối với bệnh nhân đột biến KRAS. Trong phân tích đa biến, KRAS có tỷ lệ sống sót kém hơn ( $p = 0,304$ ).

## 4.2. Mối liên quan giữa *ALDH*, *KRAS* với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng

### 4.2.1. Mối liên quan giữa *ALDH* với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng

Bệnh nhân UTDD thể tuyến ống có tỷ lệ biểu lộ *ALDH* cao nhất với 65,7%. Ngoài ra bệnh nhân UTDD biệt hóa thấp có tỷ lệ biểu lộ *ALDH* cao nhất với 35,7%, tiếp theo là u biệt hóa vừa có tỷ lệ biểu lộ *ALDH* là 30,0%, bệnh nhân có u biệt hóa cao có tỷ lệ biểu lộ thấp nhất với 1,4%. Có sự khác biệt về sự biểu lộ *ALDH* theo độ biệt hóa,  $p < 0,05$ .

Wakamatsu và cộng sự báo cáo rằng *ALDH1* có liên quan đến giai đoạn T tiến triển, giai đoạn TNM, mô học đường ruột và thời gian sống toàn bộ sau 5 năm kém. Hơn nữa, Zhang et al. 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. Mặc dù còn có sự mâu thuẫn giữa kết quả của các nghiên cứu này, nhưng hầu hết các phát hiện đều khá nhất quán. Do đó, *ALDH1* có thể là một dấu hiệu chẩn đoán và tiên lượng hữu ích cho UTDD.

Li và cộng sự báo cáo rằng *ALDH1A1* là liên quan đáng kể với độ sâu xâm lấn, hạch bạch huyết di căn và giai đoạn bệnh. Ngoài ra, thời gian sống sót (sống sót chung và sống sót không tái phát) của bệnh nhân ung thư dạ dày có *ALDH1A1* biểu lộ cao ngắn hơn đáng kể so với những người có biểu lộ *ALDH1A1* thấp.

### 4.2.2. Mối liên quan giữa *KRAS* với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng

Không có sự khác biệt về sự biểu lộ *KRAS* theo độ biệt hóa. Trong phân tích gộp của Lindsay C. Hewitt, có 15 (23%) nghiên cứu

đã điều tra mối quan hệ giữa *KRAS* và mức độ biệt hóa của khối u và cho kết quả trái ngược nhau. Một (7%) nghiên cứu chỉ ra rằng tỷ lệ *KRAS* nhiều hơn đáng kể ở các khối u dạ dày biệt hóa vừa về mặt mô học (82), ba (20%) nghiên cứu cho thấy tỷ lệ *KRAS* cao hơn ở các UTDD biệt hóa tốt trong khi chín (60%) nghiên cứu báo cáo tỷ lệ đột biến *KRAS* cao hơn trong các ung thư dạ dày kém biệt hóa. Hai nghiên cứu (13%) cho thấy tỷ lệ *KRAS* giống nhau đột biến ở UTDD biệt hóa tốt và kém. Khi so sánh với nghiên cứu của chúng tôi, các bệnh nhân ung thư dạ dày có mức độ biệt hóa càng kém, tỷ lệ biểu lộ *KRAS* càng cao ( $p < 0,05$ ). Để giải thích cho tình trạng này cần có các nghiên cứu sâu xa hơn về mối liên quan giữa mức độ biệt hóa của khối u và tỷ lệ *KRAS* ở bệnh nhân UTDD.

Tỷ lệ biểu lộ *KRAS* ở các bệnh nhân có phân giai đoạn III (61,4%) cao hơn so với các giai đoạn khác, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Về bản chất, Gen *KRAS* (Kirsten rat sarcoma 2 viral oncogen homolog) mã hóa cho các protein *KRAS* đóng vai trò truyền tín hiệu nội bào xuôi dòng từ thụ thể phát triển biểu mô. Protein này có hoạt tính serine/threonine với chức năng truyền tín hiệu nội bào xuôi dòng từ các thụ thể phát triển biểu mô trên bề mặt tế bào tới các mục tiêu nội bào thông qua các dòng thác tín hiệu (hình). Trong tế bào protein RAS được giữ cân bằng thông qua sự hình thành hai phức hợp tương ứng với các trạng thái hoạt hóa và ức chế của protein RAS: Phức hợp RAS-GTP (protein RAS được hoạt hóa) và phức hợp RAS-GDP (protein RAS bị bất hoạt). Protein RAS được hoạt hóa nhờ yếu tố chuyển nucleotide guanine (guanine nucleotide exchange factors – GEFs). Việc truyền tín hiệu của proteine RAS bị ức chế khi phức hợp RAS-GTP bị thủy phân thành phức hợp RAS-GDP

nhờ một loại protein có chức năng hoạt hóa GTPase (GAPs). Trong điều kiện sinh lý bình thường, nồng độ RAS-GTP trong cơ thể được kiểm soát chặt chẽ nhờ sự hoạt động nhịp nhàng của 2 yếu tố GEFs và GAPs. Chúng làm cho protein phức hợp RAS-GTP đề kháng với sự thủy phân của GTPase, do đó dẫn đến sự hoạt động *KRAS*-GTP tăng lên vô tận, dẫn đến kích hoạt độc lập tín hiệu xuôi dòng các con đường tín hiệu trong tế bào, kích thích tăng sinh, ức chế apoptosis và điều chỉnh sự tăng trưởng và kéo dài đời sống tế bào dẫn đến.

#### **4.2.3. Mối liên quan giữa sự biểu lộ đồng thời của *ALDH*, *KRAS* với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng**

Cho đến nay hầu như chưa có nghiên cứu về sự biểu lộ đồng thời của cả *ALDH*, *KRAS* trên bệnh nhân UTDD, vì vậy mối liên quan giữa sự biểu lộ đồng thời của các dấu ấn này với đặc điểm lâm sàng, đặc điểm nội soi và mô bệnh học là chưa có thông tin. Sau khi tiến hành xét nghiệm đồng thời 2 dấu ấn *ALDH*, *KRAS* và phân tích mối liên quan thì chúng tôi thấy, bệnh nhân UTDD biệt hóa thấp và vừa có tỷ lệ biểu lộ đồng thời cả 2 dấu ấn với 34,0%. Có sự khác biệt về sự biểu lộ đồng thời cả 2 dấu ấn theo độ biệt hóa,  $p < 0,05$ . Kết quả nghiên cứu sự biểu lộ đồng thời của *ALDH*, *KRAS* trong nghiên cứu này cho thấy rằng các dấu ấn hóa mô miễn dịch UTDD kể trên có mối liên quan với các yếu tố như thể tuyến ống theo đặc điểm mô bệnh học WHO và độ biệt hóa thấp, đây là nguồn thông tin bổ sung rất giá trị để phát triển các liệu pháp điều trị hiệu quả hơn cho bệnh nhân UTDD.

## KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu về một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng, xét nghiệm hóa mô miễn dịch *ALDH*, *KRAS* trên bệnh nhân ung thư dạ dày được điều trị tại Bệnh viện K, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

### 1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và sự biểu lộ các dấu ấn miễn dịch *Aldehyde dehydrogenase*, *KRAS* ở bệnh nhân ung thư dạ dày

- Nhóm tuổi bệnh nhân UTDD từ 60-69 chiếm tỷ lệ cao nhất (35,0%), tuổi trung bình là  $57,9 \pm 11,4$ . Tỷ lệ UTDD ở nam giới là 59,2%, nữ giới là 40,8%.

- Triệu chứng lâm sàng thường gặp nhất là đau thượng vị (99,0%).

- UTDD gặp nhiều nhất ở vị trí hang vị (52,4%), dạng loét theo Borrmann chiếm tỷ lệ cao nhất (66,0%).

- Phân loại mô bệnh học theo Lauren thấy thể ruột chiếm tỷ lệ cao nhất (67,0%), phân loại mô bệnh học theo WHO thấy thể tuyến ống chiếm tỷ lệ cao nhất (57,3%), độ biệt hóa thấp theo WHO chiếm tỷ lệ cao nhất (32,0%).

- Tỷ lệ bệnh nhân có *ALDH* dương tính là 68,0%, bệnh nhân âm tính với *ALDH* là 32,0%.

- Tỷ lệ bệnh nhân có *KRAS* dương tính là 55,3%, bệnh nhân âm tính với *KRAS* là 44,7%.

- Sự biểu lộ *ALDH* ở bệnh nhân UTDD có mối liên quan có ý nghĩa với sự biểu lộ *KRAS*,  $p < 0,05$ .

### 2. Mối liên quan giữa sự biểu lộ dấu ấn miễn dịch *Aldehyde dehydrogenase*, *KRAS* với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của các bệnh nhân ung thư dạ dày

- Mối liên quan giữa sự biểu lộ dấu ấn miễn dịch *Aldehyde dehydrogenase*, *KRAS* với tuổi, giới tính, lâm sàng, đặc điểm nội soi khác nhau không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).



- Có mối liên quan giữa sự biểu lộ của *Aldehyde dehydrogenase* với thể tuyến ống ở mức cao (65,7%) (theo đặc điểm mô bệnh học WHO) ( $p < 0,05$ ).

- Không có mối liên quan giữa sự biểu lộ của *Aldehyde dehydrogenase*, *KRAS* với phân loại mô bệnh học (theo Lauren) ( $p > 0,05$ ).

- Có mối liên quan giữa sự biểu lộ của *Aldehyde dehydrogenase* với độ biệt hóa ( $p < 0,05$ ).

- Sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn *Aldehyde dehydrogenase*, *KRAS* với mức độ biệt hóa có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

### KIẾN NGHỊ

Đã có nghiên cứu về sự biểu lộ dấu ấn miễn dịch *ALDH* và *KRAS* đơn lẻ trên một số loại ung thư như: Ung thư dạ dày (*ALDH*), ung thư đại tràng (*KRAS*). Nghiên cứu về sự đồng biểu lộ *ALDH*, *KRAS* ở bệnh nhân ung thư dạ dày là nghiên cứu đầu tiên triển khai ở Việt Nam.

Các cơ sở y tế và bệnh nhân nên làm đồng thời hai dấu ấn miễn dịch này nếu có điều kiện, hoặc có thể dựa vào các yếu tố như thể tuyến ống, độ biệt hóa thấp để dự đoán sự biểu lộ các dấu ấn miễn dịch trên.

Từ kết quả của luận án, nên tiến hành các nghiên cứu tiếp theo để đánh giá giá trị tiên lượng của các dấu ấn hóa mô miễn dịch *ALDH*, *KRAS* ở bệnh nhân ung thư dạ dày.

## DANH MỤC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU LIÊN QUAN LUẬN ÁN

1. Lê Việt An, Dương Hồng Thái, Nguyễn Phú Hùng (2023), “Sự biểu lộ các dấu ấn hóa mô miễn dịch *ALDH* và *KRAS* trong ung thư dạ dày”, *Tạp chí y học Việt Nam*, tập 529, số 2, tr. 352.
2. Lê Việt An, Dương Hồng Thái, Nguyễn Phú Hùng (2023), “Mối liên quan giữa dấu ấn hóa mô miễn dịch *ALDH* và *KRAS* với đặc điểm mô bệnh học trong ung thư dạ dày”, *Tạp chí y học Việt Nam*, tập 529, số 2, tr. 362.
3. Lê Việt An, Dương Hồng Thái, Nguyễn Phú Hùng (2023), “Mối liên quan giữa sự biểu lộ đồng thời *ALDH* và *KRAS* với đặc điểm mô bệnh học trong ung thư dạ dày”, *Tạp chí khoa học và công nghệ*, số 2, tr. 362.